DOI: 10.20953/1729-9225-2017-4-55-59

Инфекционные болезни, 2017, т. 15, №4, с. 55–59
Infectious diseases, 2017, volume 15, No 4, p. 55–59

Экспериментальное исследование формирования микроэкологических, морфо-функциональных и иммунологических нарушений на фоне проводимой антибактериальной терапии

А.В.Суслов, Е.Ф.Семенова, А.Н.Митрошин, И.Я.Моисеева

Пензенский государственный университет, Пенза, Российская Федерация

Цель. Изучить влияние цефтриаксона на качественный и количественный состав пристеночной микрофлоры тонкой кишки, его гистологическую структуру, уровень интерлейкина-1β (ИЛ-1β) и содержание иммуноглобулина (Ig) А в сыворотке крови.
Материалы и методы. Экспериментальное исследование проведено на крысах линии Вистар. Животным контрольной серии (n = 50) ежедневно на протяжении 10 дней внутримышечно вводили физиологический раствор 1,0 мл, животным опытной серии (n = 50) – цефтриаксон в дозе 15 мг/кг/сут. Сроки наблюдения: 1, 5, 10, 15, 20 и 30-е сутки.
Результаты. Установлено увеличение количества условно-патогенных энтеробактерий *P. vulgaris* до 10^2–10^4 КОЕ/г и неферментирующих грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa* до 10^4 КОЕ/г. Обнаружены гистологически достоверные цитодеструктивные процессы в кишечной стенке (p < 0,001) вследствие курсовой антибактериальной терапии.
Заключение. Введение цефтриаксона на протяжении 10 дней приводит к увеличению ИЛ-1β (p < 0,001) и снижению IgA (p < 0,001) в сыворотке крови. В модельном эксперименте показано, что антибиотикотерапия создает сеть патологических изменений, закладывающих основу для развития повторных инфекций у часто болеющих детей.
Ключевые слова: антибактериальная терапия, гистологические изменения в кишечной стенке, дисбактериоз, иммунитет, патогенез, повторные инфекции, часто болеющие дети

Для цитирования: Суслов А.В., Семенова Е.Ф., Митрошин А.Н., Моисеева И.Я. Экспериментальное исследование формирования микроэкологических, морфо-функциональных и иммунологических нарушений на фоне проводимой антибактериальной терапии. Инфекционные болезни. 2017; 15(4): 55–59. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-4-55-59

An experimental study of the formation of microecological, morphofunctional and immunological disorders against the background of antibacterial therapy

A.V.Suslov, E.F.Semyonova, A.N.Mitroshin, I.Ya. Moiseeva

Penza State University, Penza, Russian Federation

The objective. To study the effect of ceftriaxone on the qualitative and quantitative composition of the parietal flora of the small intestine, its histological structure, interleukin-1β (IL-1β) levels, and immunoglobulin (Ig) A levels in blood serum.
Materials and methods. An experimental study was performed on the Wistar rat line. Control animals (n = 50) received physiological solution intramuscularly 1.0 ml daily for 10 days, experimental rats (n = 50) received ceftriaxone in the dose 15 mg/kg/day. Terms of observation: 1, 5, 10, 15, 20 and 30 day.
Results. We have found an increase of the amounts of conditionally pathogenic enterobacteria *P. vulgaris* to 10^2–10^4 CFU/g and non-fermenting Gram-negative bacteria *P. aeruginosa* to 10^4 CFU/g. Histologically significant cytodestructive processes have been detected in the intestinal wall (p < 0.001) as an outcome of the course of antibacterial therapy.
Conclusion. Introduction of ceftriaxone for 10 days results in increased IL-1β (p < 0.001) and decreased IgA (p < 0.001) in blood serum. As has been shown in a model experiment, antibiotic therapy creates a network of pathological changes underlying a possible development of recurrent infections in frequently ill children.
Key words: antibacterial therapy, histological changes in intestinal wall, dysbiosis, immunity, pathogenesis, recurrent infections, frequently ill children

For citation: Suslov A.V., Semyonova E.F., Mitroshin A.N., Moiseeva I.Ya. An experimental study of the formation of microecological, morphofunctional and immunological disorders against the background of antibacterial therapy. Infekc. bolezni (Infectious diseases). 2017; 15(4): 55–59. (In Russian). DOI: 10.20953/1729-9225-2017-4-55-59

Для корреспонденции:

Суслов Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии Пензенского государственного университета

Адрес: 440026, Пенза, ул. Лермонтова, 3
Телефон: (8412) 56-0862
E-mail: dr.suslov@rambler.ru

Статья поступила 16.06.2017 г., принята к печати 16.11.2017 г.

For correspondence:

Andrey V. Suslov, MD, PhD, associate professor of the Department Surgery, Penza State University

Address: 3 Lermontova str., Penza, 440026 Russia
Phone: (8412) 56-08-62
E-mail: dr.suslov@rambler.ru

The article was received 16.06.2017, accepted for publication 16.11.2017

В настоящее время активно изучается роль микрофлоры кишечника в развитии ожирения, сахарного диабета, аутоиммунных, аллергических и других заболеваний [1–4]. Несмотря на успехи развития современной медицины, вопросы профилактики, диагностики, лечения и социальной адаптации часто болеющих детей (ЧБД) не имеют тенденции к снижению, а возможности науки ставят все новые и новые вопросы перед практикующими врачами при лечении и реабилитации ЧБД [5–7]. В группе ЧБД прослеживается очевидная связь между проведением антибактериальной терапии и в дальнейшем повторными назначениями антибиотиков при лечении детей. Преследуя этиологическую элиминацию возбудителя, антибиотики влияют на микрофлору кишечника, изменяют ее качественный и количественный состав, вызывая дисбактериоз.

С позиции современных представлений о микроорганизмах, живущих в кишечнике, установлено, что пристеночная микрофлора, в отличии от полостной, организуется в определенные сообщества, которые, с одной стороны, защищены биопленкой от внутрипросветной кишечной среды, а с другой стороны – тесно связаны со слизистой оболочкой кишки [8, 9]. Именно пристеночная микрофлора непосредственно влияет на иммунную систему макроорганизма, а изменения, возникающие в ней, оказывают больший системный эффект, в отличие от полостной микрофлоры [10–13]. Следовательно, чтобы максимально оценить влияние антибактериальной терапии на макроорганизм через изменения микробного пейзажа кишечника, нужно исследовать именно мукозную биоту. При этом для оказания максимального эффекта на бактерии необходимо парентеральное введение антибиотика, чтобы через кровь, минуя барьер биопленок, повлиять непосредственно на пристеночную микрофлору.

Учитывая актуальность темы в области изменения микрофлоры кишечника для развития самого широкого круга заболеваний, обоснованным представляется исследовать пристеночную кишечную микрофлору и оценить системные, а также местные изменения в макроорганизме на фоне антибактериальной терапии.

Цель работы – исследовать микроэкологические, морфофункциональные и иммунологические нарушения на фоне антибактериальной терапии.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование было проведено на крысах линии Вистар, в возрасте 5 месяцев, массой около 250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, за два месяца до исследования переводили на унифицированный рацион питания.

Животные были разделены на 3 серии. Первая серия (n = 10) – животные перед введением антибиотика были выведены из эксперимента, полученные от них данные использовали в качестве нормы. Остальные животные были разделены на две серии. Контрольная серия (n = 50) – животным ежедневно на протяжении 10 дней внутримышечно вводили физиологический раствор 1,0 мл. Опытная серия (n = 50) – животным ежедневно на протяжении 10 дней внутримышечно вводили цефтриаксон 15 мг/кг/сут.

В динамике наблюдения (1, 5, 10, 15, 20 и 30-е сутки) в стерильных условиях осуществлялся забор биоматериала (кишечного содержимого и стенки) от дистальной трети тонкой кишки на бактериологическое исследование. Пристеночную микрофлору дифференцировали от полостной путем просвечивания участка кишки в проходящем свете. Исследуемый материал засевали на питательные среды в соответствии с правилами, изложенными в методических указаниях [14]. Использовались традиционные питательные среды для выделения неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ, в том числе псевдомонад), энтеробактерий, бифидобактерий, лактобактерий, клостридий, эшерихий, энтерококков, стафилококков, дрожжеподобных грибов [15].

Культивирование бактерий проводили при температуре 37,0°С в течение 18–24 часов, грибов – при 30°С в течение 1–7 суток. Биохимическую идентификацию осуществляли в автоматизированном режиме на тест-системах производства BioMerieux, включающих до 47 анализируемых признаков и свойств [9]. Общее количество микробных клеток в пересчете на 1 г биоматериала животных подсчитывали в камере Горяева. Количество живых микроорганизмов (КОЕ) в суспензиях биоматериала животных определяли путем высева соответствующих десятикратных серийных разведений на плотные питательные среды и подсчетом выросших колоний.

Участки тонкой кишки, с которых осуществлялся забор биоматериала для бактериологического анализа, направляли на гистологическое исследование. Фрагменты стенки тонкой кишки фиксировали в 10%-м нейтральном формалине 18–24 ч. Затем образцы проходили обработку в аппарате закрытого типа для проводки операционного и биопсийного материала по стандартной программе (изопреп-парафин). Далее образцы заливались в парафиновые блоки. С блоков делали срезы, которые затем окрашивали гематоксилин-эозином в аппарате по стандартной методике. Срезы заключали под покровное стекло и исследовали препараты методом световой микроскопии.

Во все сроки наблюдения методом твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли уровни интерлейкина-1β (ИЛ-1β) и содержание иммуноглобулина (Ig) А с применением наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест», следуя приложенным инструкциям.

При антимикробной терапии использовали антибиотик III поколения цефалоспоринового ряда широкого спектра действия для парентерального введения – цефтриаксон (6R-6альфа,7бета(Z)-7-2-амино-4-тиазолил(метоксиимино) ацетиламино-8-оксо-3-(1,2,5,6-тетрагидро-2-метил-5,6-диоксо-1,2,4-триазин-3-ил)тиометил-5-тиа-1-азабицикло4.2.0окт-2-ен-2-карбоновая кислота) – препарат в виде динатриевой соли фирмы ОАО «Биосинтез».

Статистический анализ результатов исследования осуществляли с использованием программ Excel (Microsoft, США) и пакета Statistica 6.0. Для выявления различий нескольких независимых групп, распределение которых отлично от нормального, использовали критерий Краскела–Уоллиса и медианный тест. Статистически достоверными считались результаты при значениях $p < 0,05$ [16].

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования установлено изменение количественного и качественного состава пристеночной микрофлоры (таблица).

Таблица. **Вариабельность состава пристеночной микрофлоры тонкой кишки крыс линии Вистар при воздействии цефтриаксоном, 10^nКОЕ/г**

Сроки отбора материала для исследования, сут	*E. coli* с типичными ферментативными свойствами	*E. coli* лактозонегативная	*E. coli* гемолитическая	Другие энтеробактерии	*S. aureus*	*S. lentus*	*Candida spp.*	Неферментирующие грамотрицательные бактерии
Норма	1	н/о	н/о	н/о	н/о	3	н/о	2***
5	1	н/о	н/о	4*	н/о	5	н/о	н/о
10	1	н/о	н/о	н/о	н/о	4	н/о	н/о
15	3	н/о	н/о	н/о	н/о	4	н/о	н/о
20	3	н/о	н/о	1**	н/о	4	н/о	2****
30	3	н/о	н/о	2**	н/о	4	н/о	4****
Статистические показатели								
Lim	1–3	0	0	0–4	0	3–5	0	0–4
CV, %	124,8	0	0	374,2	0	35,4	0	349,7

*n – степень числа 10; Lim – пределы варьирования; CV – коэффициент вариации; н/о – не обнаружены; *P. vulgaris, **Providencia rettgeri, ***P. fluorescens, ****P. aeruginosa.*

В исследовании установлено резкое увеличение после 10-дневной курсовой антибиотикотерапии (на 10-е и 20-е сутки после курса антибактериальной терапии) количества условно-патогенных энтеробактерий, в том числе *P. vulgaris* до 10^2–10^4 КОЕ/г соответственно и неферментирующих грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa* до 10^4 КОЕ/г. Установлен рост на 2 порядка количества *E. coli* с типичными ферментативными свойствами после завершения курса антибактериальной терапии (Lim = 10–10^3 КОЕ/г), рост *E. coli* с атипичными ферментативными и гемолитическими свойствами не обнаружен.

Антибиотикотерапия приводит к гистологическим изменения в кишечной стенке (рис. 1). Так, при микроскопическом исследовании в контрольных препаратах медиана высоты ворсинок тонкой кишки составила 337 микрометров (мкм). На 5-е сутки приема антибиотиков медиана составляла 315 мкм и достоверно от контроля не отличалась (p = 0,254). Еще через 5 сут высота ворсинок была уже 282 мкм (p < 0,001). После отмены антибиотика поврежденная кишечная стенка начинала постепенно восстанавливаться, и только через 20 сут (30-е сутки эксперимента) исследуемый показатель достоверно от контроля не отличался (p > 0,05).

Аналогично изменению высоты ворсинок происходило изменение глубины крипт (рис. 2). Максимальная глубина крипт наблюдалась на 10-е и 15-е сутки и составляла 134 и 133 мкм (p < 0,001). Далее происходило постепенное восстановление эпителиальной выстилки и показатель глубины крипт приближался к контрольным значениям.

При изучении уровня ИЛ-1β на фоне антибактериальной терапии было выявлено достоверное увеличение показателя, в динамике исследования на 5, 10 и 15-е сутки. Так, медиана ИЛ-1β составила 11, 12 и 10 пг/мл соответственно (p < 0,001). На 20-е и 30-е сутки (10-е и 20-е сутки после курса антибактериальной терапии) уровень ИЛ-1β достоверно от контроля не отличался (рис. 3).

Уровень IgA в динамике наблюдений носил разнонаправленный характер (рис. 4). В течение первых 5 суток антибактериальной терапии медиана иммуноглобулина недостоверно превышала контроль на 25% (p > 0,05), однако в дальнейшем установлена нисходящая динамика показателя. После отмены антибактериальной терапии (с 10-х суток исследования) уровень IgA продолжил снижаться, на 15-е и 30-е сутки исследования (5-е и 20-е сутки после отмены антибиотика) был достоверно ниже контроля на 19% (p < 0,001).

Таким образом, антибактериальная терапия на протяжении 10 дней приводила к местным и системным изменениям в организме, которые сохранялись на протяжении длительного времени после отмены препарата. Так, наиболее значимые для организма изменения возникали в пристеночной микрофлоре кишечника, и прежде всего, это касается уве-

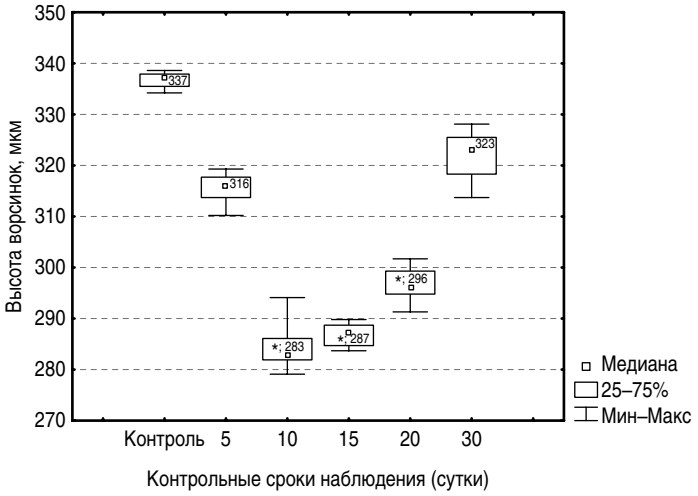

Рис. 1. **Высота ворсинок кишечной стенки на фоне антибиотикотерапии, мкм.**

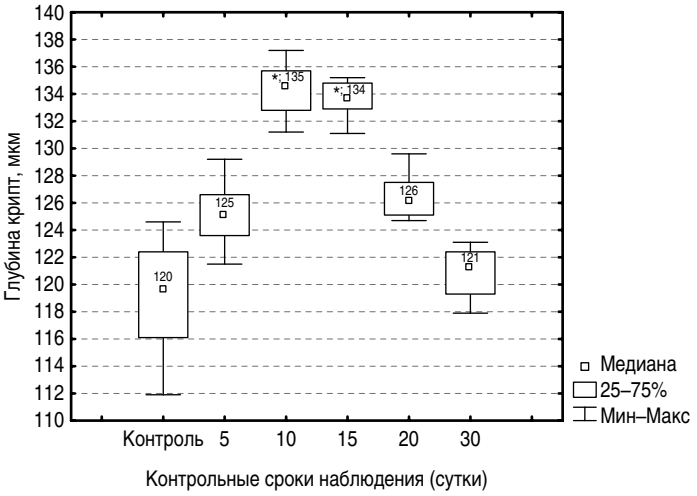

Рис. 2. **Глубина крипт на фоне антибиотикотерапии, мкм.**

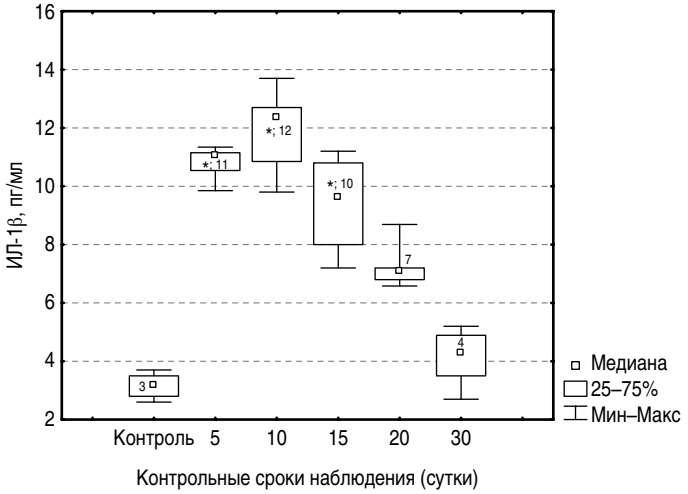

Рис. 3. **Уровень ИЛ-1β на фоне антибактериальной терапии, пг/мл.**

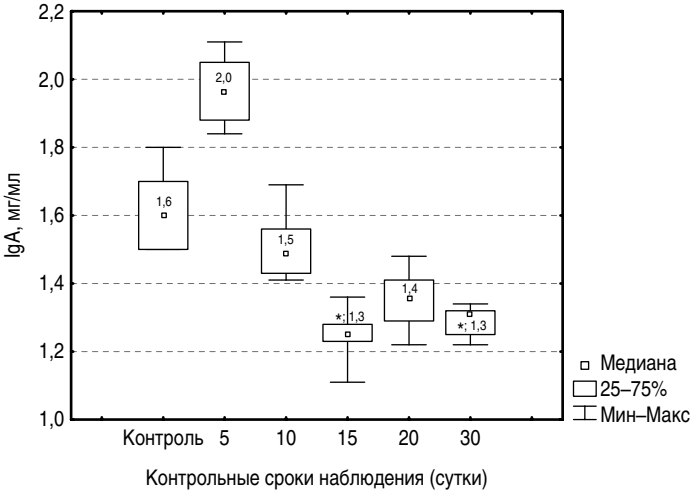

Рис. 4. **Уровень IgA в динамике, мг/мл.**

личения количества в пристеночной микрофлоре условно-патогенной микрофлоры (УПМ). Установлено, что на 5-е и 10-е сутки после отмены антибиотика происходит 4-кратное увеличение содержание *P. aeruginosa* и 2-кратное увеличение содержания *P. vulgaris.* Увеличение количества УПМ в пристеночной микрофлоре будет поддерживать иммунитет в напряженном состоянии, а при присоединении другой инфекции становится невозможна полноценная ответная реакция иммунной системы на инфекцию.

В ходе исследования установлено стабильное увеличение на 2 порядка количества *E. coli* с типичными ферментативными свойствами, что свидетельствует о формировании синдрома избыточного бактериального роста в тонкой кишке.

Изменения пейзажа пристеночной микрофлоры по времени соответствовали динамике изменения IgA. В период максимального повышения содержания иммуноглобулина – на 5-е сутки антибиотикотерапии – показатель недостоверно, но все же превышал контроль на 25% ($p > 0,05$) и увеличения количества УПМ не установлено. В дальнейшем, на 5-е и 20-е сутки после цефтриаксонотерапии, происходит достоверное снижение IgA ниже контроля на 19% ($p < 0,001$), и в это время нами зафиксировано увеличение количества УПМ.

Достоверное уменьшение высоты ворсинок и увеличение глубины крипт в тонкой кишке возникает только к 10-м суткам ($p < 0,001$), что свидетельствует о высокой репаративной возможности эпителиальной выстилки тонкой кишки. Однако в дальнейшем, на 5-е и 10-е сутки после прекращения введения антибиотика, гистологические изменения в стенке продолжают развиваться и достоверно отличаются от контроля ($p < 0,001$). Прогрессирование тканевых изменений в кишечной стенке, по-видимому, в первую очередь связано с изменениями структуры пристеночной микрофлоры, так как они находятся в тесной взаимосвязи. И только к 20-м суткам высота ворсинок и глубина крипт достоверно от контроля не отличались ($p > 0,05$), но в своем составе пристеночная микрофлора уже содержала большое количество УПМ и E. coli. Примечательно, что именно в этот промежуток времени (5-е и 20-е сутки после отмены антибиотика) достоверно снижается уровень IgA.

Динамика ИЛ-1β в ходе исследования полностью подтверждает картину микробных и клеточно-тканевых процессов в организме на фоне антибактериальной терапии. Так, содержание цитокина достоверно превышает контроль ($p < 0,001$) на 5-е и 10-е сутки антибиотикотерапии во время развития повреждающего воспаления в стенке тонкой кишки. Спустя 5 суток после отмены цефтриаксона уровень ИЛ-1β также достоверно превышает контроль ($p < 0,001$), что соответствует промежутку времени максимальных гистологических изменений в кишечной стенке и развитию ответной иммунной реакции со стороны макроорганизма.

Заключение

В модельном эксперименте установлено резкое увеличение после антибиотикотерапии (на 10-е и 20-е сутки после курса антибактериальной терапии) количества условно-патогенных энтеробактерий *P. vulgaris* до 10^2–10^4 КОЕ/г и неферментирующих грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa* до 10^4 КОЕ/г. К 10-м суткам антибактериальной терапии формируются гистологически достоверные цитодеструктивные процессы в кишечной стенке ($p < 0,001$).

Цефтриаксонтерапия на протяжении 10 дней приводит к изменениям иммунологического статуса в организме как в период получения антибиотика, так и после: медиана ИЛ-1β составила 11 и 12 пг/мл ($p < 0,001$) соответственно; уровень IgA на 15-е и 30-е сутки исследования (5-е и 20-е сутки после отмены антибиотика) был достоверно ниже контроля на 19% ($p < 0,001$).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60130мол_а_дк.

Литература

1. Корниенко ЕА, Нетребенко ОК. Ожирение и кишечная микробиота: современная концепция взаимосвязи. Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского. 2012; 91(2):110-22.
2. Peloquin JM, Nguyen DD. Themicrobiota and inflammatory bowel disease: insights from animal models. Anaerobe. 2013 Dec;24:102-6. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.006

3. Пастухова ЕВ. Роль кишечной микрофлоры в развитии кардиоваскулярных и цереброваскулярных заболеваний. Успехи современной науки и образования. 2016;4(8):99-102.
4. Балаболкин ИИ, Стасий ЕД, Ларькова ИА, Ксензова ЛД. Нарушения микробиоценоза кишечника у детей раннего и дошкольного возраста, страдающих пищевой аллергией. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2012;3:23-6.
5. Баранов АА. Состояние здоровья детей в Российской Федерации. Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского. 2012;91(3):9-14.
6. Самсыгина ГА, Выжлова ЕН. Еще раз о проблемах понятия «часто болеющие дети». Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского. 2016;95(4):209-15.
7. Романцов МГ. Часто болеющие дети: медико-психологическое сопровождение, оздоровление и адаптация к образовательному учреждению. Вестник науки и образования. 2016;8(20):74-80.
8. Ткаченко ЕИ, Суворова АН. Дисбактериоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. 2-е изд. СПб.: ИнформМед, 2009.
9. Бондаренко ВМ. Механизмы транслокации бактериальной аутофлоры в развитии эндогенной инфекции. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2013;3:1-21.
10. Урсова НИ. Иммунологическая функция интестинальной микрофлоры, ее нарушения и возможности коррекции. Альманах клинической медицины. 2015;40:35-46.
11. Лебедев КА, Понякина ИД. Иммунофизиология эндогенных инфекций (определяющая роль образраспознающих рецепторов). Аллергология и иммунология. 2006;7(2):207-213.
12. Рыбальченко ОВ, Бондаренко ВМ, Фальчук ЕЛ, Лебедькова ЮА, Марков АГ. Действие холерогена и протамина на плотные контакты энтероцитов и колоноцитов крыс. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012;6:3-7.
13. Феклисова ЛВ, Медведева ЕА. Дисбиотические нарушения слизистых оболочек ротоглотки у детей с рекуррентными респираторными заболеваниями в различные периоды. Инфекционные болезни. 2016;14(2):24-8. DOI: 10.20953/1729-9225-2016-2-24-28
14. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания. МУ 4.2.2039-05. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.
15. Поляк МС, Сухаревич ВИ, Сухаревич МЭ. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008.
16. Трухачёва НВ. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.

References

1. Kornienko EA, Netrebenko OK. Ozhirenie i kishechnaya mikrobiota: sovremennaya kontseptsiya vzaimosvyazi. Pediatria. Journal named after G.N.Speransky. 2012;91(2):110-22. (In Russian).
2. Peloquin JM, Nguyen DD. Themicrobiota and inflammatory bowel disease: insights from animal models. Anaerobe. 2013 Dec;24:102-6. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.006
3. Pastukhova EV. Rol' kishechnoi mikroflory v razvitii kardiovaskulyarnykh i tserebrovaskulyarnykh zabolevanii. Uspekhi sovremennoi nauki i obrazovaniya. 2016;4(8):99-102. (In Russian).
4. Balabolkin II, Stasiy ED, Larkova IA, Ksenzova LD. Disturbances of intestinal microbiocenosis in children with food allergy. Immunopathology, Allergology, Infectology. 2012;3:23-6. (In Russian).
5. Baranov AA. Sostoyanie zdorov'ya detei v Rossiiskoi Federatsii. Pediatria. Journal named after G.N.Speransky. 2012;91(3):9-14. (In Russian).
6. Samsygina GA, Vyzhlova EN. Once again about the problems of «frequently ill children» notion. Pediatria. Journal named after G.N.Speransky. 2016;95(4):209-15. (In Russian).
7. Romantsov MG. Chasto boleyushchie deti: mediko-psikhologicheskoe soprovozhdenie, ozdorovlenie i adaptatsiya k obrazovatel'nomu uchrezhdeniyu. Vestnik nauki i obrazovaniya. 2016;8(20):74-80. (In Russian).
8. Tkachenko EI, Suvorova AN. Disbakterioz kishechnika. Rukovodstvo po diagnostike i lecheniyu [Intestinal dysbiosis. Guidelines on diagnosis and treatment]. 2nd ed. St. Petersburg: "InformMed" Publ., 2009. (In Russian).
9. Bondarenko VM. Mechanisms of a translocation of bacterial authorflora in development of endogenous infections. Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN. 2013;3:1-21. (In Russian).
10. Ursova NI. Immunological function of intestinal microflora, its abnormalities and possibilities of correction. Medical Almanac. 2015;40:35-46. (In Russian).
11. Lebedev KA, Ponyakina ID. Immunophysiology of endogenous infections (The key role of pattern recognition receptors). Allergology and Immunology. 2006;7(2):207-213. (In Russian).
12. Rybalchenko OV, Bondarenko VM, Falchuk EL, Lebedkova YuA, Markov AG. Effect of cholerogen and protamine on tight junctions of rat enterocytes and colonocytes. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2012;6:3-7. (In Russian).
13. Feklisova LV, Medvedeva EA. Dysbiotic disorders of the mucous membranes of the oropharynx in children with recurrent respiratory diseases at different periods. Infekc. bolezni (Infectious diseases). 2016;14(2):24-8. DOI: 10.20953/1729-9225-2016-2-24-28 (In Russian).
14. Methods of control. Biological and microbiological factors. The technique of collecting and transportation of biomaterials in the Microbiology laboratory. MU 4.2.2039-05. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2006. (In Russian).
15. Polyak MS, Sukharevich VI, Sukharevich ME. Pitatel'nye sredy dlya meditsinskoi i sanitarnoi mikrobiologii [Nutrient medium for medical and sanitary microbiology]. St. Petersburg: "ELBI-SPb" Publ., 2008. (In Russian).
16. Trukhacheva NV. Matematicheskaya statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s primeneniem paketa Statistica [Mathematical statistics in biomedical research with the use of Statistica]. Moscow: "GEOTAR-Media" Publ., 2012. (In Russian).

Информация о соавторах:

Семенова Елена Федоровна, кандидат биологических наук, профессор кафедры общей и клинической фармакологии Пензенского государственного университета
Адрес: 440026, Пенза, ул. Лермонтова, 3
Телефон: (8412) 56-0862
E-mail: sefl957@mail.ru

Митрошин Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии Пензенского государственного университета
Адрес: 440026, Пенза, ул. Лермонтова, 3
Телефон: (8412) 56-0862
E-mail: medsekr@pnzgu. ru

Моисеева Инесса Яковлевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической фармакологии Пензенского государственного университета
Адрес: 440026, Пенза, ул. Лермонтова, 3
Телефон: (8412) 56-0862
E-mail: moiseeva_pharm@mail.ru

Information about co-authors:

Elena F. Semenova, MD, PhD, Professor of the Department general and clinical pharmacology, Penza State University
Address: 3 Lermontova str., Penza, 440026 Russia
Phone: (8412) 56-08-62
E-mail: sefl957@mail.ru

Alexander N. Mitroshin, MD, PhD, DSc, head of the Department surgery, Penza State University
Address: 3 Lermontova str., Penza, 440026 Russia
Phone: (8412) 56-08-62
E-mail: medsekr@pnzgu.ru

Inessa Ya. Moiseeva, MD, PhD, DSc, professor, head of the Department general and clinical pharmacology, Penza State University
Address: 3 Lermontova str., Penza, 440026 Russia
Phone: (8412) 56-08-62
E-mail: moiseeva_pharm@mail.ru