

На правах рукописи

КОНЬКОВА Анна Юрьевна

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
В ОПРЕДЕЛЕНИИ ЭТИОЛОГИИ ЭНДОГЕННЫХ УВЕИТОВ
(МЕСТО И ЗНАЧЕНИЕ)**

03.02.03 Микробиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Пермь – 2019

Диссертационная работа выполнена на кафедрах микробиологии и вирусологии и офтальмологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь (ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ **Горовиц Эдуард Семенович**,
доктор медицинских наук, профессор **Гаврилова Татьяна Валерьевна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Семериков Вадислав Васильевич,

кандидат медицинских наук, начальник участка клинических штаммов отделения бактериофагов Филиала АО «НПО «Микроген» в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед» **Функнер Елена Викторовна**

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
(644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12)

Защита диссертации состоится _____ 2019 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 999.219.02 на базе Пермского федерального исследовательского центра и Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера по адресу: 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13. Факс: 8 (342) 2809211.

Автореферат диссертации размещен на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования РФ (<http://vak.minobrnauki.gov.ru>) и на сайте ПФИЦ УрО РАН (<http://permsc.ru>).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке «ИЭГМ УрО РАН» и на сайте ПФИЦ УрО РАН (<http://permsc.ru>).

Автореферат разослан « ____ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Максимова Юлия Геннадьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Увеиты – гетерогенная полиэтиологичная группа заболеваний глаз, общим признаком которых является воспаление сосудистого тракта. Причинами увеитов в большинстве случаев являются эндогенные факторы – следствие различных инфекционных и соматических заболеваний (Панова и др., 2014; Устинова, 2016; Nussenblatt *et al.*, 2010; Foster *et al.*, 2013). В настоящее время известно почти 150 различных соматических заболеваний, которые могут рассматриваться как возможные причины увеитов (Ziorhut *et al.*, 2007).

Увеиты развиваются в любом возрасте, но чаще поражают людей молодых и трудоспособных (Smit *et al.*, 1995; London *et al.*, 2010; Miserocchi *et al.*, 2013). Хроническое рецидивирующее течение воспаления зачастую приводит к развитию осложнений, влекущих за собой нарушения или полную потерю зрения, следовательно, и снижение качества жизни пациентов (Gritz *et al.*, 2004; Venkataraman, 2008). Удельный вес увеитов среди причин слепоты и слабовидения в развитых странах составляет 10–15% (Goldstein, 1980; Rothova *et al.*, 1996; Durrani *et al.*, 2004). В России сведения о доле увеитов в структуре инвалидности, также как и актуальные данные об их распространенности, отсутствуют.

Несмотря на многолетнюю историю изучения этой патологии, наличие широкого спектра современных методов клинической и лабораторной диагностики, определение этиологии эндогенных увеитов представляет значительные трудности, при этом у 30 – 40% пациентов причину заболевания так и не удастся установить (Nussenblatt *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2011; Hunter *et al.*, 2011). В таких случаях обычно ставится диагноз идиопатического увеита (Nussenblatt *et al.*, 2010). Возможность использования неинвазивных микробиологических методов для этиологической диагностики эндогенных увеитов, их эффективность до сих пор остается недостаточно изученной. Данные по сравнительной оценке результативности различных неинвазивных методов микробиологического анализа, целесообразности их использования для расшифровки этиологии заболевания практически отсутствуют. В то же время определение этиологии любого патологического процесса играет решающую роль при выборе адекватной лечебной тактики и определении прогноза заболевания.

Таким образом, совершенствование этиологической диагностики эндогенных увеитов остается актуальной задачей.

Цель исследования – анализ диагностических возможностей неинвазивных микробиологических методов исследования при определении этиологии эндогенных увеитов и оценка целесообразности их использования.

Основные задачи исследования:

1. Исследовать многолетнюю динамику заболеваемости увеитами в Пермском крае. Определить ее основные тенденции.
2. Изучить видовое разнообразие, сопоставить основные биологические свойства бактерий, выделенных из различных биотопов больных эндогенными увеитами различной этиологии, и оценить их этиологическую значимость.
3. Определить генопрофиль и возможные геноварианты штаммов *Staphylococcus aureus*, изолированных из различных биотопов одних и тех же больных эндогенными увеитами.
4. Исследовать уровень прокальцитонина в слезной жидкости и сыворотке крови больных эндогенными увеитами. Определить возможность использования данного маркера для оценки степени выраженности воспалительной реакции.
5. Определить клинические особенности эндогенных увеитов в зависимости от этиологии заболевания.
6. Разработать и оценить эффективность использования программного комплекса для определения этиологии эндогенных увеитов.

Научная новизна работы. На примере Пермского края проведен анализ многолетней динамики заболеваемости увеитами (2003–2017 гг.) в крупном промышленном регионе. В сравнительных наблюдениях изучена информативность неинвазивных микробиологических методов при определении этиологии эндогенных увеитов. Установлено, что серологическое обследование с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) является наиболее результативным неинвазивным методом этиологической диагностики. Изучение авидности специфических *Ig* в сочетании с анализом «парных» сывороток позволяет практически у трети пациентов диагностировать природу заболевания. Показано, что использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) и бактериологического метода для исследования слезной жидкости (СЖ) при определении этиологии эндогенных увеитов малоинформативно.

Изучен бактериальный спектр СЖ у больных эндогенными увеитами различной этиологии и основные биологические свойства изолированных бактерий доминантных видов. Установлено, что видовой состав выделенных бактерий аналогичен таковому здоровых лиц и не зависит от этиологии воспалительного процесса сосудистого тракта глаза. Видовое разнообразие микроорганизмов, колонизирующих СЖ, в значительной степени определяется особенностью микробиоты носоглотки этих пациентов.

Проведено сравнительное исследование биологических свойств бактерий рода *Staphylococcus* и геновариантов *S. aureus*, выделенных из СЖ, зева и носа

одних и тех же пациентов с эндогенными увеитами с целью определения степени родства изолятов. На основании анализа фено- и генотипических характеристик штаммов *S. aureus*, изолированных из различных биотопов конкретного больного, выявлено, что контаминация СЖ происходит за счет бактерий, колонизирующих носоглотку. Установлено, что на фоне резидентного бактерионосительства штаммов *S. aureus*, наличия в анамнезе фокальных гнойно-воспалительных заболеваний и отсутствия других возможных причин возникновения эндогенных увеитов, *S. aureus* могут рассматриваться в качестве этиологических агентов. В этой связи резидентное бактерионосительство *S. aureus* является фактором риска развития эндогенного увеита.

Проведено сравнительное исследование уровня прокальцитонина (ПКТ) в СЖ и сыворотке крови (СК) у пациентов с эндогенными увеитами, другой офтальмопатологией, а также у практически здоровых лиц. Установлено, что у здоровых людей концентрация ПКТ в СЖ значительно выше уровня этого белка в СК. Развитие увеитов не сопровождается изменениями уровня ПКТ ни в СК, ни в СЖ. Прямой корреляционной зависимости между содержанием ПКТ в СК и СЖ у пациентов во всех группах не выявлено. Выявлено, что этот традиционный маркер воспаления не может служить показателем степени выраженности воспалительного процесса при эндогенных увеитах.

Показано, что сочетанное клинико-анамнестическое и лабораторное обследование с использованием комплекса неинвазивных микробиологических методов исследования позволяет определить этиологию эндогенных увеитов в большинстве случаев (76,6%), это дает возможность проведения адекватной этиопатогенетической терапии.

Разработан программный комплекс с использованием теории нечетких множеств, который способствует определению этиологии эндогенных увеитов. Опыт его практического применения свидетельствует о перспективности его использования.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные расширяют представления о возрастающей роли эндогенных увеитов в офтальмопатологии и о значимости их этиологической диагностики.

Показана медико-социальная значимость увеитов в связи с широким распространением и ростом уровня заболеваемости, тяжелым течением с частыми рецидивами и осложнениями, приводящими к слепоте и инвалидности, а также существенному снижению качества жизни пациентов. Анализ фено- и генотипических характеристик штаммов *S. aureus*, изолированных из различных биотопов конкретного больного эндогенным увеитом, показал, что инфицирование СЖ происходит за счет культур, вегетирующих в носоглотке.

Установлено, что резидентные бактерионосители *S. aureus* представляют группу риска возникновения бактериальных увеитов. Выявлено, что видовой состав бактерий, колонизирующих СЖ больных эндогенным увеитом по существу аналогичен таковому практически здоровых лиц.

Полученные результаты свидетельствуют о недостаточной информативности бактериологического и молекулярно-генетического методов исследования СЖ для определения этиологии эндогенных увеитов. С этой целью целесообразно использовать серологическое обследование в динамике заболевания с изучением авидности выявленных специфических Ig. Решающую роль в постановке этиологического диагноза играет совокупность клинико-anamnestических и лабораторных данных.

Комплексный подход к диагностике эндогенных увеитов с использованием микробиологических и клинических методов обследования позволил установить этиологию воспаления у 76,6% пациентов из 107 обследованных.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Многолетняя динамика заболеваемости увеитами в Пермском крае характеризуется ростом ее показателей, при этом значительно увеличивается количество случаев заболеваний с невыясненной этиологией.

2. Параллельное использование неинвазивных методов микробиологического исследования способствует определению этиологии эндогенных увеитов более чем у трети пациентов.

3. Клинические особенности эндогенных увеитов в существенной мере определяются этиологическими факторами заболевания.

4. При определении этиологии эндогенных увеитов целесообразно и эффективно использовать программный комплекс, разработанный по результатам микробиологического, клинико-anamnestического обследования и применения теории нечетких множеств.

Апробация и публикация материалов исследования. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на конференции молодых ученых ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (Пермь, 2013, 2015, 2019), заседаниях Пермского отделения Общества офтальмологов России (Пермь, 2013, 2015, 2019); V Международном молодежном медицинском конгрессе (Санкт-Петербург, 2013); Поволжской научно-практической конференции «ОКО-2014» (Уфа, 2014); межрегиональной научно-практической конференции «Южно-Уральская офтальмологическая панорама» (Челябинск, 2015); научной конференции с международным участием «Вакцинология как ответ биологическим угрозам» (Москва, 2019).

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 7 в изданиях, рекомендованных ВАК (в том числе 3 в журналах, входящих в базу данных Scopus).

Степень достоверности результатов исследования основывается на общепризнанных апробированных методах микробиологической диагностики и клинического обследования, достаточном и репрезентативном объеме выборок, применении современных методов исследования, обработки информации, статистическом анализе, включая параметрические и непараметрические критерии.

Структура и объём диссертационной работы. Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста и состоит из оглавления, введения, глав «Обзор данных литературы», «Материалы и методы исследования», 3-х глав «Результаты собственных исследований», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 13 рисунками и 26 таблицами. Список литературы содержит 259 источников, из них отечественных – 141, зарубежных – 118.

Связь работы с научными программами и собственный вклад автора. Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (номер государственной регистрации темы 0120.0800814)

Личный вклад соискателя состоит в его участии на всех этапах диссертационного исследования. Основная идея, планирование научной работы, цель и задачи, определение методологии и общей концепции диссертации разрабатывались совместно с научными руководителями д.м.н., профессором Э.С. Горовицем и д.м.н., профессором Т.В. Гавриловой. Автором лично проведены анализ статистической и медицинской документации по заболеваемости в Пермском крае; офтальмологическое обследование пациентов; забор материала для лабораторных и микробиологических исследований, их проведение; обобщение полученных результатов; статистическая обработка, критический анализ и интерпретация результатов исследований; анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме эндогенных увеитов; написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов работы в научных публикациях и докладах на конференциях.

Внедрение результатов работы в практику. Теоретические и практические положения, разработанные в диссертационном исследовании, внедрены в научно-практическую деятельность и учебный процесс кафедр микробиологии и вирусологии, а также офтальмологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, включены в материалы

сертификационного цикла и цикла профессиональной переподготовки. Они используются в клинической работе трех офтальмологических отделений ГБУЗ ПК «Пермская Ордена «Знак почета» краевая клиническая больница» (ПККБ) и офтальмологического отделения ГБУЗ ПК «ГКБ № 2 имени Ф.Х. Граля».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Диссертационное исследование выполнено на базе кафедр микробиологии, вирусологии и офтальмологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России в период с 2013 по 2018 г., а также трех офтальмологических отделений ПККБ, отделения № 7 ГБУЗ ПК «Клинический фтизиопульмонологический медицинский центр». Микробиологические исследования проводили также в бактериологической лаборатории ГБУЗ ПК «ГКБ № 7». Молекулярно-генетические исследования выполнены в лаборатории биохимии микроорганизмов, молекулярной микробиологии и биотехнологии ФГБУН ПФИЦ ИЭГМ УрО РАН совместно с д.м.н., профессором М.В. Кузнецовой. Исследования прокальцитонина выполнены на кафедре клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России совместно с д.м.н., доцентом Д.Ю. Сосниным. Разработку компьютерного программного комплекса осуществляли на кафедре вычислительной математики, механики и биомеханики ФГБОУ ВО ПНИПУ совместно с зав. кафедрой, д.ф.-м.н., профессором М.Б. Гитманом. План исследования одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (протоколы № 5 от 16.05.2013 и № 6 от 26.06.2019).

Объекты исследования. Проведен ретроспективный анализ данных заболеваемости увеитами в Пермском крае, их структуры по официальным статистическим материалам за 18 лет (2000–2017 гг.). Под наблюдением находились 107 пациентов (114 глаз) с эндогенными увеитами различной локализации и этиологии, в том числе мужчин – 57 (53%), женщин – 50 (47%). Возраст пациентов варьировал от 19 до 83 лет (средний $45,2 \pm 2,8$ лет). По локализации увеиты подразделялись на передние (иридоциклиты) – 60,5%, задние (хориоретиниты) – 20,2%, кератоувеиты – 11,4%, панувеиты – 7%; по характеру течения: острые – 41 (36%), рецидивирующие – 58 (51%), хронические – 15 глаз (13%).

Критериями для включения в исследование являлись: возраст старше 18 лет, наличие симптомов и клинической картины воспаления увеального тракта глаза, а

также подписание информированного добровольного согласия на участие в исследовании. К критериям невключения относились: беременность и лактация, наличие травм и операций на органе зрения в анамнезе.

Из различного биологического материала больных с эндогенными увеитами выделено и идентифицировано 233 культуры микроорганизмов, изучены их основные биологические свойства (факторы вирулентности, персистенции, антибиотикочувствительность). Из СЖ 28 практически здоровых лиц (контроль) изолировано 13 культур бактерий рода *Staphylococcus*. Проведено генотипирование 15 штаммов *S. aureus*, изолированных из различных биотопов 6 пациентов. В ИФА исследованы 107 сывороток пациентов к основным возможным возбудителям увеитов вирусной, бактериальной и протозойной природы. В серопозитивных образцах определена avidность специфических *Ig G*, исследовано 62 пробы парных сывороток. С использованием ПЦР изучен 31 образец СЖ на наличие фрагментов генома возможных возбудителей эндогенных увеитов.

Методы исследования. Анализ заболеваемости осуществляли по данным форм федерального государственного статистического наблюдения и архива ПККБ. Для оценки многолетней динамики использовали программу Microsoft Excel-2010.

Всем 107 пациентам выполнено бактериологическое и серологическое обследования. Материалом для бактериологического исследования служили СЖ, а также отделяемое носа и зева. Его забирали при поступлении пациентов в стационар до выполнения лечебных и диагностических процедур с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной организации здравоохранения (WMA Declaration of Helsinki). Забор и доставку материала осуществляли в соответствии с Приказом Минздрава СССР от 22.04.1985 г. № 535.

*Бактериологическое исследование образцов СЖ (142 пробы), материала из зева и носа (по 42 пробы) проводили общепринятым способом в отношении основных групп микроорганизмов (Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 г. № 535). Для выделения стафилококков исследуемый материал засеивали на желточно-солевой и кровяной агары; стрептококков – кровяной агар; дрожжеподобных грибов и грибов рода *Candida* – среду Сабуро; энтеробактерий – среды Эндо, Плоскирева. Выделенные культуры на основании изучения морфологических, культуральных, а также биохимических свойств с использованием соответствующих наборов стафи-, стрепто- и энтеротестов фирмы ERBALACHEMA (Чехия) идентифицировали до вида.*

Способность стафилококков коагулировать плазму, гемолитическую, лецитовителлазную и ДНК-зную активности оценивали традиционными методами. Количественную оценку ДНК-зной активности проводили в соответствии с рекомендациями Е.М. Гординой (2015), гемолитической – Н.Г. Ходаковой (2008). При определении факторов персистенции: антилизоцимную (АЛА) и атикомплементарную (АКА) активность, биопленкообразование (БПО) исследовали по О.В. Бухарину (1999) и И.А. Шагинян с соавт. (2007).

Чувствительность изолированных штаммов к антибактериальным препаратам изучали классическим диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона. В качестве тестируемых использовали препараты основных групп, рекомендованных соответствующими методическими указаниями (МУК, 2004): бета-лактамы (оксациллин), фторхинолоны (ципрофлоксацин), линкозамиды (линкомицин), аминогликозиды (гентамицин), тетрациклины (доксициклин), макролиды (эритромицин).

Серологическое обследование. У всех пациентов с помощью ИФА определяли наличие специфических *Ig M* и *Ig G* к возбудителям широко распространенных офтальмотропных инфекций – *Herpes simplex virus I, II типов* (*HSV I, II* типов), *Citomegalovirus (CMV)*, атипичных бактерий *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis)*, а также простейших – *Toxoplasma gondii (T. gondii)* (наборы реактивов фирмы ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). У 62 больных исследовали «парные» сыворотки с интервалом в 10–14 суток. Постановку твердофазного варианта ИФА и оценку результатов анализа проводили в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя тест-систем («Вектор-Бест», Россия). В случае обнаружения специфических *Ig G* к вирусам группы герпеса и токсоплазмам проводили исследование авидности антител традиционным способом (Долгих, 2005).

Молекулярно-генетическое исследование. С помощью ПЦР исследовали СЖ на наличие фрагментов генома *HSV I, II типов, CMV*, атипичных бактерий *C. trachomatis* у 30 пациентов (30 глаз). Применяли наборы для ПЦР в режиме реального времени фирмы «ИнтерЛабСервис». ПЦР проводили традиционным способом, амплификацию осуществляли с помощью термоциклера Rotor-Gene 3000 (Австралия).

Генотипирование 15 штаммов *S. aureus*, изолированных из СЖ, отделяемого зева и носа проводили RAPD-ПЦР-методом с использованием праймера M13. Тотальную ДНК *S. aureus* выделяли по J. Marmur. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном геле, напряженность электрического поля составляла 6В/см. Для визуализации полос и

документирования результатов использовали систему гельдокументации Gel-DocXR (Bio-Rad, США). Маркер молекулярных масс 1kb+1,5kb служил индикатором (ЦНИИ Эпидемиологии, Москва). Результаты определяли по наличию или отсутствию фрагментов ДНК на диаграммах. Их построение осуществляли с использованием компьютерного обеспечения QuantityOne (версия 4.6.1, Bio-Rad, США).

Определение прокальцитонина. Содержание ПКТ в СЖ и СК крови определяли у 15 условно здоровых лиц-добровольцев (контрольная группа), 16 пациентов с увеитами (основная группа) и 14 – с невоспалительной патологией органа зрения (группа сравнения) методом твердофазного ИФА с использованием коммерческой тест-системы «Прокальцитонин – ИФА – БЕСТ» (А 9004) («Вектор-Бест», Россия, чувствительность – 0,01 нг/мл). Оптическую плотность проб регистрировали на вертикальном фотометре StatFax 3200 (Awareness, США).

Клинико-лабораторные методы исследования. Всем пациентам выполняли стандартное лабораторное и инструментальное обследования. Соматический статус оценивали по данным консультаций смежных специалистов. Стандартное офтальмологическое обследование включало: определение остроты зрения; тонометрию по Маклакову; пальпаторное определение уровня цилиарной болезненности; биомикроскопию; гониоскопию с помощью линзы Goldmann; статическую периметрию на автоматическом периметре «Периком»; периметрию на автоматическом периметре PTS 100 Optopol; офтальмоскопию в прямом и обратном виде; биомикроофтальмоскопию; электрофизиологические исследования с определением порога электрической чувствительности сетчатки и лабильности зрительного нерва; обзорную рентгенографию орбит.

Разработка программного комплекса. Проведено построение математической модели связи результатов комплексного обследования пациента и этиологии увеита на основании применения элементов теории нечетких множеств, в частности, использования нечеткого условного предложения и составного правила выбора.

Методы статистического анализа данных. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью встроенного пакета анализа табличного процессора Excel® 2016 MSO (© Microsoft, 2016), авторского (© В.С. Шелудько, 2001–2016) пакета прикладных электронных таблиц Stat2015 (Шелудько, 2016). Для анализа количественных признаков применяли среднюю арифметическую (M), ошибку репрезентативности (стандартная ошибка) средней арифметической (m). Для анализа качественных признаков использовали абсолютные частоты встречаемости, показатели распределения (%) и стандартную ошибку относительных долей (m).

В тексте и таблицах полученные на выборке средние и относительные величины представляли (с целью распространения выводов на генеральные совокупности) в виде доверительных интервалов: средние величины – $M \pm 2m$, относительные величины – $\% \pm 2m$.

При оценке статистической достоверности различий (p) использовали t -критерий Стьюдента и критерий Хи-квадрат (χ^2) (Шелудько, 2016). Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты работы и их обсуждение

Многолетняя динамика заболеваемости увеитами. Впервые проведен анализ многолетней динамики заболеваемости увеитами среди населения Пермского края в период с 2003 по 2017 гг. Выявлено, что в период наблюдения показатели уровня заболеваемости варьировали, но тренд динамики характеризовался тенденцией к повышению со среднегодовым темпом прироста общей заболеваемости +1,1%, первичной – +1,3% (рисунок 1). В целом рост показателей общей и первичной заболеваемости составил 16,7% и 20% соответственно. Следует отметить, что рост первичной заболеваемости увеитами происходил более быстрым темпом, чем по группе болезней органа зрения в целом, что свидетельствует о негативных тенденциях в отношении уровня заболеваемости увеитами в регионе.

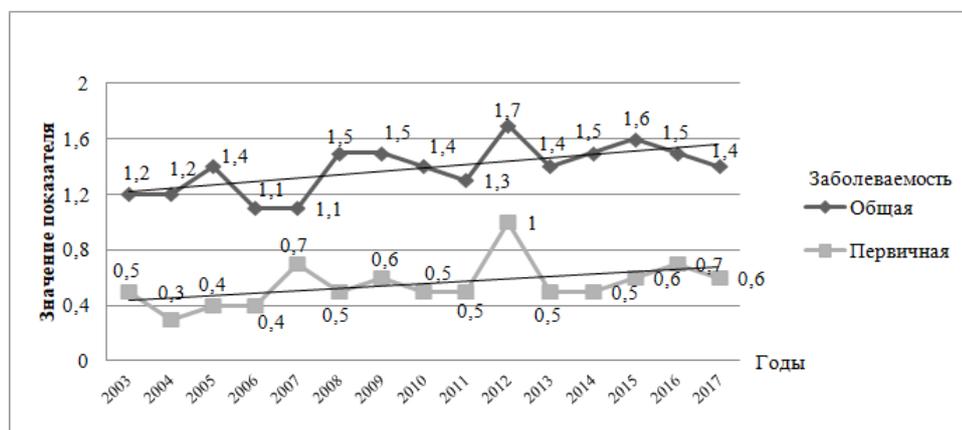


Рисунок 1 – Динамика общей и первичной заболеваемости увеитами населения Пермского края в 2003 – 2017 гг. (на 1000 населения)

Доля увеитов неустановленной этиологии оставалась достаточно высокой и колебалась от 32,7 до 67,9% (в среднем – $52,2 \pm 9,1\%$), при этом регистрировали ее рост на 25,3%. Выявленная негативная тенденция указывает на необходимость совершенствования этиологической диагностики эндогенных увеитов для выбора

адекватной этиопатогенетической терапии, что позволит повысить эффективность лечения таких пациентов.

Анализ заболеваемости туберкулезом глаз в Пермском крае в 2003 – 2017 гг. выявил общую тенденцию к ее снижению (среднегодовой темп прироста – 4,6%), что отражает эпидемическую обстановку по туберкулезу в целом. Вместе с тем цифровые значения показателя заболеваемости туберкулезом глаз в 2017 г. существенно выше, чем в начале срока наблюдения – в 2003 г. Доля увеитов среди офтальмопатологии туберкулезной этиологии стабильно была высокой и составляла от 94,8% до 96,6% (в среднем – $95,4 \pm 0,7\%$).

Использование микробиологических методов для определения этиологии эндогенных увеитов. Поскольку эндогенный увеит – это воспаление сосудистой оболочки глазного яблока, логичным представляется взятие материала непосредственно из очага патологического процесса. Однако, как и в общепринятой клинической практике, мы использовали неинвазивные методы во избежание возможных осложнений, поэтому материалом для исследования служила СЖ. Самостоятельный интерес представлял вопрос и о составе, биологических свойствах микробиоты СЖ у больных эндогенным увеитом. При бактериологическом исследовании 114 проб СЖ выявили инфицирование 25 образцов, полученных от 22 пациентов (21,9%). Как правило, микроорганизмы обнаруживали в виде двухкомпонентных ассоциаций, при этом у 3 человек бактерии присутствовали в СЖ обоих глаз. Всего было изолировано 43 культуры бактерий, все они, за исключением одной, оказались представителями рода *Staphylococcus* (5 видов). Доминирующим видом являлся *S. cohnii* ($48,8 \pm 15,2\%$). Обращает на себя внимание достаточно высокий процент ($23,3 \pm 12,9\%$) выделения штаммов *S. aureus*. Из СЖ 28 практически здоровых лиц было выделено 13 культур, их видовой состав практически не отличался от такового больных эндогенными увеитами.

Из полости носа и зева пациентов выделено 190 бактериальных штаммов – представителей различных таксонов, в том числе из зева – 116 (61,1%), из полости носа – 74 (38,9%). В полости носа преобладали бактерии рода *Staphylococcus*, выделено 6 видов этого рода, чаще встречались *S. epidermidis* – у 32 пациентов из 42 обследованных (76,2%). Штаммы *S. aureus* изолировали в 14 случаях (33,3%). В зеве преобладали стрептококки: *Streptococcus mitis* – 28 штаммов (66,7%) и *St. oralis* – 23 (54,8%). Выделены также представители 6-ти видов стафилококков, преобладали *S. aureus* (11 проб – 26,2%).

Изолированные из СЖ культуры *S. aureus* достоверно чаще обладали факторами вирулентности, чем представители коагулазоотрицательных

стафилококков (КОС) (таблица 1). Установлено, что различные ферменты, как правило, были присущи одним и тем же штаммам *S. aureus*.

Таблица 1 – Факторы вирулентности культур *S. aureus* и представителей КОС, полученных из слезной жидкости

Микроорганизмы		Количество штаммов стафилококков, обладающих факторами вирулентности		
		Гемолизины	Лецитовителлаза	ДНК-за
КОС n=32	Абс.	21	1	0
	% ± 2m	65,6 ± 16,8	3,1 ± 3,1	0
<i>S. aureus</i> n=10	Абс.	10	8	6
	% ± 2m	100	80,0 ± 25,3	60,0 ± 31,0
Достоверность различий между КОС и <i>S. aureus</i>		t = 4,096 p = 0,0002	t = 5,909 p = 0,0001	t = 3,8735 p = 0,0004

Что касается факторов персистенции, то вегетирующие в СЖ культуры стафилококков обладали АЛА, АКА и способностью к БПО. Последнее было более характерно для штаммов *S. aureus* – 90% против 34,4% у представителей КОС (t = 2,194, p = 0,034). Аналогичные закономерности выявлены и в отношении резистентности к комплементу, 90% культур *S. aureus* и 37,5% КОС (t = 2,055; p = 0,046).

Таким образом, значительное количество обнаруженных в СЖ бактерий рода *Staphylococcus*, наряду с факторами вирулентности, обладали и факторами персистенции.

Аналогичные закономерности были выявлены при изучении наличия факторов вирулентности и персистенции у культур *S. aureus* и представителей КОС, выделенных от больных эндогенными увеитами из полости носа и зева. *S. aureus*, независимо от места обитания, достоверно чаще был присущ набор изучаемых факторов вирулентности. При этом практически более 50% тестируемых культур, как *S. aureus*, так и КОС, обладали исследуемыми факторами персистенции, существенно чаще АЛА.

Следовательно, штаммам стафилококков, изолированным из полости носа и зева, так же как и культурам стафилококков, полученным из СЖ, были свойственны факторы вирулентности и персистенции. При этом, как правило, одним и тем же культурам был присущ весь спектр изученных признаков. Среди них было 14 культур *S. aureus*, полученных от 5 больных, из СЖ, отделяемого полости носа и зева.

Штаммы, изолированные из различных биотопов конкретного больного обладали близкими биологическими свойствами. Их близость была подтверждена и при изучении чувствительности к антибиотикам.

Следовательно, все изученные фенотипические характеристики *S. aureus* (факторы вирулентности, персистенции, антибиотикочувствительность), выделенных из различных источников одного и того же больного, свидетельствовали об их родстве.

В дальнейшем с целью подтверждения близости этих изолятов выполнено их генотипирование. Всего исследовано 15 штаммов *S. aureus*. В качестве контроля использовали 1 штамм «с», изолированный из зева пациента С. (рисунок 2).

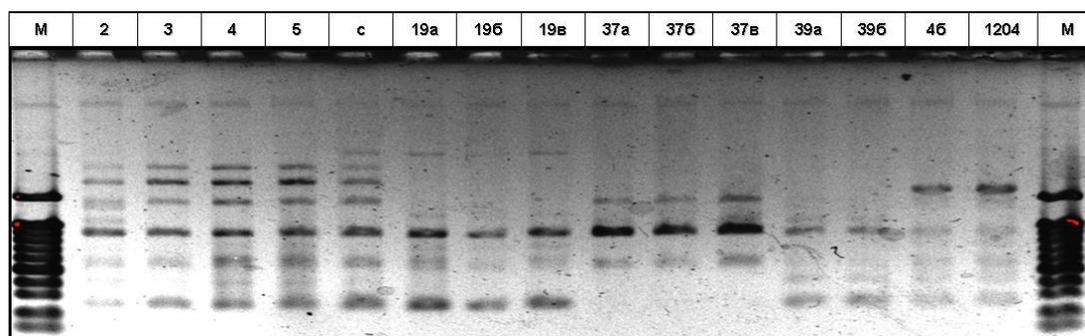


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов RAPD-ПЦР с использованием праймера М 13. М – маркер молекулярных масс 1kb+1,5 kb; №№ – изоляты *S. aureus*

Из представленных на рисунке данных следует, что на основании результатов генотипирования 15 штаммов *S. aureus* выделено 6 геномовариантов. К первому отнесены четыре изолята от пациента И. (штаммы № 2, 3 – из СЖ обоих глаз, № 4 – из полости носа, № 5 – из зева). Ко второму – три изолята от пациентки Н. (штаммы № 19 а – из СЖ, № 19 б – из полости носа, № 19 в – из зева). К третьему отнесены три изолята от пациента Л. (штаммы № 37 а – из СЖ, № 37 б – из полости носа, № 37 в – из зева). К четвертому – два изолята от пациентки Е. (штаммы № 39 а – из СЖ, № 39 б – из полости носа). К пятому – два изолята от пациента Т. (штаммы № 4б – из СЖ, № 1204 – из полости носа). К шестому геномоварианту был отнесен один штамм «с», изолированный из зева больного С. (контроль).

Таким образом, молекулярно-генетические исследования подтвердили родство штаммов *S. aureus*, выделенных из различных биотопов конкретного пациента. Принимая во внимание анатомические особенности слезного аппарата (слезный проток открывается в полость носа), можно полагать, что это один и тот же штамм *S. aureus*, который транслоцируется в СЖ со слизистой носа или зева. Таким образом, наличие одного и того же штамма *S. aureus* в СЖ, полости носа и зева на фоне гнойно-воспалительных заболеваний носоглотки и полости рта в

анамнезе у этих больных, отсутствие других возможных причин эндогенных увеитов, позволяет считать его причиной развития увеита. Тем более, что, по данным различных исследований, *S. aureus* может быть этиологическим агентом увеитов, развивающихся при наличии очагов фокального воспаления (Зайцева и др., 1986; Okada A.A. *et al.*, 1994).

Наряду с бактериологическим, параллельно проведено серологическое обследование больных для выявления специфических *Ig G* к основным возбудителям офтальмоинфекций. К вирусам группы герпеса они обнаружены практически у всех пациентов (*HSV I, II* типов – 100%, *CMV* – 96,3%) к токсоплазмам – у половины обследованных (44,9%), к хламидиям – у 21,5% обследованных. Специфические *Ig M* регистрировали существенно реже. В этой связи в соответствии с существующими методическими рекомендациями определена авидность *Ig G*. Во всех случаях, кроме двух (к *HSV I, II* типов – 1; к *CMV* – 1), обнаружили высокоавидные специфические *Ig G* к вирусам группы герпеса и токсоплазмам, что указывает на хроническую инфекцию.

Следовательно, на основании первичного серологического обследования у 10 пациентов (10 глаз) из 107 обследованных была установлена этиология заболевания: вирусная – у 6 (герпетическая – 1, цитомегаловирусная – 5), токсоплазмозная – у 2, хламидийная – у 2.

Серологическое обследование в динамике с интервалом 10–14 суток на указанные инфекции было выполнено 62 пациентам, у которых не были обнаружены *Ig M* или низкоавидные *Ig G*. Во второй пробе сыворотки у 5 человек (8,1%) регистрировали четырехкратное нарастание титра антител к *HSV I* типа, к *CMV* – у 1 (1,6%), возрастание коэффициента позитивности к *C. trachomatis* – у 4 человек (6,5%) и увеличение количества МЕ/мл к *T. gondii* – у 4 человек (6,5%). У двух пациентов (3,2%) выявлены четырехкратное нарастание титра антител к *HSV I* типа и возрастание коэффициента позитивности к *C. trachomatis*.

Самостоятельный интерес представляют результаты серологического обследования на сифилис. У семи пациентов (9 глаз) из 107 обследованных получена положительная реакция Вассермана. Эти результаты были подтверждены в реакции непрямой гемагглютинации. На основании этого у 7 больных (9 глаз) была констатирована сифилитическая этиология заболевания. Следовательно, в результате целенаправленного серологического обследования этиология эндогенных увеитов была расшифрована в общей сложности у 33 пациентов (30,8%).

Важно подчеркнуть, что при исследовании СЖ 30 пациентов в ПЦР в реальном времени ни в одном случае не были выявлены фрагменты генома каких-либо исследуемых микроорганизмов.

Таким образом, в результате сочетанного использования двух микробиологических методов исследования (бактериологического и серологического) удалось определить инфекционную природу заболевания у 38 пациентов (35,5%) с эндогенными увеитами из 107 обследованных. В 5 случаях (5,6%) в качестве этиопатогенов, очевидно, выступали бактерии (*S. aureus*), в 13 (13,1%) – атипичные бактерии (хламидии или спирохеты) и в 6 (5,6%) – простейшие (токсоплазмы). У остальных пациентов (12 человек, 12,2%) диагностировали вирусную природу заболевания (герпетическую, цитомегаловирусную). У двух пациентов выявили смешанную инфекцию, обусловленную *HSV I* типа и *C. trachomatis*.

Расшифровка этиологии практически у трети обследованных позволила скорректировать лечение больных, придав ему этиопатогенетический характер. Важно подчеркнуть, что нами были использованы неинвазивные методы исследования.

Известно, что прокальцитонин является диагностическим маркером воспаления. Предполагаемым медиатором, стимулирующим продукцию ПКТ в организме, является липополисахарид клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Нами выполнено исследование ПКТ в СЖ и СК больных эндогенным увеитом. У всех обследованных в СК обнаружена низкая концентрация ПКТ, средняя величина значения не превышала 0,035 нг/мл. Медианы концентрации ПКТ в СК для контрольной, основной и группы сравнения составили соответственно 0,026 нг/мл, 0,019 нг/мл и 0,019 нг/мл. При использовании Н-критерия Краскела–Уоллиса различий между группами не выявлено (значение теста Н составило 4,88; $p = 0,0872$). Отсутствие увеличения концентрации ПКТ в СК свидетельствует о том, что при увеитах не происходит массивного выделения в кровь липополисахаридов. В этой связи следует отметить, что у больных, находившихся под нашим наблюдением, грамотрицательные бактерии не выступали в качестве этиопатогена ни в одном случае.

При сравнительной оценке уровня ПКТ в СЖ и СК прямолинейной корреляционной зависимости не обнаружено. Коэффициент корреляции Спирмена для всего массива данных составил 0,198, а внутри групп (контрольной, основной и группы сравнения) – соответственно 0,0099; -0,0518 и -0,0145.

Клинико-anamнестическое обследование пациентов с эндогенными увеитами. На основании клинического обследования установлено, что по анатомической локализации иридоциклиты (передние увеиты) – наиболее частая форма (60,5%). Преобладающий характер течения – рецидивирующий (51%). Экссудат в 50,5% – фибринозный, в 46,2% – серозный. Осложнения развились в 58,8%, из них чаще стойкие задние синехии (18,4%) и увеальная катаракта

(15,8%). У подавляющего большинства пациентов отмечали наличие сопутствующих заболеваний (77%).

Суммируя данные анализа результатов комплексного клиничко-анамнестического и микробиологического обследований пациентов с эндогенными увеитами, в соответствии с рекомендациями Е.И. Устиновой (2016), роль причинных факторов в этиологии этих заболеваний можно оценить следующим образом (таблица 2).

Таблица 2 – Этиологическая структура эндогенных увеитов

Возможные причины заболевания	Частота встречаемости (всего, глаз)		
	Абс.	% от всего количества глаз	% от количества глаз с установленной этиологией
I. Инфекционные и инфекционно-аллергические	64	56,1	72,8
1. Бактериальные:	45	39,5	51,1
туберкулезные	24	21,1	27,3
сифилитические	9	7,9	10,2
хламидийные	6	5,3	6,8
при фокальной инфекции	6	5,3	6,8
2. Вирусные:	13	11,4	14,8
герпетические	6	5,3	6,8
цитомегаловирусные	6	5,3	6,8
аденовирусные	1	0,9	1,1
3. Паразитарные:	6	5,3	6,8
токсоплазмозные	6	5,3	6,8
II. На фоне системных и синдромных заболеваний	24	21,1	27,3
1. Анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева)	11	9,7	12,5
2. Ревматоидный артрит	11	9,7	12,5
3. Системная красная волчанка	2	1,8	2,3
Всего	88	77,2	100

Как следует из представленных данных, этиологию удалось расшифровать у 82 пациентов (76,6%) на 88 глазах (77,2%). Превалировали инфекционные и инфекционно-аллергические причины. Вирусные поражения чаще были связаны с *CMV* и *HSV* (по 5,3%). В достаточно высоком проценте случаев (21,1%) установлена связь с системными и синдромными заболеваниями, которые в соответствии с данными литературы могут рассматриваться как триггерные факторы эндогенного увеита (Годзенко и др., 2014; Nussenblatt *et al.*, 2010). Этиологию воспаления не удалось установить на 26 глазах (22,8%).

Сравнительный анализ клинических особенностей в установленных этиологических группах показал, что развитие двухсторонних поражений в большей мере характерно для туберкулезной и сифилитической этиологии заболевания. Передние увеиты чаще развивались на фоне системных заболеваний (анкилозирующий спондилоартрит, ревматоидный артрит) и сифилиса, задние – при туберкулезной этиологии, а кератоувеиты – при вирусной этиологии. Туберкулезные увеиты сопровождалась большим количеством, тяжестью и сочетанием осложнений. Для увеитов вирусной этиологии характерно снижение чувствительности роговицы и развитие ее помутнений. Важно подчеркнуть, что бактериальный спектр СЖ, в отличие от клинических проявлений, практически не зависит от этиологии воспалительного процесса, а определяется особенностями микробиоты носоглотки этих пациентов, так же как и у практически здоровых лиц.

Таким образом, исходя из полученных результатов, следует, что при изучении этиологии эндогенных увеитов целесообразно использовать именно такой комплексный подход с учетом данных микробиологического и клинико-анамнестического обследований.

Разработка программного комплекса для определения этиологии эндогенных увеитов. На основе теории нечетких множеств разработана и апробирована компьютерная программа, позволяющая определить причинные факторы эндогенных увеитов. Основная идея предлагаемого подхода заключается в построении зависимости между данными обследования пациента и соответствующими им причинами увеита. Преимуществом применения этой теории является возможность построения связи, которую достаточно сложно выявить существующими стандартными статистическими методами.

Разработку компьютерной программы проводили на основании результатов комплексного обследования пациентов с эндогенными увеитами установленной этиологии. Для построения связи между результатами обследования пациента и причиной возникновения увеита были отобраны 117 наиболее важных показателей.

Задачей первого этапа было определение значения так называемой функции принадлежности. Для этого все результаты комплексного клинико-лабораторного и микробиологического обследований были внесены в таблицу. Для возможности записи всех полученных результатов обследования в качестве числовых значений с целью дальнейшей компьютерной обработки в модель была введена численная классификация. Например, при рассмотрении результатов исследования авидности специфических $Ig G$ в случае обнаружения низкоавидных Ig признак обозначается 1, при отсутствии – 0. Затем на основании данных литературы и

результатов собственных исследований определяли так называемую функцию принадлежности, т.е. значимость каждого отдельно взятого результата обследования в определении этиологии у конкретного пациента (по шкале от 0 до 1). Так, если наличие в анамнезе ревматоидного артрита существенно влияет на причину увеита, то функция принадлежности будет равна 1, а если не влияет, то нулю.

В качестве примера приводим часть результатов обследования некоторых пациентов в виде нечетких множеств, где первое число является результатом обследования, а второе отражает по предложной шкале степень зависимости между рассматриваемым параметром и этиологией (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты определения функции принадлежности нечеткого множества (для первых четырех пациентов)

№ п/п	Контакт с больным туберкулезом	Клиническая форма увеита	Низкоавидные <i>Ig G</i> к <i>HSV1, II типов</i>	Наличие <i>S. aureus</i> в СЖ	...
1	0/0	6/0,9	1/1	0/0	...
2	0/0	1/0,3	0/0	1/1	...
3	1/1	3/1	0/0	0/0	...
4	0/0	4/0	0/0	0/0	...
...

Ввиду большого количества рассматриваемых параметров и пациентов, для построения матриц требовалось вводить множество входных данных, следовательно, и проводить значительное число разнообразных вычислений. Для решения этой проблемы на втором этапе работы был разработан программный комплекс на языке C++, позволяющий определить этиологию увеита на основе описанной выше методики с применением теории нечетких множеств.

Задачей третьего этапа было сокращение количества вводимых параметров. В итоге удалось выделить 30 наиболее информативных показателей обследования пациента, таких как положительные результаты серологического и бактериологического обследований, низкая авидность антител, сероконверсия, наличие определенных сопутствующих заболеваний и т.д. Это позволило существенно оптимизировать компьютерную программу для практического применения. В подавляющем большинстве случаев позволило подтвердить правильность определения этиологии эндогенных увеитов у обследованных пациентов. Следовательно, разработанная модель может быть использована как новый способ интерпретации результатов комплексного обследования пациентов для определения этиологии эндогенных увеитов.

ВЫВОДЫ

1. Проведенный многолетний анализ показателей общей и первичной заболеваемости увеитами населения Пермского края свидетельствует о негативных тенденциях. Выявлено, что рост уровня первичной заболеваемости увеитами происходит более быстрым темпом, чем в целом по классу болезней органа зрения.

2. При бактериологическом исследовании слезной жидкости, мазков из зева и полости носа 107 больных эндогенными увеитами микроорганизмы были выделены в 37,4% случаев. Всего из различных биотопов изолировано 233 бактериальных штамма, преобладали бактерии рода *Staphylococcus* – 83,3%. У штаммов *S. aureus* и *S. cohnii* выявлены факторы вирулентности и персистенции. Показано, что бактериальный спектр слезной жидкости не зависел от этиологии увеитов, а определялся особенностями микробиоты носоглотки обследованных пациентов.

3. В результате сравнительного анализа различных методов микробиологической диагностики эндогенных увеитов установлено, что наиболее информативным является серологический. Выявление в ИФА специфических *Ig M*, нарастание титра антител в динамике заболевания, а также определение авидности специфических *Ig G* в «положительных» сыворотках позволяют определить этиологию патологического процесса у 30,8% пациентов.

4. На основании изучения биологических свойств, генопрофиля и определения геновариантов культур *S. aureus*, изолированных из слезной жидкости, полости носа и зева конкретного больного, установлена идентичность культур, выделенных из слезной жидкости, зева и носа. На фоне хронических очагов гнойной инфекции носоглотки штаммы *S. aureus* гематогенно транслоцируются в сосудистое русло глаза и вызывают эндогенный увеит.

5. Показано, что прокальцитонин присутствует в слезной жидкости здоровых людей. Его концентрация в ней достоверно значимо превышает содержание в сыворотке крови. Развитие эндогенных увеитов не сопровождается изменением концентрации прокальцитонина ни в сыворотке крови, ни в слезной жидкости. Прямой корреляционной зависимости между уровнем прокальцитонина в сыворотке крови и слезной жидкости пациентов не выявлено.

6. Установлено, что клинические особенности эндогенных увеитов в значительной мере определяются их этиологией. Двухсторонние поражения в большей мере характерны для туберкулезных и сифилитических заболеваний. Передние увеиты чаще развиваются на фоне системных заболеваний и сифилиса, задние – при туберкулезной этиологии, а кератоувеиты – при вирусной. Туберкулезные увеиты отличаются большей тяжестью и сочетанием осложнений.

7. Опыт использования разработанного программного комплекса, основанного на применении теории нечетких множеств, показал перспективность его применения для расшифровки этиологии эндогенных увеитов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для расшифровки этиологии увеитов необходимо проведение целенаправленного серологического обследования с использованием ИФА для определения специфических *IgM* и *Ig G* к основным возможным возбудителям офтальмоинфекций – *HSV I, II типов, CMV, C. trachomatis, T. gondii*. В случае обнаружения специфических *IgG* целесообразно определять avidность антител. Наиболее эффективным является исследование парных сывороток с интервалом 10–14 суток. При четырехкратном нарастании титра антител можно устанавливать этиологию заболевания.

2. При определении этиологии с помощью неинвазивных бактериологических методов, наряду с исследованием СЖ, целесообразно проводить исследование отделяемого полости носа и зева. При выделении *S. aureus* из этих биотопов и наличии хронического фокального воспаления следует рассматривать эти микроорганизмы в качестве этиологических агентов.

3. Выявление стафилококкового бактерионосительства следует рассматривать как фактор риска развития увеита. В случае резидентного носительства необходимо проведение санации носоглотки с целью элиминации возбудителя.

4. Тщательный сбор анамнеза с акцентом на определение системных заболеваний позволяет в значительной мере расшифровать этиологию увеита.

5. Больных с увеитом необходимо дополнительно обследовать на сифилис и туберкулез с использованием традиционных микробиологических методов исследования.

Основные положения диссертационного исследования изложены в следующих публикациях автора

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации:

1. Конькова, А.Ю. Опыт серологического обследования пациентов с увеитами с целью расшифровки этиологии заболевания / А.Ю. Конькова, Э.С. Горовиц, Т.В. Гаврилова, М.В. Черешнева // Медицинский вестник Башкортостана, научно-практический журнал. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 181-183.

2. Конькова, А.Ю. Исследование прокальцитонина в слезной жидкости и сыворотке крови при увеитах / А.Ю. Конькова, Д.Ю. Соснин, Т.В. Гаврилова, М.В. Черешнева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 10. – С. 21-25 (Scopus).

3. Конькова, А.Ю. Заболеваемость увеитами населения Пермского края / А.Ю. Конькова, Т.В. Гаврилова, М.В. Черешнева // Пермский медицинский журнал. – 2015. – Т. 32, № 6. – С. 51-56.

4. Гаврилова, Т.В. Определение уровня прокальцитонина в слезной жидкости и сыворотке крови пациентов с увеитами / Т.В. Гаврилова, А.Ю. Конькова, Д.Ю. Соснин, М.В. Черешнева // Медицинский альманах. – 2016. – № 1. – С. 92-95.

5. Конькова, А.Ю. Анализ причин возникновения воспалительных заболеваний сосудистого тракта глаза / А.Ю. Конькова, Д.А. Бояршинов, Т.В. Гаврилова, М.Б. Гитман // Российский журнал биомеханики. – 2019. – Т. 23, № 1. – С. 22-32 (Scopus).

6. Конькова, А.Ю. Роль комплексного клиничко-анамнестического и лабораторного обследования при уточнении этиологии эндогенных увеитов / А.Ю. Конькова, Э.С. Горовиц, Т.В. Гаврилова, М.Д. Пожарицкий, М.В. Черешнева // Офтальмология. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 202-209 (Scopus).

7. Конькова, А.Ю. Сравнительная характеристика биологических свойств стафилококков, изолированных из слезной жидкости, полости носа и зева пациентов с эндогенными увеитами / А.Ю. Конькова, Э.С. Горовиц, Т.В. Гаврилова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. – 2019. – Вып. 2. – С. 159-166.

Публикации в других журналах и сборниках:

8. Гаврилова, Т.В. Характеристика пациентов с увеитами / Т.В. Гаврилова, А.Ю. Конькова // Проблемы воспаления в офтальмологии: материалы межрегиональной науч.-практ. конф., посвящ. памяти проф. Л.Н. Тарасовой. – Челябинск, 2013. – С. 26-29.

9. Конькова, А.Ю. Клиническая характеристика пациентов с увеитами, находившихся на лечении в Пермской краевой клинической больнице в 2008–2012 годах / А.Ю. Конькова, Т.В. Гаврилова // V международный молодежный медицинский конгресс: Санкт-Петербургские научные чтения – 2013. – Санкт-Петербург, 2013. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 195.

10. Конькова, А.Ю. Клиническая характеристика пациентов с увеитами / А.Ю. Конькова, Т.В. Гаврилова // XXI Научно-практическая конференция офтальмологов по вопросам хирургического и консервативного лечения заболеваний органа зрения: сб. ст. – Екатеринбург, 2013. – С. 38-40.

11. Конькова, А.Ю. Состояние заболеваемости увеитами в Пермском крае / А.Ю. Конькова, Т.В. Гаврилова, М.В. Черешнева // Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. – 2015. – Т. 2, № 4 (11). – С. 31-35.

Автор выражает глубокую благодарность научным руководителям д.м.н., профессору, заслуженному деятелю науки РФ Эдуарду Семеновичу Горовицу и д.м.н., профессору Татьяне Валерьевне Гавриловой за помощь на всех этапах выполнения диссертации; д.м.н., профессору кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России М.В. Кузнецовой за практическую помощь при молекулярно-генетических исследованиях; д.м.н., доц. кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России Д.Ю. Соснину за практическую помощь при исследованиях прокальцитонина; д.ф.-м.н., проф., зав. кафедрой вычислительной математики, механики и биомеханики ФГБОУ ВО ПНИПУ М.Б. Гитману и магистранту Д.А. Бояршинову за разработку компьютерного программного комплекса. Выражаю искреннюю признательность и благодарность д.м.н., профессору, заслуженному деятелю науки РФ Маргарите Владимировне Черешневой за консультации и совместную работу.