

УДК 377+378.17+614.251.2+616-091.1-008.97
DOI: 10.56871/RBR.2024.93.48.001

ИНФЕКЦИОННЫЕ АГЕНТЫ В ФИКСИРОВАННЫХ АНАТОМИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ

© Анна Владимировна Зачиняева¹, Ярослав Васильевич Зачиняев², Дмитрий Павлович Гладин¹, Наталья Петровна Кириллова¹, Анна Николаевна Андреева¹, Татьяна Викторовна Баранова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

² Петрозаводский государственный университет. 185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33

Контактная информация: Анна Владимировна Зачиняева — д.б.н., профессор, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: anvz60314@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1521-3060> SPIN: 5208-2419

Для цитирования: Зачиняева А.В., Зачиняев Я.В., Гладин Д.П., Кириллова Н.П., Андреева А.Н., Баранова Т.В. Инфекционные агенты в фиксированных анатомических материалах. Российские биомедицинские исследования. 2024;9(4):5–8. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2024.93.48.001>

Поступила: 10.10.2024

Одобрена: 12.11.2024

Принята к печати: 17.12.2024

Резюме. Программа додипломного и последипломного медицинского образования предполагает использование трупов для обучения анатомии путем вскрытия или изучения прозектированных образцов. Процесс консервации биоматериала должен гарантировать отсутствие его повреждений, разрушения и разложения. Для этого используются консервирующие растворы, однако остается неясным, существует ли какой-либо риск распространения микроорганизмов во время преподавания анатомии, исследований и процедур вскрытия фиксированных трупов. Результаты показали, что фиксированный трупный материал, а также консервирующие растворы содержат жизнеспособные микромицеты. Изучение факторов патогенности грибов, выделенных из анатомических препаратов, показало, что более 80% штаммов грибов обладают гидролитической активностью. Это исследование подчеркивает важность разработки протоколов безопасных манипуляций во избежание возможного заражения и заболеваний персонала и студентов.

Ключевые слова: анатомические препараты, грибы, факторы патогенности, ферменты

INFECTIVE AGENTS IN FIXED ANATONICAL MATERIALS

© Anna V. Zachinyaeva¹, Yaroslav V. Zachinyaev², Dmitriy P. Gladin¹, Natalya P. Kirillova¹, Anna N. Andreeva¹, Tatyana V. Baranova¹

¹ Saint Petersburg State Pediatric Medical University. 2 Lithuania, Saint Petersburg 194100 Russian Federation

² Petrozavodsk State University. 33 Lenin Ave., Petrozavodsk Republic of Karelia 185910 Russian Federation

Contact information: Anna V. Zachinyaeva — Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology. E-mail: anvz60314@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1521-3060> SPIN: 5208-2419

For citation: Zachinyaeva AV, Zachinyaev YaV, Gladin DP, Kirillova NP, Andreeva AN, Baranova TV. Infective agents in fixed anatomical materials. Russian Biomedical Research. 2024;9(4):5–8. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2024.93.48.001>

Received: 10.10.2024

Revised: 12.11.2024

Accepted: 17.12.2024

Abstract. The program of pre-graduate and postgraduate medical education involves the use of cadavers to teach anatomy by autopsy or examination of dissected samples. The preservation process of the biomaterial must ensure that it is free from damage, destruction and decomposition. Preservative solutions are used for this, but it remains unclear whether there is any risk of spread. microorganisms during the teaching of anatomy, research and autopsy procedures

of fixed corpses. The results showed that the fixed cadaveric material, as well as preservative solutions, contain viable micromycetes. The study of the pathogenicity factors of fungi isolated from anatomical preparations showed that more than 80% of fungal strains have hydrolytic activity. This study highlights the importance of developing safe manipulation protocols to avoid possible infection and illness of staff and students.

Keywords: anatomical preparations, fungi, pathogenicity factors, enzymes

ВВЕДЕНИЕ

Со времен Возрождения человеческое тело используется для преподавания анатомии. Фактически древнегреческие корни слова «анатомия» означают «разрезать» или «отделить». В анатомических музеях хранятся образцы, представляющие научный интерес. Этот отличный образовательный инструмент используется анатомами при преподавании будущим врачам. Современные методы бальзамирования трупов человека предполагают использование формалина с добавлением глицерина, солей, дезинфицирующих средств и воды. Процедура бальзамирования должна обеспечивать хорошую сохранность органов и тканей с минимальными структурными изменениями трупа. Известно, что формалин является сильным дезинфицирующим средством. Отмечена его способность даже в низких концентрациях подавлять рост бактерий и грибов. Это обусловлено способностью формалина присоединяться к аминокетонам белковых молекул, что приводит к изменению и разрушению молекулярной структуры белков и нуклеопротеидов. Он обеспечивает твердость тканей и инактивирует ферменты, ответственные за посмертные аутолитические процессы [1–5].

Несмотря на высокую эффективность и широкий спектр антимикробной активности, некоторые микроорганизмы не утрачивают жизнеспособность на поверхностях, обработанных формалином, а отдельные штаммы даже могут размножаться в тканях трупа [1]. Так, Yarangalla и Rajput обнаружили виды *Penicillium*, *Trichophyton* и *Aspergillus* на коже и костной ткани трупов, фиксированных 5% раствором формалина [6]. Однако лишь немногие исследования были посвящены проблеме биологического риска при проведении манипуляций с фиксированным трупом и распространению патогенных микроорганизмов. N.A. Osman и соавт., S. Hayashi и соавт., Tabas и соавт. показали наличие патогенных бактерий в 10 фиксированных трупах, использованных на практике для преподавания анатомии: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* [7, 8]. Наличие таких видов грибов, как *Trichophyton*, *Microsporium*, *Candida* и *Cryptococcus* было также отмечено в работе C. Molina и соавт. [9].

Другим важным аспектом является изменение цвета анатомических препаратов под воздействием метаболитов грибов, что приводит к их непригодности. Источники контаминации трупов различными видами микроскопических грибов весьма разнообразны и включают воздух помещений, обслуживающий персонал, профессорско-преподавательский состав, а также студентов, проходящих обучение на кафедре.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель настоящего исследования — изучение видов грибов, находящихся в воздухе анатомической лаборатории, а также определение наличия устойчивых к формалину грибов на поверхности трупов и оценка их биологической активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проводился забор материала стерильными ватными тампонами с анатомических препаратов, из растворов для хранения влажных препаратов и из ванн для консервирования трупов. Отбор проб воздуха проводили методом искусственной седиментации. Образцы проб высевали на среду Чапека с последующим культивированием при температуре 28 °C (5–7 суток). Видовую идентификацию грибов проводили по культурально-морфологическим свойствам.

Для идентификации грибов использовали таксономические признаки (морфологию репродуктивных структур, культуральные характеристики колоний). Названия видов грибов приводятся по номенклатуре базы данных Mycobank [10].

Грибы, выделенные из анатомических препаратов, растворов для хранения влажных препаратов и ванн для консервирования трупов, были проанализированы на их способность продуцировать внеклеточные ферменты на твердых средах. Активность протеазы оценивали по образованию прозрачных зон вокруг колоний грибов на среде с обезжиренным молоком [11]. Для определения липазной активности грибы культивировали на среде с Твин-80. Их ферментативную активность оценивали по образованию кристаллов олеата кальция. Гемолитическую активность оценивали по образованию зон гемолиза на кровяном агаре.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных посевов с различных исследуемых материалов были выделены следующие микромицеты.

- Воздух: *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium lilacinum* Thom., *Aspergillus restrictum* Smitt, *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus ustus* (Bainier), *Aspergillus flavus* Raper and Fennell, Gams, *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Bainie, *Aureobasidium* spp., *Glioclanium* spp., *Trichoderma polysporum* Rifai.
- Растворы и смывы с ванн для консервирования трупов: *Gliocladium roseum* Bainier, *Gliocladium* spp.

Таблица 1

Ферментативная и гемолитическая активность изученных видов грибов

Table 1

Enzymatic and hemolytic activity of the studied fungal species

Виды грибов / Types of mushrooms	Количество штаммов / Number of strains	Количество штаммов, проявляющих гидролитическую активность / Number of strains exhibiting hydrolytic activity		
		протеаза / protease	липаза / lipase	гемолиз / hemolysis
<i>Aspergillus ustus</i>	5	2	1	2
<i>A. nidulans</i>	1	1	0	1
<i>A. niger</i>	3	3	3	3
<i>A. restrictum</i>	2	0	0	1
<i>A. flavus</i>	3	3	1	3
<i>Gliocladium roseum</i>	2	2	0	2
<i>Trichoderma polysporum</i>	4	3	4	2
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	1	1	1	0

- Анатомические препараты: *Aspergillus nidulans* (Eidam), *Fonsecaea pedrosoi* (Brumpt).

Интересно, что виды микромицетов, выделенные из воздушной среды анатомической лаборатории, не были обнаружены в растворах и на анатомических препаратах. Фиксированные формалином препараты были покрыты плотным субстратным мицелием. В результате воздействия паров формалина и низкого воздухообмена развитие грибов не происходило и воздушного мицелия на препаратах выявлено не было. Таким образом, контаминации воздушной среды спорами грибов рода *Gliocladium*, а также видами *A. nidulans* и *F. pedrosoi* не зафиксировано. Опасность для анатомических препаратов представляют многочисленные метаболиты, продуцируемые этими грибами. Это, прежде всего, хиноны, которые образуют устойчивые комплексы с природными полимерами. Как результат, анатомические препараты приобретают окраску. Кроме того, образуются летучие токсичные изоцианаты, являющиеся основной причиной развития астматического статуса.

25 мицелиальных грибов, выделенных из анатомических препаратов, растворов для хранения влажных препаратов и ванн для консервирования трупов, были проанализированы на их способность продуцировать внеклеточные ферменты на твердых средах. Были протестированы следующие виды грибов: *Aspergillus niger lilacinum*, *A. nidulans*, *A. flavus*, *A. restrictum*, *A. ustus*, *Penicillium*, *Mucor ramosissimus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aureobasidium* spp., *Trichoderma polysporum*, *Gliocladium roseum*, *Fonsecaea pedrosoi*.

Изучение факторов патогенности микромицетов, выделенных из анатомических препаратов, показало, что более 80% штаммов грибов обладают гидролитической активностью (табл. 1).

Представители видов *Penicillium lilacinum*, *Mucor ramosissimus* и *Fonsecaea pedrosoi* гидролитическую активность не показали.

Важным фактором патогенности таких видов грибов, как *Aspergillus ustus*, *A. niger*, *A. flavus*, являются протеазы. Изучение факторов вирулентности этих грибов показало, что основная роль в развитии аспергиллеза легких принадлежит протеолитическим ферментам — эластазам, коллагеназам [12]. Свойство образовывать внеклеточные фосфолипазы выявлено у многих оппортунистических грибов — возбудителей микозов [13].

Выраженная гемолитическая активность была обнаружена у 56% изолятов грибов. Доказано, что у ряда мицелиальных грибов гемолитическая активность — это результат продукции токсинов. Так, S.J. Vesper и соавт. выделили гемолитический агент стахилизин из *Stachybotrys chartarum* [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, гидролитические ферменты, являющиеся факторами патогенности, были обнаружены в большинстве протестированных культур грибов. Необходима эффективная профилактика контаминации анатомических музеев, кафедр мицелиальными грибами, поскольку это создает серьезную опасность для здоровья персонала.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.



ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

ЛИТЕРАТУРА

- Anton H., Al-Ghoshae H., Chandra M., Baobaid M.F. et al. Formalin Resistant Fungi Isolated from Cadavers at a Medical School's Dissection Hall in Malaysia. *Asian J Med Health Sci.* 2022;5(1):55–62.
- Михайлов В.И., Андреева С.А., Карелина Н.Р., Яценко Е.В. Новый этап в изучении анатомии человека: проблемы и их решение с помощью современных методов визуализации. *Forcipe.* 2022;5(3):15–32.
- Никонорова М.Л., Карелина Н.Р. Медицинские электронные ресурсы на практических занятиях по анатомии человека. *Педиатр.* 2014;5(4):140–145. DOI: 10.17816/PED54140-145.
- Цинзерлинг А.В., Цинзерлинг В.А., Ариэль Б.М. и др. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. СПб.: Сотис; 1993.
- Алексеев В.В., Алипов А.Н., Андреев В.А. и др. Медицинские лабораторные технологии. Т. 2. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
- Ramesh G., Katiyar A., Sujatha R., Raj A., Gupta B., Kumar A. Detection of microorganisms on formalin-fixed and stored pathology tissues: A microbiological study. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2021;1:64–69.
- Osman N.A., Abdeen S.M., Edriss A.A., Sulieman A.A. Identification of fungal growth in formalin fix human cadaver among Faculties of Medicine at Khartoum. *Stat Nat Sci.* 2014;12(11):64–67.
- Hayashi S., Homma H., Naito M. et al. Saturated salt solution method: a useful cadaver embalming for surgical skills training. *Medicine (Baltimore).* 2014;93(27).
- Claudio Molina, Liliana Berrocal, Matias R. et al. Identification of bacterial and fungal species in human cadavers used in anatomy teaching. *Int J Morphol.* 2019;37(2):473–476.
- База данных MYCOBANK. Доступен по: <https://www.mycobank.org/> (дата обращения: 27.03.2024).
- Paterson R.R.M., Bridge P.D. Biochemical techniques for filamentous fungi. *Int. J Mycol Instit.* 1994;1:21.
- Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Оппортунистические грибы — контаминанты среды обитания человека и их потенциальная патогенность. *Экология человека.* 2021;3:4–14.
- Карпунина Т.И., Олина А.А., Машуров М.Г., Чемурзиева Н.В., Драбкова В.А. Фосфолипазы оппортунистических грибов: их возможная роль в патогенезе и диагностике микозов. *Проблемы медицинской микологии.* 2006;8(6):41–46.
- Vesper S.J., Dearborn D.G., Yike I., Sorenson W.G., Haugland R.A. Hemolysis, toxicity, and randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Stachybotrys chartarum* strains. *J Appl Environ Microbiol.* 1999;65:3175–3181.

REFERENCES

- Anton H., Al-Ghoshae H., Chandra M., Baobaid M.F. et al. Formalin Resistant Fungi Isolated from Cadavers at a Medical School's Dissection Hall in Malaysia. *Asian J Med Health Sci.* 2022;5(1):55–62.
- Mihajlov V.I., Andreeva S.A., Karelina N.R., Yacenko E.V. A new stage in the study of human anatomy: problems and their solution using modern visualization methods. *Forcipe.* 2022;5(3):15–32. (In Russian).
- Nikonorova M.L., Karelina N.R. Medical electronic resources in practical classes on human anatomy. *Pediatr.* 2014;5(4):140–145. DOI: 10.17816/PED54140-145. (In Russian).
- Cinzerling A.V., Cinzerling V.A., Ariel' B.M. i dr. Modern infections. Pathological anatomy and pathogenesis issues. Saint Petersburg: Sotis; 1993. (In Russian).
- Alekseev V.V., Alipov A.N., Andreev V.A. i dr. Medical laboratory technologies. Vol. 2. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (In Russian).
- Ramesh G., Katiyar A., Sujatha R., Raj A., Gupta B., Kumar A. Detection of microorganisms on formalin-fixed and stored pathology tissues: A microbiological study. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2021;1:64–69.
- Osman N.A., Abdeen S.M., Edriss A.A., Sulieman A.A. Identification of fungal growth in formalin fix human cadaver among Faculties of Medicine at Khartoum. *Stat Nat Sci.* 2014;12(11):64–67.
- Hayashi S., Homma H., Naito M. et al. Saturated salt solution method: a useful cadaver embalming for surgical skills training. *Medicine (Baltimore).* 2014;93(27).
- Molina C., Berrocal L., Matias R. et al. Identification of bacterial and fungal species in human cadavers used in anatomy teaching. *Int J Morphol.* 2019;37(2):473–476.
- MYCOBANK Database. Available at: <https://www.mycobank.org/> (accessed: 27.03.2024).
- Paterson R.R.M., Bridge P.D. Biochemical techniques for filamentous fungi. *Int J Mycol Instit.* 1994;1:21.
- Kuzikova I.L., Medvedeva N.G. Opportunistic fungi — contaminants of the human environment and their potential pathogenicity. *Ekologiya cheloveka.* 2021;3:4–14. (In Russian).
- Karpunina T.I., Olina A.A., Mashurov M.G., Chemurzieva N.V., Drabkova V.A. Phospholipases of opportunistic fungi: their possible role in the pathogenesis and diagnostics of mycoses. *Problemy medicinskoj mikologii.* 2006;8(6):41–46. (In Russian).
- Vesper S.J., Dearborn D.G., Yike I., Sorenson W.G., Haugland R.A. Hemolysis, toxicity, and randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Stachybotrys chartarum* strains. *J Appl Environ Microbiol.* 1999;65:3175–3181.

