

УДК: 616.72-002.77-078.083.3-036.1

DOI: 10.14427/jipai.2019.2.49

Клиническое значение антинуклеарных антител при ревматоидном артрите

М.В. Волкова¹, Е.В. Кундер¹, И.И. Генералов², С.А. Сенькович², Д. Роггебук³

¹ Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск Беларусь

² Учреждение образования «Витебский государственный Ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Беларусь

³ Бранденбургский технический университет, Зенфтенберг, Германия

Clinical value of antinuclear antibodies in rheumatoid arthritis

M.V. Volkova¹, A.V. Kunder¹, I.I. Generalov², S.A. Senkovich², D. Roggenbuck³

¹ Belorussian medical academy of post-graduate education, Minsk, Belarus

² Vitebsk state medical university, Vitebsk, Belarus

³ Brandenburg technical university, Senftenberg, Germany

Аннотация

Цель исследования: провести стандартизированную оценку частоты встречаемости и типов свечения антинуклеарных антител (АНА) при ревматоидном артрите (РА) и изучить взаимосвязи между наличием антител и клиническими проявлениями заболевания.

Методы. В исследование включено 105 пациентов с достоверным диагнозом РА. Определение АНА проводилось методом непрямой флюоресценции (НИФ) с использованием автоматизированной цифровой системы AKLIDES, специфические АНА определялись на платформе AKLIDES Cytobead.

Результаты. Положительный ядерный тип АНА определен у 38 пациентов (36,2%), отрицательный у 67 пациентов (63,8%). Частота встречаемости АНА при РА была значимо выше по сравнению со здоровыми лицами ($p=0,0001$). Наиболее частым паттерном свечения являлся крапчатый. Между АНА-позитивными и АНА-негативными не выявлено значимых различий по клиническим и лабораторным признакам ($p>0,05$). Однако системные проявления втрое чаще наблюдались при АНА-позитивном РА ($p=0,0073$).

Выводы. АНА встречаются у трети пациентов с РА, что свидетельствует о напряженности аутоиммунитета при РА и возможной роли АНА в качестве независимого биомаркера РА. Стандартизированная оценка АНА методом НИФ позволяет получать сопоставимые данные без влияния субъективных факторов, что значительно упрощает проведение исследований по изучению АНА в качестве диагностического и прогностического биомаркера при РА.

Summary

The aim of work was to assess the incidence and types of antinuclear antibody (ANA) in with rheumatoid arthritis (RA) and examine the relationships between the presence of antibodies and clinical manifestations of the disease.

Methods. In the study 105 patients with RA were included. ANA were determined by indirect immunofluorescence (IIF) on automatized digital AKLIDES systems, specific ANA were detected by AKLIDES Cytobead platform.

Results. Positive nuclear staining of ANA was determined in 38 patients (36.2%), negative in 67 patients (63.8%). The incidence of ANA in RA was significantly higher than in healthy individuals ($p=0.0001$). Speckled pattern was the most frequent. Positive results of determination of specific autoantibodies to at least 1 nuclear antigen were found in 39.47% of ANA-positive patients. There were no significant differences in clinical and laboratory characteristics between ANA-positive and ANA-negative patients ($p>0,05$). However, systemic manifestations were observed three times more often in ANA-positive RA ($p=0.0073$).

Conclusions. ANA occurs in a third of patients with RA, indicating the intensity of autoimmunity in RA and the possible role of ANA as an independent biomarker of RA. Standardized evaluation of ANA by IIF allows to obtain comparable data without the influence of subjective factors, which greatly simplifies the research of ANA as a diagnostic and prognostic biomarker in RA.

Ключевые слова

Ревматоидный артрит, антинуклеарные антитела, непрямая иммунофлюоресценция, системные проявления.

Введение

Антинуклеарные антитела (АНА) представляют собой гетерогенную группу аутоантител, направленных против различных ядерных антигенов. Позитивность по АНА отмечается при многих аутоиммунных заболеваниях, что делает этот показатель универсальным тестом при обследовании пациентов с аутоиммунной патологией.

Известно, что у 35% пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) и другими системными заболеваниями соединительной ткани (СЗСТ) АНА обнаруживаются только с помощью непрямой иммунофлюоресценции (НИФ), и не обнаруживаются другими методами [1]. Исходя из этого, иммунофлюоресцентная микроскопия с использованием субстрата Нер-2 признана международной группой экспертов «золотым стандартом» для обнаружения АНА в сыворотке крови и рекомендована в качестве первого скринингового этапа в диагностике системных аутоиммунных ревматических заболеваний [2].

При определении АНА анализируется титр разведения сыворотки (диагностически значимый – 1/80 и выше), интенсивность флюоресценции (оценивается в «плюсах»), при положительном результате анализа описывается тип свечения. Тип свечения обусловлен широким спектром антител, которые находят свои мишени внутри клетки. Выделяют 3 основных вида типов свечения: ядерный, цитоплазматический и митотический. Рабочая группа по стандартизации аутоантител разработала детальную классификацию типов свечения (<http://www.ANApatterns.org>), каждый из которых может соответствовать отдельному аутоиммунному заболеванию [3].

Однако существуют определенные сложности в исследовании АНА, которые связаны с отсутствием стандартизированного подхода и большим количеством внутри- и межлабораторных вариаций ввиду субъективной оценки результатов. Это, в свою очередь, не позволяет сопоставлять и анализировать данные с помощью статистических методов, и, в конечном счете, оценивать АНА в качестве биомаркера.

Поскольку определение АНА с помощью НИФ является наиболее информативным, для

Keywords

Rheumatoid arthritis, antinuclear antibody, indirect immunofluorescence, systemic manifestations.

минимизации недостатков метода может быть полезным внедрение автоматизированных диагностических систем. Успешным примером внедрения полностью автоматизированного подхода в рутинное использование метода НИФ является диагностическая платформа AKLIDES [4]. При сопоставлении автоматизированной и мануальной оценки при определении АНА, антинейтрофильных цитоплазматических антител (АНЦА) и антител к двухспиральной ДНК (анти-дсДНК) данная система продемонстрировала высокую степень конкордантности результатов (98,9%, 91,0%, 89,1% соответственно) [4].

Если клиническое значение АНА в диагностике СЗСТ четко определено, то при других аутоиммунных заболеваниях интерпретировать положительные результаты на АНА достаточно сложно, так как в этих случаях их клиническая значимость остается неизученной. До сих пор неясно, какое значение имеют АНА у бессимптомных пациентов, учитывая, что они могут обнаруживаться у 13,8% здоровых индивидуумов [5], особенно у пожилых людей, а также у пациентов с другими хроническими воспалительными или инфекционными заболеваниями. Отмечено, что лица с высокими титрами АНА имеют повышенный риск развития аутоиммунных заболеваний [5]. Установлено, что наличие АНА может предшествовать клиническим проявлениям системного склероза (СС) [6] и СКВ [7].

По данным проведенных исследований АНА обнаруживаются у 20% пациентов с РА [5, 8], в более ранних работах были предприняты попытки выделить пациентов с положительными АНА и серонегативных по РФ в отдельную иммунологическую группу [9]. Однако, учитывая использование разных методов определения, точные сведения о частоте встречаемости АНА при РА отсутствуют. Помимо РА АНА выявляются у пациентов с псориатическим артритом [10], ювенильным идиопатическим артритом [11], анкилозирующим спондилитом [12].

Целью данного исследования является стандартизированная оценка частоты встречаемости и типов свечения АНА при РА, а также выявление взаимосвязей между наличием антител и клиническими проявлениями заболевания.

Материалы и методы

В исследование было включено 105 пациентов с РА, среди них мужчин было 18 (17,14%), женщин - 87 (82,86%). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании. Диагноз РА устанавливался на основании критериев EULAR/ACR 2010. Средний возраст пациентов составил $52,50 \pm 14,01$ лет, средний возраст женщин - $52,47 \pm 13,73$ лет, мужчин - $52,69 \pm 14,23$ лет. Достоверных различий по возрасту между пациентами мужского и женского пола не установлено ($p=0,94$).

Медиана возраста начала заболевания (первых симптомов) у обследованных лиц составила 46,00 лет (95%ДИ: 41,724 - 49,213), у мужчин - 46,00 лет (95%ДИ 41,724 - 49,213), у женщин - 46,00 лет (95%ДИ: 41,00 - 49,18). Различия по полу статистически недостоверны ($p=0,93$).

Длительность болезни у обследованных пациентов составила 48,00 месяцев (95%ДИ: 36,00 - 69,05), у мужчин 48,00 (95%ДИ: 20,68 - 78,65), у женщин 55,00 (95%ДИ: 36,00 - 72,00). Различия по полу статистически недостоверны ($p=0,26$).

Контрольную группу составили 33 здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемыми пациентами.

Уровни антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), антител к Sa-антигену (анти-Sa) оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА) согласно инструкциям производителя тест-систем фирмы Euroimmun (Германия).

Уровни антител к гетерогенному нуклеарному протеину К (гнпК) исследовали методом ИФА согласно инструкциям производителя тест-систем фирмы Медипан (Германия). Уровни ревматоидного фактора (РФ) оценивали методом кинетической нефелометрии на автоматическом анализаторе Beckman Coulter (USA). Наличие антинуклеарных антител определяли методом НИФ на автоматизированной системе AKLIDES с использованием соответствующих реагентов фирмы Medipan (Германия) и на конфокальном микроскопе Leica TCS SPE в титре сыворотки 1/80. При положительном результате на АНА проводилось определение специфических аутоантител на платформе AKLIDES Cytobead с использованием следующих антигенов SS-A 52, SS-A 60, SS-B, ds-DNA, CENP-B, Sm, RNP/Sm.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Statistica 7.0 (StatSoft, США) и Medcalc 12.5.0.0 (США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа.

Результаты и обсуждение

При автоматизированном определении АНА на анализаторе AKLIDES проведена стандартизованная количественная оценка интенсивности флуоресценции, определен тип свечения образцов. Результаты определения АНА были автоматически архивированы в памяти анализатора и использованы для дальнейшего анализа.

Положительный ядерный тип АНА определен у 38 пациентов (36,2%), отрицательный у 67 пациентов (63,8%). В группе сравнения не выявлено АНА-положительных результатов (0,00%). Частота встречаемости АНА при РА была значимо выше по сравнению со здоровыми лицами ($p=0,0001$). Ядерные паттерны свечения АНА при РА представлены в таблице 1 и рисунках 1 и 2. Митотический тип свечения установлен у 22 пациентов (22,4%). Цитоплазматическое свечение обнаружено у 5 пациентов (4,8%). Также обнаружены редкие типы свечения: 2 точки в полюсах клетки, в метафазе митоза при отрицательном ядерном типе свечения, а также точки в цитоплазме при отрицательном ядерном типе свечения.

Таким образом, установлена высокая частота встречаемости АНА при РА. Наиболее частым паттерном свечения являлся крапчатый. С одной стороны это подтверждает клиническую значимость АНА как неспецифического маркера аутоиммунного процесса, а с другой – требует пристального изучения диагностических характеристик этого показателя.

Положительные результаты определения специфических аутоантител минимум к 1 ядерному антигену установлены у 39,47% АНА-позитивных пациентов. Распределение частот встречаемости специфических аутоантител в группе АНА-позитивных пациентов представлены в таблице 2.

Наиболее часто при РА встречались антитела к SS-A60- антигену (31,57% пациентов), с меньшей частотой встречаемости обнаруживались и другие аутоантитела. Полученные данные свидетельствуют о присутствии у большинства пациентов с РА (60,53%) АНА с другой специфичностью по сравнению аутоантителами, обнаруживаемыми при СЗСТ. Соответственно, при исследовании АНА при РА методами ИФА и иммуноблот со специфичными для СЗСТ антигенами могут определяться ложноотрицательные результаты.

Для анализа особенностей клинико-иммунологической картины в зависимости от АНА-статуса, все пациенты были разделены на 2 группы

Таблица 1. Ядерные паттерны свечения АНА при РА

Тип свечения	Частота встречаемости, %	Тип свечения	Частота встречаемости, %
Гомогенный	21,05	Смешанный, всего	7,9
Крапчатый	65,79	Смешанный: крапчатый и точки в ядре	2,63
Центромерный	2,63	Смешанный: крапчатый и нуклеолярный	2,63
Нуклеолярный	0	Смешанный: нуклеолярный и точки в ядре	2,63
Точки в ядре	2,63		

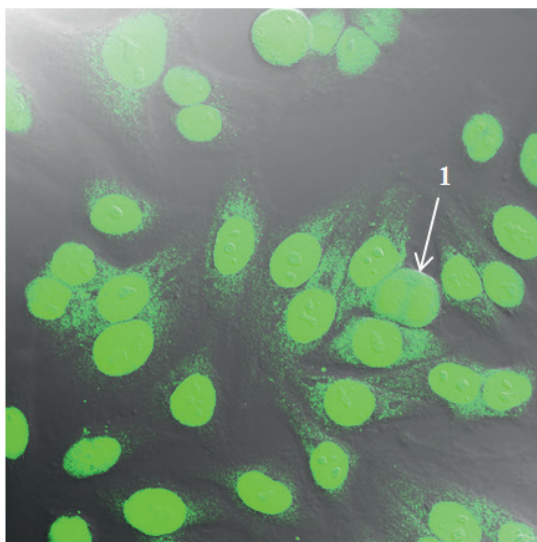


Рис. 1. Гомогенный ядерный тип свечения АНА у пациента с РА (зеленый цвет). 1 – свечение конденсированного хроматина в клетке, находящейся в телофазе митоза.

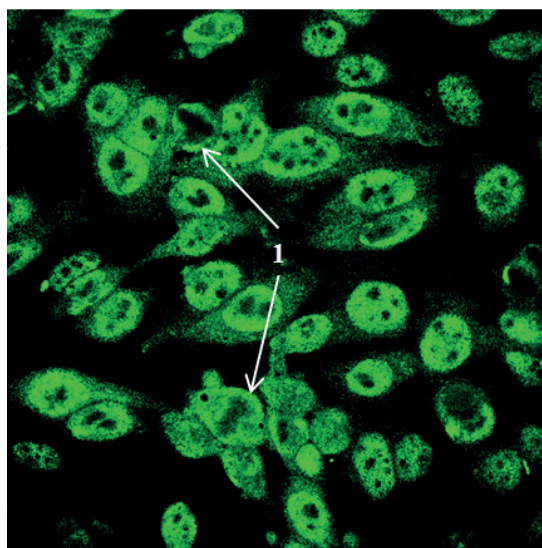


Рис. 2. Крапчатый ядерный тип свечения АНА у пациента с РА (зеленый цвет). 1 – отсутствие свечения конденсированного хроматина в клетках, находящихся в метафазе митоза.

– с позитивным и негативным ядерным свечением. Основные клинические и иммунологические признаки представлены в таблице 3.

Между исследуемыми группами не выявлено значимых различий по клиническим и лабораторным признакам ($p>0,05$). Однако системные проявления втрое чаще наблюдались при АНА-позитивном РА ($p=0,0073$). Это подтверждает иммунопатогенетическую роль АНА при развитии системных проявлений при РА и свидетельствует об общих патогенетических путях у РА и СЗСТ. Требуется дальнейшее детальное изучение взаимосвязей между системными проявлениями РА и АНА-статусом. Отсутствие различий по активности заболевания, уровням СОЭ и СРБ, дозе метотрексата и приему глюкокортикоидов позволяет рассматривать АНА в качестве независимого биомаркера РА. В нашем исследовании также не установлено различий по частоте

встречаемости различных аутоантител (АЦЦП, анти-Sa, анти-гнпК антитела) между АНА-позитивными и АНА-негативными пациентами. Это может свидетельствовать о том, что АНА является независимым иммунологическим маркером при РА, не связанным с наличием антител к цитруллинированным пептидам, наличие и титр которых ассоциируется с носительством «общего эпитопа». В подтверждение этого ранее было установлено, что носительство «общего эпитопа» - HLA-DRB1 эквивалентно ассоциируется как с АНА-позитивным, так и АНА-негативным РА [13]. В то же время при РА обнаружены моноклональные антитела к цитруллинированным пептидам, которые обладают реактивностью к нуклеарным антигенам и демонстрируют крапчатый тип свечения АНА [14]. Появление АНА при РА может быть обусловлено общей генетической природой РА и СЗСТ. Аллель TAP2*0201

Таблица 2. Частота встречаемости специфических АНА при РА

Вид специфического антитела	Частота встречаемости, %	Вид специфического антитела	Частота встречаемости, %
Анти-SS-A 52	23,68	Анти-dsDNA	13,15
Анти-SS-A 60	31,57	Анти-CENP-B	5,26
Анти-SS-B	2,63	Анти-RNP/Sm	2,63
Анти-Sm	0,00		

Таблица 3. Клинико-иммунологическая характеристика пациентов с РА в зависимости от АНА статуса

Показатель	АНА-позитивные пациенты, n=38	АНА-негативные пациенты, n=67	Значимость различий
Возраст, лет*	55,00; 49,81 - 62,73	53,00; 47,00 - 58,00	$p>0,05$
Возраст начала заболевания, лет*	49,00; 36,96 - 56,19	41,00; 37,49 - 48,60	$p>0,05$
DAS28*	5,03; 4,23 - 5,67	4,68; 4,39 - 5,24	$p>0,05$
SDAI*	25,40; 17,38 - 29,03	23,70; 19,59 - 28,70	$p>0,05$
CDAI*	27,07; 19,35 - 31,49	25,39; 20,94 - 30,28	$p>0,05$
СРБ, мг/мл*	13,6; 11,07 - 23,49	13,2; 8,98 - 28,45	$p>0,05$
СОЭ, мм/ч*	27,00; 18,98 - 37,01	28,00; 20,62 - 34,37	$p>0,05$
ЧБС из 28*	8,00; 6,00 - 11,73	7,00; 5,00 - 9,00	$p>0,05$
ЧПС из 28*	6,00; 2,27 - 9,73	6,00; 3,82 - 7,17	$p>0,05$
Системные проявления**	31,57	8,95	$p=0,0073$
Доза метотрексата, мг/нед*	12,5; 10,00-15,00	12,5; 10,00-15,00	$p>0,05$
Прием ГКС**	51,35	50,00	$p>0,05$
РФ-позитивность**	84,84	67,79	$p>0,05$
АЦЦП-позитивность**	81,13	77,77	$p>0,05$
Анти-Sa-позитивность**	83,33	70,49	$p>0,05$
Анти-гнпК позитивность**	28,57	32,14	$p>0,05$

Примечание -* - медиана; 95% доверительный интервал для медианы. -** - % пациентов.
ЧБС – число болезненных суставов, ЧПС – число припухших суставов

идентифицирована для РА и СКВ [15]. Генные варианты TNF-308A в одном и том же хромосомальном регионе увеличивают вероятность РА, СКВ и синдрома Шегрена [16]. Гены STAT4, PDCD1, FCRL3 и RTPN22 ассоциируются и с РА, и с СКВ [17, 18]. Общие генетические основы аутоиммунитета могут привести к появлению клинических и иммунологических признаков РА и СКВ у одного и того же пациента. В последнее время описан соответствующий перекрестный синдром, который получил название «rhus» - от английского «rheumatoid arthritis» и «lupus» [19, 20]. Поэтому наличие АНА при РА требует тщательного дифференциального диагноза с СЗСТ или смешанным заболеванием соединительной ткани на основании клинических и иммунологических показателей.

Целесообразно проведение дальнейших исследований для определения роли АНА в качестве биомаркера при РА. Требуется стандартизированный учет АНА - статуса до назначения лечения, оценка корреляций между клиническими

данными и изменениями АНА при использовании различных лекарственных средств как в рамках клинических испытаний, так и в реальной клинической практике.

Выводы

1. АНА встречаются у трети пациентов с РА, что свидетельствует о напряженности аутоиммунитета при РА и возможной роли АНА в качестве независимого биомаркера РА.
2. Стандартизированная оценка АНА методом НИФ позволяет получать сопоставимые данные без влияния субъективных факторов, что значительно упрощает проведение исследований по изучению АНА в качестве диагностического и прогностического биомаркера при РА.

Исследование выполнено в рамках задания ГПТП «Новые методы оказания медицинской помощи», подпрограммы «Внутренние болезни», № госрегистрации 20164498.

Литература

1. Meroni P.L., Schur P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2010; Vol.69, №8: 1420-1422. DOI 10.1136/ard.2009.127100.
2. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C. et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014; Vol.73, №1: 17-23. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-203863.
3. Лапин С. В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика ревматических заболеваний, пособие для врачей. СПб., «Человек», 2006: 45-58.
4. Melegari A, Bonaguri C., Russo A. et al. A comparative study on the reliability of an automated system for the evaluation of cell-based indirect immunofluorescence. *Autoimmunity Reviews.* 2012; Vol. 11, №10: 713-716. DOI: 10.1016/j.autrev.2011.12.010.
5. Satoh M., Chan E.K., Ho L.A. Prevalence and sociodemographic correlates of antinuclear antibodies in the United States // *Arthritis Rheum.* 2012; Vol.64, №7: 2319-2327. DOI: 10.1002/art.34380.
6. Kuwana, M.J. Circulating anti-nuclear antibodies in systemic sclerosis: utility in diagnosis and disease subsetting. *Nippon Med Sch.* 2017; Vol., 84, №2: 56-63 DOI: 10.1272/jnms.84.56.
7. Arbuckle, M.R., McClain, M.T., Rubertone, M.V. et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003; Vol.349, №16: 1526-1533. DOI: 10.1056/NEJMoa021933.
8. Buch M. H., Johnsen A., Schiff M. Can switching to abatacept therapy in patients with rheumatoid arthritis on background methotrexate reverse TNF-inhibitor-induced antinuclear autoantibody/double-stranded DNA autoantibody conversion? An analysis of the AMPLE and ATTEST trials. *Clin Exp Rheumatol.* 2018; Aug 21. [Epub ahead of print].
9. Saudan-Kister A., Gabay C., Tiercy J.M. Adult seronegative arthritis with antinuclear antibodies: a distinct group of patients with a different immunogenetic pattern from seropositive rheumatoid arthritis and a good outcome. *Rev Rhum Engl Ed.* 1996; Vol. 63, №5: 313-20.
10. Silvy F., Bertin D., Bardin N. et al. Antinuclear Antibodies in Patients with Psoriatic Arthritis Treated or Not with Biologics. *PLoS One.* 2015; Vol.10, №7, e0134218. DOI: 10.1371/journal.pone.0134218.
11. Ma X., Xin L., Sun J.. Antinuclear antibody-positive cohort constitutes homogeneous entity in juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol.* 2016; Vol.26, №1: 75-79. DOI: 10.3109/14397595.2015.1056993.
12. Arends S., R.Lebbink, A. Spoorenberg et al. The formation of autoantibodies and antibodies to TNF-alpha blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010; Vol. 28: 661-668.
13. Ohmura K., Terao C., Maruya E. et al. Anti-citrullinated peptide antibody-negative RA is genetically distinct subset: a definitive study using only bone erosive ACPA-negative rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2010; Vol.49, №12: 2298-2304. DOI: 10.1093/rheumatology/keq273.
14. Lloyd K. A., Wigerblad G., Sahlström P. Differential ACPA binding to nuclear antigens reveals a PAD-independent pathway and a distinct subset of acetylation crossreactive autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* 2019; Vol. 9, article 3033. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03033.
15. Orozco G., Eyre S., Hinks A. et al. Study of the common genetic background for rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann. of the Rheum. Dis.* 2011; Vol. 70, №3: 463-468. DOI: 10.1136/ard.2010.137174.
16. Anaya J. M., Gomez L., Castiblanco J. Is there a common genetic basis for autoimmune diseases? *Clinical and Developmental Immunology.* 2006; Vol. 13, №2: 185-195. DOI: 10.1080/17402520600876762.
17. Remmers E. F., Plenge R. M., Lee A. T. et al. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus.

N. Engl. J. of Medicine. 2007; Vol.357; №10: 977–986. DOI: 10.1056/NEJMoa073003.

18. Chistiakov D. A., Chistiakov A. P. Is FCRL3 a new general autoimmunity gene? Human Immunology. 2007; Vol. 68: 375–383. DOI: 10.1016/j.humimm.2007.01.013.

19. Amezcua-Guerra L. M., Springall R., Marquez-Velasco R. et al. Presence of antibodies against cyclic citrullinated

peptides in patients with ‘rhus’: a cross-sectional study. Arthritis Research and Therapy. 2006; Vol. 8, №5: 144. DOI: 10.1186/ar2036.

20. Amezcua-Guerra L. M. Overlap between systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: is it real or just an illusion. Journal of Rheumatology. 2009; Vol. 36: 4-6. DOI: 10.1186/ar2036.

Сведения об авторах:

Волкова Маргарита Васильевна – к.м.н., докторант кафедры кардиологии и ревматологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск Беларусь; тел. +375 44 777 39 00, e-mail: margovolkova@gmail.com.

Кундер Елена Владимировна – д.м.н., профессор, профессор кафедры кардиологии и ревматологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск Беларусь;

Генералов Игорь Иванович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической микробиологии учреждения образования «Витебский государственный Орден Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Беларусь;

Сенькович Сергей Алексеевич - к.м.н., доцент, доцент кафедры клинической микробиологии учреждения образования «Витебский государственный Орден Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Беларусь;

Роггенбук Дирк – профессор факультета прикладных наук Брандебургского технического университета, Зенфтенберг, Германия.

Поступила 15.03.2019 г.