

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201900123** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2020.09.30**

(51) Int. Cl. **G01N 33/53 (2006.01)**  
**G01N 33/49 (2006.01)**  
**C12R 1/72 (2006.01)**

(22) Дата подачи заявки  
**2019.03.12**

**(54) СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ УРОВНЯ  
ИММУНОСУПРЕССИИ ПРИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ CANDIDA-  
ПСЕВДОМОНАДНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

(96) **2019000013 (RU) 2019.03.12**

(71) Заявитель:  
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ОБРАЗОВАНИЯ "КУРСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"  
МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)**

(72) Изобретатель:  
**Шаталова Елена Васильевна,  
Парахина Ольга Владимировна (RU)**

(74) Представитель:  
**Куприянова З.Н. (RU)**

(57) Предлагаемый способ относится к медицине, а именно к инфекционной иммунологии, микробиологии и эпидемиологии, и может быть использован в диагностике с целью предупреждения возникновения госпитальных инфекций смешанной Candida-бактериальной природы и повышения антиинфекционной резистентности организма у иммунокомпрометированных больных. Технический результат - разработать способ, позволяющий дифференцировать уровень иммуносупрессии при гнойно-воспалительных процессах Candida-бактериальной этиологии, что является основой и доминирующим фактором, тяжесть которого зависит от принадлежности к роду и виду бактерий-ассоциантов при таких инфекциях. Технический результат достигается тем, что в лейкоцитах периферической крови определяют интегральную цитохимическую активность, для чего рассчитывают содержание катионных белков, а в сыворотке крови - интегральный показатель эффекта подавляющего действия на образование антител естественного ингибирующего фактора с последующим определением

диагностического коэффициента по формуле:  $ДК = \frac{ИИ\ РИА}{СГК\ КБ}$ , выраженный в условных единицах, где ДК - диагностический коэффициент; ИИ РИА - индекс ингибирования в реакции ингибирования агглютинации; СГК КБ - средний гистохимический показатель катионных белков, и при ДК=4,0-5,0 на 3 сутки исследования прогнозируют благоприятный тип течения иммуносупрессии; при ДК от 5,0-9,0 - развитие гнойно-воспалительного процесса смешанной этиологии средней тяжести, вызванного грибами рода Candida+кишечная палочка и Candida+стафилакокк соответственно, и при ДК от 29,0 и выше прогнозируют затяжной и тяжелый процесс иммуносупрессии на фоне развития осложнений Candida-псевдомонадной этиологии.

**A1**

**201900123**

**201900123**

**A1**

Способ дифференциальной диагностики уровня иммуносупрессии при гнойно-септическом процессе *Candida* – псевдомонадной этиологии

Предлагаемый способ относится к медицине, а именно к инфекционной иммунологии, микробиологии и эпидемиологии, и может быть использован в диагностике с целью предупреждения возникновения госпитальных инфекций (ГИ) смешанной Кандида-бактериальной природы и повышения антиинфекционной резистентности организма у иммунокомпрометированных больных.

ГИ продолжают сохранять актуальность для здравоохранения всего мира в силу широкого распространения, большого социально-экономического и медицинского ущерба и отсутствия систематизированных данных.

Особое положение среди ГИ занимают смешанные (микст, полимикробные) гнойно-воспалительные процессы, причиной возникновения которых являются условно-патогенные микроорганизмы (УПМ). Известно, что УМП отличаются по своим свойствам от облигатно-патогенных микроорганизмов, и чаще всего бывают причиной возникновения гнойно-воспалительных процессов у иммунокомпрометированных больных. Организм таких больных является хорошим биотопом для активизации, причём одномоментной, своего относительно невысокого патогенного потенциала различных УПМ. Чаще всего такие процессы, что достаточно изучено в этиологическом плане, вызывают штаммы стафилококков, псевдомонад, энтеробактерий и др. в виде монокультур или ассоциации, состоящие из различных видов последних.

Однако, на сегодняшний день, особое беспокойство у врачей разных специальностей вызывают смешанные инфекции, возбудителями которых являются различные виды грибов рода Кандида и бактерий. С учётом того, что грибы и бактерии, как известно, являются представителями разных доменов (домен «Eukaria», царство Fungi и домен «Bacteria» - прокариоты соответственно), гнойно-воспалительные процессы мико-бактериальной природы

обуславливают трудности в диагностике и профилактике последних и являются серьёзной проблемой для здравоохранения всего мира.

Проблема Кандида-бактериальных инфекций практически не изучена ни с одной из позиций, характеризующих ГИ: ни с микробиологической, ни с иммунологической, ни с эпидемиологической позиций. В связи с этим, проблема Кандида-бактериальных микст-инфекций требует комплексного исследования и, в первую очередь, - решение проблемы **диагностики** таких инфекций для выявления особенностей течения, профилактики, правильного лечения иммунокомпрометированных больных и, соответственно, для разработки параметров контроля и эпиднадзора последних.

В условиях Кандида-бактериальной инфекции возникает парадоксальная для иммунной системы ситуация, которая требует одновременного включения двух оппозитных форм иммунного ответа: антибактериального и противогрибкового. Следовательно, торможение обеих форм иммунного ответа при Кандида-бактериальной инфекции приводит к угнетению всей системы иммунитета, что приводит в конечном итоге к летальному исходу.

В то же время, несмотря на особое беспокойство врачей разных специальностей, высокую актуальность и социальную значимость данной проблемы, авторы данной заявки в доступной литературе не обнаружили каких-либо способов диагностики, профилактики или оценки уровня иммунной системы именно при Кандида-бактериальной инфекции, поэтому прототипы предлагаемого изобретения выбрать не представляется возможным.

В связи с этим, **техническим результатом** является разработать способ, позволяющий дифференцировать уровень иммуносупрессии при гнойно-воспалительных процессах Кандида-бактериальной этиологии, что является основой и доминирующим фактором в течении и исходе таких инфекций.

Технический результат достигается тем, что **впервые** авторами предложено определять диагностический коэффициент исходя из полученных показателей крови по цитохимической активности и эффекту естественного ингибирующего фактора сыворотки крови по формуле:

$$ДК = \frac{ИИ\ РИА}{СГК\ КБ};$$

где — ДК — диагностический коэффициент, выраженный в условных единицах;

ИИ РИА — индекс ингибирования в реакции ингибирования агглютинации;

СГК КБ — средний гистохимический показатель катионных белков.

Одновременное определение СГК КБ и ЕИФ по ИИ РИА в сыворотке крови с последующим определением соотношения между ними позволяет значительно повысить эффективность способа определения степени иммуносупрессии при гнойно-септическом процессе Кандида-псевдомонадной этиологии.

Полученные нами данные позволяют констатировать факт, что предложенный нами показатель ДК имеет большее диагностическое и более точное значение, чем каждый из этих показателей в отдельности. Кроме того, ДК позволяет легко и быстро определить степень иммуносупрессии при данной патологии.

**Способ осуществляется следующим образом.** Цитохимическую активность определяли по содержанию катионных белков в мазках крови по методике М. Г. Шубич, 1974г. Высушенные свежеприготовленные мазки фиксируют 60 сек. 5%-ным раствором сульфосалициловой кислоты, промывают дистиллированной водой, высушивают, окрашивают 2 мин 0,1%-ным раствором бромфенолового синего в 0,05 М боратном буфере (рН 8,2), промывают в трех сменах этого же буфера по 2 мин в каждой смене. Мазки тщательно промывают водой, высушивают, производят докраску ядер 1% р-ром сафранина 60 сек. и микроскопируют под иммерсией. Активность катионных белков выражают в условных единицах (у.е.) на основании вычисления среднего гистохимического коэффициента (СГК) по формуле Астальди Верга:

$$СГК = \frac{3А + 2Б + 1В + 0Г}{100}$$

где цифры 3, 2, 1, 0 – степень интенсивности окраски (А – гранулы занимают всю цитоплазму клетки, Б – гранулы занимают  $\frac{3}{4}$  части цитоплазмы,

В – единичные гранулы в цитоплазме, 0 – отсутствие гранул).

ЕИФ активности иммуноглобулинов (Ig) определяли с помощью реакции ингибирования агглютинации (РИА) с вычислением индекса ингибирования (ИИ). РИА считали положительной, если ИИ был равен 1,2 и более (Н.В. Журавлёва, 1985г).

С целью **повышения эффективности технического результата**, мы предлагаем одновременное определение SGK KB и ЕИФ по ИИ РИА в сыворотке крови с **последующим определением соотношения между ними**. Это позволит значительно повысить эффективность способа определения степени иммуносупрессии при гнойно-септическом процессе Кандида-бактериальной этиологии.

С целью повышения эффективности предлагаемого способа, упрощения и повышения точности диагностики степени иммуносупрессии Кандида-бактериальной этиологии, мы предлагаем определять диагностический коэффициент по формуле:

$$ДК = \frac{ИИ\ РИА}{SGK\ KB};$$

где – ДК – диагностический коэффициент, выраженный в условных единицах (у.е.);

ИИ РИА – индекс ингибирования в реакции ингибирования агглютинации;

SGK KB – средний гистохимический показатель катионных белков.

Иммуносупрессию организма создавали путём выбора модели ожоговой травмы, так как известно, что в патогенезе обширных термических повреждений большую роль играют механизмы дестабилизации иммунного статуса с развитием иммунодефицита, влекущего за собой возникновение комплекса патологических изменений практически во всех внутренних органах.

Ожог III-V степени площадью около 30% поверхности тела животного получали под лёгким эфирным наркозом на депилированном участке кожи спины животного с помощью устройства, поддерживающего температуру обжигающей поверхности на уровне 100 ° С при экспозиции 8 сек. (В.В.Минухин, 1985г).

Эксперименты выполнены на крысах Вистар. Требования Международного Комитета, изложенные в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей (г. Страсбург, Франция, 1986) в работе полностью соблюдены.

Для создания модели микст-инфекции, ожоговую поверхность орошали смесью живых 2 млрд. культур 1:1 через сутки после воспроизведения ожога. В работе использовались штаммы микроорганизмов, выделенные от больных.

Наблюдения за животными проводили в течение 28 суток, ежедневно учитывая количество павших животных. Кровь для исследования брали на 3, 7, 14 сутки с момента инфицирования ожоговой травмы.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Office XP» с применением критерия Стьюдента.

#### **Пример конкретного выполнения.**

Экспериментальные животные были разделены на группы (по 25 животных в каждой):

1. Интактные (контрольная группа);
2. Животные с «чистым» ожогом;
3. Животные с ожоговой травмой, инфицированные *Candida albicans* + *Escherichia coli*;
4. Животные с ожоговой травмой, инфицированные *Candida albicans* + *Staphylococcus aureus*.
5. Животные с ожоговой травмой, инфицированные *C. albicans* + *Pseudomonas aeruginosa*.

Полученные нами данные согласуются с данными литературы о развитии иммунодефицита при ожоговой травме (табл.1). Активность кислородне-зависимых бактерицидных систем нейтрофилов периферической крови таких животных (КБ-тест) была достоверно снижена уже на 3 сутки исследования с выраженной активностью ЕИФ ( $P < 0,05$ ) относительно интактных животных.

Однако, самые низкие значения перечисленных показателей наблюдались у животных с гнойно-воспалительным процессом Кандида-бактериальной этиологии на фоне ожоговой травмы (табл.2). На присоединившуюся Кандида-бактериальную инфекцию организм обожженных животных по-разному реагировал относительно формирования иммуносупрессии.

Нами **впервые** установлено, что уровень иммуносупрессии организма таких животных и их выживаемость при Кандида-бактериальной инфекции в условиях иммуносупрессии находятся в прямой зависимости от принадлежности бактерий-ассоциантов к роду и виду.

Таблица 1

Показатели КБ-теста и ИИ РИА у животных контрольных групп

| Изучаемые<br>показатели                            | Г р у п п ы   ж и в о т н ы х                               |   |    |                  |                   |                  |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---|----|------------------|-------------------|------------------|
|                                                    | Интактные                                                   |   |    | Ожоговая травма  |                   |                  |
|                                                    | Показатели в разные сроки исследования (сутки) M ± m (n=25) |   |    |                  |                   |                  |
|                                                    | 3                                                           | 7 | 14 | 3                | 7                 | 14               |
| КБ – тест, средний гистохимический показатель(СГК) | 1,0 ± 0,2                                                   |   |    | 0,3<br>±<br>0,01 | 0,4*<br>±<br>0,02 | 0,8<br>±<br>0,03 |
| ИИ РИА (естественный ингибирующий фактор – ЕИФ)    | 1,0 ± 0,0                                                   |   |    | 1,4<br>±<br>0,1  | 1,5*<br>±<br>0,4  | 1,3<br>±<br>0,2  |
| Выживаемость, %                                    | 100,0                                                       |   |    |                  |                   | 85,0             |
| ДК (диагностический коэффициент)                   | 1,0                                                         |   |    | 4,6*             | 3,7               | 1,6              |

**Примечание:** Достоверность различий с данными контрольной группы: интактные -  $P < 0,05$ .

Полученные нами результаты исследований достоверно показывают, что по возрастанию степени тяжести вызываемой иммуносупрессии у животных в условиях вторичного иммунодефицита и смешанной инфекции Кандида-бактериальной этиологии изучаемые ассоциации возбудителей располагаются в следующей последовательности: грибы + кишечные палочки → грибы + стафилококки → грибы + псевдомонады (табл.2).

Таблица 2

**Показатели КБ-теста и ИИ РИА у животных с Кандида-бактериальной инфекцией на фоне ожоговой травмы**

| Изучаемые показатели                                      | Г р у п п ы ж и в о т н ы х                               |                   |                  |                           |                   |                  |                               |                  |                   |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------|------------------|---------------------------|-------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------|
|                                                           | C. albicans+<br>E.coli                                    |                   |                  | C. albicans +<br>S.aureus |                   |                  | C. albicans +<br>P.aeruginosa |                  |                   |
|                                                           | Показатели в разные сроки исследования (сутки) M±m (n=25) |                   |                  |                           |                   |                  |                               |                  |                   |
|                                                           | 3                                                         | 7                 | 14               | 3                         | 7                 | 14               | 3                             | 7                | 14                |
| КБ-тест, средний гистохими-<br>ческий показатель<br>(СГК) | 0,3<br>±<br>0,03                                          | 0,3*<br>±<br>0,02 | 0,6<br>±<br>0,01 | 0,2<br>±<br>0,02          | 0,2*<br>±<br>0,03 | 0,4<br>±<br>0,01 | 0,1<br>±<br>0,01              | 0,1<br>±<br>0,02 | 0,1*<br>±<br>0,06 |
| ИИ РИА (естественный инги-<br>бирующий фактор — ЕИФ)      | 1,7<br>±<br>0,3                                           | 1,6*<br>±<br>0,6  | 1,4<br>±<br>0,5  | 1,8<br>±<br>0,5           | 1,9*<br>±<br>0,6  | 1,6<br>±<br>0,5  | 2,9<br>±<br>0,6               | 3,9<br>±<br>1,2  | 3,7*<br>±<br>1,1  |
| Выживаемость, %                                           |                                                           |                   | 70,0             |                           |                   | 60,0             |                               |                  | 35,0              |
| ДК –<br>диагностический коэффи-<br>циент                  | 5,7*                                                      | 5,3               | 2,3              | 9,0*                      | 9,5               | 4,0              | 29,0*                         | 39,0             | 37,0              |

**Примечание:** Достоверность различий с данными контрольной группы: интактные -  $P < 0,01$ .

Изучение бактерицидной активности фагоцитов по уровню КБ и ЕИФ сыворотки крови у животных показало, что активность ЕИФ в организме больных животных находится в обратной зависимости относительно активности КБ. Выраженная активность ЕИФ в сыворотке крови животных с Кан-



дида-бактериальной инфекцией на фоне ожоговой травмы (от 1,7 до 1,9) сопровождалась достоверным ( $P < 0,01$ ) снижением уровня КБ в лизосомах фагоцитов (от 0,6 до 0,4) с увеличением ДК уже на 3 сутки исследования от 5,7 до 9,0 у.е. – при *C.albicans* + *E.coli* и *C.albicans* + *S.aureus* соответственно (табл. 2). Однако, стойкая иммуносупрессия организма развивалась в группе животных с Кандида-псевдомонадной инфекцией на фоне ожоговой травмы. Выраженная активность ЕИФ сыворотки крови (2,9 – 3,9 на 3 и 7 сутки исследования) сопровождалась почти полным отсутствием КБ нейтрофилов периферической крови таких животных на всех сроках исследования с увеличением уже на 3 сутки ДК от 29,0 у.е. и выше (табл. 2).

Корреляционный анализ выявленной нами статистически достоверной сильной прямой связи между степенью тяжести гнойно – воспалительного процесса Кандида-бактериальной этиологии и выживаемостью животных ( $r = 0,891 \pm 0,092$  при  $P < 0,01$ ), позволяет отнести ЕИФ и КБ – тест к маркерам дифференциальной диагностики степени иммуносупрессии в условиях Кандида-псевдомонадной инфекции, а их соотношение, т.е. ДК, позволяет значительно повысить эффективность предлагаемого способа.

Таким образом, нами установлено, что система «Степень иммуносупрессии макроорганизма –принадлежность бактерий к роду и виду в ассоциации с грибами рода Кандида» по изучаемым показателям имеет диагностическое значение и их ДК может быть использован для прогнозирования возникновения госпитальных инфекций, позволит вовремя проводить адекватные профилактические и лечебные мероприятия и осуществлять анализ эпидемиологической обстановки, что в целом, сократит сроки пребывания больных в стационаре.

## Формула изобретения

Способ дифференциальной диагностики уровня иммуносупрессии при гнойно-септическом процессе Candida-псевдомонадной этиологии, включающий определение в лейкоцитах периферической крови интегральной цитохимической активности с вычислением среднего гистохимического коэффициента по содержанию катионных белков, а в сыворотке крови - интегральный показатель эффекта подавляющего действия на образование антител естественного ингибирующего фактора в реакции агглютинации с вычислением индекса ингибирования с последующим определением диагностического коэффициента по формуле:

$$ДК = \frac{ИИ\ РИА}{СГК\ КБ}$$

где – ДК – диагностический коэффициент, выраженный в условных единицах;

ИИ РИА – индекс ингибирования в реакции ингибирования агглютинации;

СГК КБ – средний гистохимический показатель катионных белков,

и при ДК=4,0 - 5,0 на 3 сутки исследования определяют благоприятный тип течения иммуносупрессии; при ДК от 5,0 - 9,0 – развитие гнойно-воспалительного процесса смешанной этиологии средней тяжести, вызванного грибами рода Кандида + кишечная палочка и грибами рода Кандида+ стафилококк соответственно; и при ДК от 29,0 и выше прогнозируют затяжной и тяжелый процесс иммуносупрессии на фоне развития осложнений Кандида- псевдомонадной этиологии.

# ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201900123

## А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

C12R 1/72 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

## Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

G01N 33/53, G01N 33/49, C12R 1/72, A61K 31/00

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
ЕАПАТИС, Espacenet, NCBI

## В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

| Категория* | Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Относится к пункту № |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| A          | RU 2304969 C2 (ЛЕВЫХ ТАТЬЯНА СЕРГЕЕВНА, ШАТАЛОВА ЕЛЕНА ВАСИЛЬЕВНА, ЖИЛЯЕВА ЛЮДМИЛА ВЛАДИМИРОВНА), 10.01.2007                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1                    |
| A          | Левых Т.С. «Иммунокоррекция при экспериментальной кандида-бактериальной инфекции в условиях иммуносупрессии, вызванной ожоговой травмой». Москва, 2006.<br><a href="https://www.dissercat.com/content/immunokorreksiya-pri-eksperimentalnoi-kandida-bakterialnoi-infeksii-v-usloviyakh-immunosup">https://www.dissercat.com/content/immunokorreksiya-pri-eksperimentalnoi-kandida-bakterialnoi-infeksii-v-usloviyakh-immunosup</a>                                                                                                                                                                     | 1                    |
| A          | Шаталова Е.В. и др. «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММУНОТЕРАПИИ НА МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММОВ - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ СМЕШАННОЙ CANDIDA-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ». Проблемы медицинской микологии, 2016, Т.18, №3.<br><a href="https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimentalnoe-obosnovanie-vliyaniya-immunoterapii-na-mekhanizm-formirovaniya-gospitalnyh-shtammov-vozbuditeley-gnoyno">https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimentalnoe-obosnovanie-vliyaniya-immunoterapii-na-mekhanizm-formirovaniya-gospitalnyh-shtammov-vozbuditeley-gnoyno</a> | 1                    |

☐ последующие документы указаны в продолжении

\* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«B» - документ, являющийся патентом-аналогом, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 03/03/2020

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника Управления экспертизы

Начальник отдела химии и медицины

Начальник Управления экспертизы

Евразийского патентного ведомства

Евразийской патентной организации

Дата 08 Апр 2020

Дата 08 Апр 2020

Дата 08 Апр 2020

Дата 08 Апр 2020

Дата 08 Апр 2020

В электронном виде

А.В. Чебан