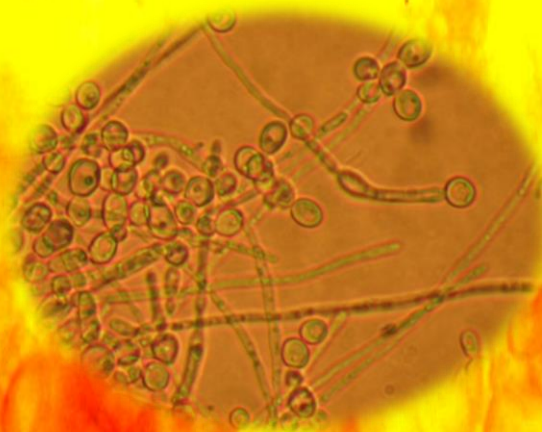
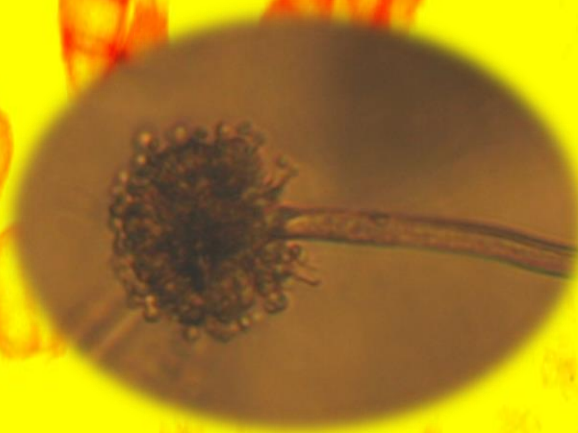
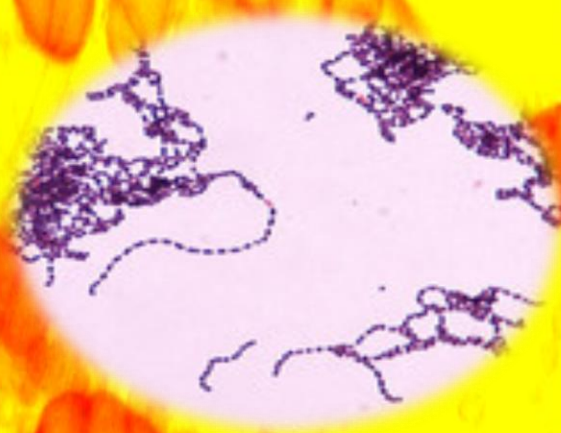


Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

**Материалы VI Всероссийской заочной
научно-практической конференции с
международным участием
«Микробиология в современной медицине»
(Казань, 27 июня 2018г.)**



Материалы VI Всероссийской
заочной научно-практической
конференции с международным
участием

**«Микробиология в
современной медицине»**

Казань, 27 июня 2018 г.

Организаторы Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием
«Микробиология в современной медицине»

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Федеральное бюджетное учреждение науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ

Г.Ш. Исаева - д.м.н., и.о. заведующего кафедрой микробиологии Казанского государственного медицинского университета, директор ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора

А.Н. Савинова - к.б.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

Л.Т. Баязитова - к.м.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета, заведующий лабораторией микробиологии, ведущий научный сотрудник ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора

С.А. Лисовская - к.б.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета, ведущий научный сотрудник лаборатории микологии ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора

П.Е. Гуляев - ассистент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета.

Содержание

<i>Агафонова Е. В., Решетникова И.Д., Гатина Г.Ч., Троценко О.А., Исаева Г.Ш.</i>	7
ЛЯМБЛИОЗНАЯ ИНВАЗИЯ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ – МОНИТОРИНГ У ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ	
<i>Агафонова Е. В., Решетникова И.Д., Гатина Г.Ч., Троценко О.А., Исаева Г.Ш.</i>	9
BLASTOCYSTISHOMINIS - НОВЫЙ ПАТОГЕН ПРИ АТОПИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	
<i>Арзамасцева А.А., Волкова А.С., Григорьева Т.В., Сакулин К.А., Карпухин О.Ю., Яруллина Д.Р.</i>	11
МИКРОБИОТА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ДЕКОМПЕНСИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОГО КОЛОСТАЗА	
<i>Бабушкина И.В., Бондаренко А.С., Шпиняк С.П., Ульянов В.Ю.</i>	14
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО СУСТАВА	
<i>Баязитова Л.Т., Михайлова О.С., Салиева Д.Р., Тюпкина О.Ф., Тюрин Ю.А.</i>	16
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ СТАФИЛОКОККОВ К АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ	
<i>Валиева Р.И., Баязитова Л.Т., Исаева Г.Ш., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А.</i>	17
МИКРОБИОТА УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К БАКТЕРИОФАГАМ	
<i>Волостнова Е.С., Милова И. В., Бадамишина Г.Г., Зиатдинов В.Б., Исаева Г.Ш., Ставропольская Л.В., Галиуллина Ч.Ф.</i>	18
МОНИТОРИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ ОТКРЫТЫХ ВОДОЕМОВ НА ВИБРИОФЛОРУ	
<i>Гилязева А.Г., Пуховская В.С., Марданова А.М.</i>	19
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА РАЗНЫХ ВИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА <i>KLEBSIELLA</i>	
<i>Дуванова О.В., Шипко Е.С., Мишанькин Б.Н., Писанов Р.В., Галичева А.Л.</i>	21
МИНИМАЛЬНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ У ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ O1 И O139 СЕРОГРУПП СПОСОБНОСТИ ГИДРОЛИЗОВАТЬ МИНЕРАЛЬНЫЕ УДОБРЕНИЯ	
<i>Ежова М.И., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Архангельская И.В.</i>	23
ОСОБЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ МНОГОЛЕТНЕГО МОНИТОРИНГА НА НАЛИЧИЕ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМАХ И СТОКАХ Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ	
<i>Заринова А.З., Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Мамедова С.Н., Целищева М.В.</i>	25
ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОТЫ КОНЪЮНКТИВАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ У ДЕТЕЙ С БЛЕФАРОКОНЪЮНКТИВИТАМИ	
<i>Кабанов Д.А., Абасева И.С., Марданова А.М.</i>	26
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ ИЗОЛЯТОВ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	
<i>Калашникова В.А.</i>	29
АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ ПРИ ПНЕВМОНИЯХ У ОБЕЗЬЯН, СОДЕРЖАЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ	
<i>Лисовская С.А., Халдеева Е.В.</i>	30
АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГРИБОВ <i>CANDIDA ALBICANS</i> В МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЯХ	
<i>Меньшикова Е.А., Курбатова Е.М., Архангельская И.В., Левченко Д.А., Сагакянц М. М., Кругликов В.Д., Титова С.В.</i>	32
ВЛИЯНИЕ СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НА БАКТЕРИОПЛАНКТОН ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ	

Миннуллина Л.Ф., Тошева З.С., Евтюгин В.Г., Марданова А.М.	34
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ЖГУТИКОВАНИЕ УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ <i>MORGANELLA MORGANII</i>	
Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Пасюкова Н.И., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О.	36
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СПОНТАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ МУТАНТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ	
Погожова М. П., Гаевская Н. Е., Водопьянов А. С., Писанов Р. В., Тюрина А. В., Романова Л. В., Кочеткова А. О.	38
ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ	
Растатурина Л.Н.	40
ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В ИЗУЧЕНИИ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ НАУКИ	
Ржанова И.В., Вафин Р.Р., Нгуен Т.Н., Колпаков А.И., Гатауллин И.Г., Тюлькин С.В., Синягина М.Н., Григорьева Т.В., Ильинская О.Н.	41
ФИЛОТИПИРОВАНИЕ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С КОЛОНОКАРЦИНОМОЙ	
Романова Л.В., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В.	42
ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА (RAPD-АНАЛИЗ) ДНК СПОНТАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ВАРИАНТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ	
Савинова А.Н.	45
МОНИТОРИНГ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ КАРБАПЕНЕМАЗЫ	
Савинова А.Н.	46
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i>	
Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д.	47
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЛЕПТОСПИРОЗА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Тюрин Ю.А., Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д.	48
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БОРРЕЛИОЗУ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
Спиридонова Е.И., Шакурова И.И.	49
ИССЛЕДОВАНИЕ ОНКОЛИТИЧЕСКИХ ВИРУСОВ, ИХ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ	
Трошагина Д.С., Сулейманова А.Д.	51
БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНОЙ ФИТАЗЫ <i>AGPPRANTOEAS</i> . 3.5.1, ЭКСПРЕССИРУЕМОЙ ДРОЖЖАМИ <i>YARROWIA LIPOLYTICA</i>	
Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П., Кочеткова А.О.	52
ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ В ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ХОЛЕРЫ	
Фазылов В. Х.	54
СИСТЕМА «ЭНДОТОКСИН-АНТИЭНДОТОКСИНОВАЯ ЗАЩИТА» ПРИ ЧАСТО РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ФОРМЕ РОЖИ	
Хабинова Н.Н., Валеева Л.Р., Кузнецова С.В., Гимадеев З.Г., Шарипова М.Р.	56
КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫЕ БИОПЛЁНКИ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ СИСТЕМ	
Хабинова Н.Н., Николаева А.Е., Шарипова М.Р.	56
ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО И ПОЧВЕННОГО ИЗОЛЯТОВ <i>SERRATIA MARCESCENS</i>	
Хабирова Г.З., Мамедова С.Н., Сангаджиев М.С., Шакиров И.А.	58
МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ И СУСТАВОВ	
Хакимзянова М.В., Карпова И.А., Сафина Р.Ф., Нестерова Ю.Н., Хабирова Г.З.	59
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ЗА 2017г.	

<i>Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И., Агафонова Е.В., Хайдарова Г.Г., Хисматулина И.М., Файзуллина Е.В., Абдрахманов Р.М.</i>	60
МИКОТИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ И ДЕМОДЕКОЗ ПРИ АКНЕ	
<i>Шайдуллина Э.Р., Марданова А.М.</i>	62
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ В Г. КАЗАНИ ЗА 2012 – 2015 ГГ.	
<i>Шайдуллов И.Ф., Новоселова В.А., Александрова А.Ю., Яруллина Д.Р., Ситдикова Г.Ф.</i>	64
ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОСТ-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА	
<i>Шарифуллина Э.С., Хассан Г.О.О, Хабибрахманова В.Р., Карамова Н.С.</i>	66
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА <i>THYMUS CAPITATUS</i> L.	
<i>Mladenova I., Grekova O., Kirova D., Petrov D.</i>	66
CASE-CONTROL STUDY OF GASTRIC CARCINOMA PATIENTS AND A CONTROL GROUP IN BULGARIA	

ЛЯМБЛИОЗНАЯ ИНВАЗИЯ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ – МОНИТОРИНГ У ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Агафонова Е. В.^{1,2}, Решетникова И.Д.^{1,3}, Гатина Г. Ч.¹, Троценко О.А.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}

¹ФБУН “Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии”
Роспотребнадзора г. Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

В последние десятилетия во всем мире наблюдается значительный рост распространенности аллергических заболеваний среди всех возрастных групп населения. Резкий рост заболеваемости атопическими заболеваниями определяется усилением аллергенной нагрузки на человека, что в значительной мере, связывают с факторами окружающей среды - экологическими, биологическими и социальными. Гельминтозы и протозоозы привлекают все большее внимание исследователей как факторы, влияющие на распространенность и течение АЗ. Участие *Giardia (Lamblia) intestinalis* в генезе аллергических заболеваний может быть обусловлено повреждением кишечной стенки, токсико - аллергическим воздействием продуктов обмена паразитов на макроорганизм, в результате чего отмечаются усиление проявлений атопии, гиперпродукция IgE и эозинофилия. Потенцирование антигенами лямблий сенсibilизации, также связывают с проникновением в кровь через кишечный барьер так называемых «необработанных белков» пищи и других метаболитов. Общность эволюционного иммунного ответа при протозоозах и атопических заболеваниях, связанная с повышенной продукцией IgE, выраженной активностью Th2 популяции Т-лимфоцитов, сходство клиники, предполагает особый интерес специалистов к значимости протозоозов при аллергической патологии. Вместе с тем, данные по распространенности лямблиозной инвазии у пациентов с АЗ на сегодняшний день немногочисленны и противоречивы. В связи с вышеизложенным, целью исследования было изучение распространенности лямблиозной инвазии у пациентов с АЗ. Серологические методы диагностики лямблиоза, основанные на выявлении специфических антител к антигенам лямблий, позволяют проводить эпидемиологический мониторинг распространенности лямблиозной инвазии у различных групп пациентов.

Материалы и методы

В данное исследование были включены лица с симптомами аллергических заболеваний, которые были отобраны из общего контингента обследованных, направленных в консультативно-диагностическую поликлинику инфекционно-аллергических заболеваний ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора на диагностику протозоозов и гельминтозов. Критериями включения в исследование были пациенты с симптомами атопических заболеваний (ринорея, заложенность носа, рецидивирующий кашель, приступы удушья, кожные рецидивирующие высыпания в сочетании с кожным зудом), уровень общего IgE (у детей более 75 МЕ/мл, у взрослых более 100 МЕ/мл), положительные результаты кожного тестирования с аллергенами. Критериями исключения- ассоциированные с лямблиозной инвазией проявления неврологического и гастроэнтерологического синдромов, уровень общего IgE в пределах возрастной нормы, отрицательные результаты кожного тестирования. Критериями исключения были ассоциированные с лямблиозной инвазией проявления неврологического и гастроэнтерологического синдромов, уровень общего IgE в пределах возрастной нормы, отрицательные результаты кожного тестирования. методом ИФА с использованием тест систем “Лямблия- антитела-ИФА-Бест”, “Лямблия IgM -ИФА-Бест «Вектор-Бест»” Новосибирск. Тест системы выявляют специфические суммарные антитела (G, A, M) которые представлены по вкладу в оптическую плотность преимущественно классом IgG, а также антитела класса IgM. Для оценки концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови использовали коэффициент позитивности, который показывает, во сколько раз величина оптической плотности исследуемого образца превышает значение расчетной диагностической оптической плотности. Коэффициент

позитивности отражает как степень инфицирования, так и напряженность иммунитета к возбудителю. Исходя из предыдущих исследований устанавливали интервалы для коэффициента позитивности: -низкий (1-2),средний (2-3), высокий (3-6), очень высокий (>6). Всего в анализ были включены 16375 пациентов отобранные за период 10 летнего мониторинга (2007-2017 гг).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований за период с 2007 по 2017 гг. у пациентов с аллергическими заболеваниями было выявлено 32,1 % (17,6-40,2 %) серопозитивных сывороток содержащих суммарные антитела к антигенам лямблий. Регистрируемый нами довольно высокий уровень серопозитивных сывороток, содержащих суммарные антитела, по данным литературы, определяется не только инфицированием патогеном, но и формированием эндогенных структур с антигенными свойствами, их замедленной элиминацией в связи с иммунодепрессией при атопии. Отмечалась определенная динамика распределения показателей повышенных уровней суммарных антител распределенных по годовому фактору. Наибольшее количество серопозитивных сывороток содержащих суммарные антитела было выявлено в 2007 (39,9%), в 2011-2012 (37,5-40,2 %) годы, также, довольно высоким был уровень суммарных антител в 2017 году (35,8%). Периоды с минимально низкими показателями встречаемости повышенных уровней суммарных антител к антигенам лямблий регистрировались в 2010 (20,6%), 2014-2016 (17,6-20,6%) годы. Количество пациентов с повышенным уровнем антител класса Ig M, свидетельствующих об острой инвазии, имело широкий разброс в пределах -2,5-10,5 %, среднее количество составило 7,9 %. Наибольшее количество серопозитивных сывороток, содержащих антитела класса IgM, регистрировалось в 2007 (7,1%), 2011-2012 (10,5-10,7 %), 2017 (8,8%) годы. Периоды с минимально низкими показателями встречаемости повышенных уровней антител класса IgM регистрировались в 2010 (6,5%), 2014-2016 (6,4;5,0;2,0 %) годах. Таким образом, регистрируемые в нашем исследовании периоды с максимально высокими и максимально низкими уровнями выявляемости суммарных антител и антител класса IgM, выявили временные интервалы (в пределах 4-5 лет) с высокими и низкими показателями специфического иммунитета к антигенам лямблий у пациентов с аллергическими заболеваниями. Интересные данные были получены нами при анализе распределения повышенных уровней СА рассчитанных с помощью коэффициента позитивности. В целом, у пациентов с аллергическими заболеваниями, преобладали серопозитивные сыворотки с низкими значениями коэффициента позитивности - 64,5 % (49,2-75,3) для суммарных антител, 52,0 % для антител класса IgM (48-77,8), что отражает как низкий уровень напряженности иммунитета к возбудителю, так и снижение интенсивности инвазий в современных условиях. Серопозитивные сыворотки со средними значениями коэффициента позитивности составили в среднем для суммарных антител 24,1 % (15,1-28,1) для антител класса IgM- 22,3% (11,1-28,5). Высокий и очень высокий уровень коэффициента позитивности к антигенам лямблий составил в среднем для суммарных антител- 10,8 % (3,1-20,0), для антител класса IgM -12,9 % (2,7-23,0). В периоды с максимальными уровнями выявляемости серопозитивных сывороток (2007;2011-12; 2017 гг) количество пациентов с низкими значениями уменьшалось (уровень суммарных антител соответственно до 49,5 % , $p<0,05$; уровень антител класса Ig M до 46,2 %, $p<0,05$), в периоды с минимальными уровнями выявляемости серопозитивных сывороток напротив, количество пациентов с низкими значениями коэффициента позитивности увеличивалось (уровень суммарных антител до 68,6 %, $p<0,05$; уровень антител класса IgM до 70,7 %, $p<0,05$). Средние уровни коэффициента позитивности, как для суммарных антител, так и для антител класса IgM, распределялись равномерно по временному интервалу. В периоды с максимальными уровнями выявляемости серопозитивных сывороток (2007;2011-12; 2017 гг.) количество пациентов с высокими и очень высокими уровнями коэффициента позитивности увеличивалось (уровень суммарных антител- 12,3 %, уровень антител класса IgM до 16,8 %). В периоды с минимальными уровнями выявляемости серопозитивных сывороток напротив, количество пациентов с высокими и очень высокими уровнями коэффициента позитивности уменьшалось (уровень суммарных антител до 6,7, %; уровень антител класса IgM до 6,6 %). Низкие уровни коэффициента позитивности в периоды низкой выявляемости инвазии (2007-; 2011-12; 2017 годы)коррелировали с уровнями серопозитивных сывороток суммарных антител и антител класса IgM во временные периоды высокой заболеваемости (соответственно

2010-2011 годы: $r=0,67$, $p<0,05$ для показателей суммарных антител -69,6 -40,2, $r=0,67$ $p<0,05$, для показателей антител класса IgM -69,6 – 10,5; соответственно 2016-2017 годы: $r=-0,71$, $p<0,05$ для показателей суммарных антител -62,1 – 35,4, $r=-0,64$, $p<0,05$ для показателей антител класса IgM -62,1 – 8,8 $p<0,05$). Таким образом, периоды с низким уровнем протективного иммунитета и более низкой заболеваемостью определяют формирование периодов с более высокими уровнями заболеваемости у пациентов с аллергическими заболеваниями. Наши данные согласуются с данными исследователей, отмечающих низкую иммуногенность возбудителя. Вместе с тем, недостаточность элиминирующих структур, несостоятельность систем иммунитета связанных с регуляторными субпопуляциями Т-лимфоцитов и натуральных киллерных клеток, неполноценный фагоцитоз эндогенных субстанций с антигенными свойствами при лямблиозе приводит к длительной персистенции возбудителя с периодами нарастания и снижения интенсивности инвазии.

Вывод. Инфицирование *Lambliа* в подавляющем большинстве случаев происходит в детском возрасте, при этом по видимо может иметь значение так называемый эффект “возрастных когорт”, когда люди, рожденные в определенный год (возрастная когорта) имеют определенный больший риск инфицирования, отличающийся от него в другом поколении. В соответствии с эффектом «возрастных когорт» можно объяснить наблюдаемые в нашем исследовании определенные этапы снижения и нарастания частоты выявляемости серопозитивных сывороток

BLASTOCYSTISHOMINIS - НОВЫЙ ПАТОГЕН ПРИ АТОПИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Агафонова Е. В.^{1,2}, Решетникова И.Д.^{1,3}, Гатина Г.Ч.¹, Троценко О.А.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}

¹ФБУН “Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии”

Роспотребнадзора г. Казань, Россия

² ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

³ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

Blastocystishominis является одним из паразитов толстого кишечника человека и животных. На сегодняшний день *Blastocystishominis*, по данным зарубежных авторов (Giebri M.G, Hrarbi A.M, 2013 г.) наиболее часто встречающийся (от 20 до 65%), кишечный паразит человека. Заражение бластоцистозом происходит фекально-оральным путем, через воду и продукты питания, а также через предметы обихода. Бластоцисты долгое время относили к условным патогенам, но сейчас такое подразделение ставится под сомнение. Пристальное внимание *Blastocystishominis* привлек к себе в связи с изучением оппортунистических инфекций у больных СПИДОМ. Показано, что патоген меняет микрофлору кишечника, выделяет токсичные метаболиты, в результате увеличивается доля патогенных микроорганизмов других видов, возникают осложнения -дисбиоз и дегидратация. В единичных исследованиях показано, что персистенция *Blastocystishominis* у иммунокомпроментированных пациентов, поддерживает иммуносупрессию через активацию выработки регуляторных цитокинов (Gavelli C., 2013 г) в первую очередь ИЛ-10, TNF, ФНО- α .

Широкое распространение атопии в современных условиях определяет необходимость дальнейшего поиска экзогенных факторов, способствующих росту распространенности и утяжелению клиники аллергических заболеваний. В последние годы появилось достаточно много эпидемиологической и клинической информации о роли простейших и гельминтов при соматической патологии, однако, необходимо констатировать, что распространенность *Blastocystishominis* и его роль в этиопатогенезе атопических заболеваний на сегодняшний день практически не изучена. Во многом, это определяется недостаточной диагностической ценностью прямых копроскопических методов диагностики протозойных инвазий. Исходя из вышеизложенного, нами впервые проведено изучение распространенности *Blastocystishominis* при аллергических заболеваниях.

Материалы и методы. Исследования проводились у пациентов инфекционно-аллергической поликлиники ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора. Для диагностики *Blastocystishominis* использованы копрооскопические методы диагностики- влажный мазок из консерванта, “Parasep”, а также комплексная диагностическая система, в основе которой лежит оптимальная комбинация методов - забор кала из консерванта, метод влажного мазка из консерванта, метод Като, комбинированный гельминтоовоскопический метод. Комбинированный гельминтоовоскопический метод, включенный в комплексную систему диагностики гельминтозов и протозоозов объединяет монометоды флотации и седиментации, при этом используется оригинальная флотационная система, в состав которой входят насыщенные водные растворы: хлорида цинка ($ZnCl_2$, $\rho=1,82$), хлорида натрия ($NaCl$, $\rho=1,12$) и глицерин (х.ч.) соотношении 1:1:1. В ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора комплексная диагностическая система длительное время используются как оригинальный метод в диагностике гельминтозов и протозоозов (патент на изобретение). Были сформированы 2 группы пациентов: группа 1-пациенты с симптомами аллергических заболеваний (критерии включения в группу: клиническая симптоматика атопического дерматита, аллергического ринита, бронхиальной астмы, повышенный уровень общего IgE (у детей более 75 МЕ/мл, у взрослых более 100 МЕ/мл), положительные результаты кожного тестирования и/или уровень специфических IgE превышающий 0,35 МЕ/мл (согласно инструкции фирмы производителя- “Алкор-Био, Санкт-Петербург); группа 2 - пациенты с симптомами других заболеваний, преимущественно гастроэнтерологического профиля: боли в животе, тошнота, нарушения пищеварения, диарея, кожные высыпания и зуд неатопического генеза, повышенное газообразование и общая усталость, нормальные уровни общего и/или специфических IgE, отрицательные результаты кожного тестирования.

Результаты и их обсуждение. Всего было проведено 2244 исследования- пациенты группы 1 составили 526, пациенты группы 2 -1718 человек. У пациентов с атопическими заболеваниями (в группе 1) при применении метода влажного мазка из консерванта *Blastocystishominis* регистрировался у 20 (3,8 %), “Parasep” у 50 (9,5 %), комплексной диагностической системы у 75 (14,2 %). В группе 2 при применении метода влажного мазка из консерванта *Blastocystishominis* регистрировались у 60 (3,5 %, $p>0,05$, по сравнению с группой 1), при применении “Parasep” у 121 (7,0 %, $p<0,05$ по сравнению с группой 1) при применении комплексной диагностической системы у 148 (8,6 %, $p<0,05$ по сравнению с группой 1). Метод влажного мазка из консерванта в нашем исследовании выявлял минимальное количество паразитов -3,8, 3,5 % соответственно в группах 1 и 2, при этом достоверных различий между группами не выявлено. Нами показано, что при применении методов обогащения (“Parasep”) и комплексной диагностической системы выявляемость *Blastocystishominis* значительно выше, по сравнению с нативным методом копроовоскопической диагностики. При применении методов “Parasep” и комплексной диагностической системы выявляемость *Blastocystishominis* была достоверно выше при атопических заболеваниях, что свидетельствует в пользу этиопатогенетической значимости патогена при атопии. Нами показано, что как в группе пациентов с атопическими заболеваниями, так и в группе 2, обнаружены достоверные различия по выявляемости патогена между методами “Parasep” и комплексным паразитологическим обследованием, которое в обоих случаях выявляет максимальное количество паразитов.

Наши данные свидетельствуют о том, что при использовании оптимальных диагностических методов паразитологической диагностики *Blastocystishominis*, наряду с другими простейшими (в частности, широко изученными *Lambia intestinales*) может рассматриваться как один из экзогенных факторов в этиопатогенезе атопических заболеваний. Различают 3 существенно различающихся формы *Blastocystishominis*: вакуолярная -диаметр которой составляет от 5 до 20 мкм, содержит 1-4 ядра, большую оцентрированную вакуоль;гранулярная - на первый взгляд напоминает вакуолярную, при этом содержимое вакуоли или цитоплазмы представляет собой гранулированную субстанцию с включениями липидов, гликогена, миелиноподобных структур и амебoidную форму, которая содержит различные вакуоли с бактериями и без них, а также трудно дифференцируемые ядра. Основной диагностической формой у пациентов в обеих группах, по нашим данным, является вакуолярная - 80-95 % *Blastocystishominis* встречается в виде

этой формы, гранулярная форма выявляется у 10-15 % пациентов, идентификация и выявление амебной формы, по нашим данным, вызывает затруднения вследствие малого размера (до 5 мкм). Микроорганизмы такой формы, по данным литературы, быстро разрушаются, находясь за пределами кишечника. Таким образом, для идентификации всех форм паразита в различных группах пациентов, необходима дальнейшее усовершенствование методов паразитологической диагностики.

МИКРОБИОТА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ДЕКОМПЕНСИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОГО КОЛОСТАЗА

Арзамасцева А.А.¹, Волкова А.С.¹, Григорьева Т.В.¹, Сакулин К.А.², Карпучин О.Ю.², Яруллина Д.Р.¹

¹ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт
фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия
²ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Хронический колостаз (хронический запор, ХЗ) - стойкое или интермиттирующее, продолжающееся более шести месяцев нарушение функции толстой кишки с урежением частоты стула до трёх и менее раз в неделю [Шельгин, Благодарный, 2012]. Проблема ХЗ является одной из наиболее актуальных в современной колопроктологии: в структуре заболеваемости пациенты с ХЗ находятся на втором месте, уступая лишь больным геморроем. Этим недугом страдают 30–50% взрослого населения, а в возрастной группе старше 60 лет распространённость достигает до 60% [Костырной с соавт., 2015]. Заболевание не несет непосредственной угрозы жизни пациентов, но значительно снижает ее качество, а также приводит к развитию других заболеваний: доброкачественных и злокачественных новообразований кишечника, дивертикулярной болезни толстой кишки, полиорганной недостаточности на фоне хронической интоксикации [Самсонов, 2009; Wexner *et al.*, 2006]. В этиологии колостаз, наряду с другими факторами (анатомическими, функциональными, психосоматическими, диетическими, культурологическими и др.), значительная роль принадлежит сдвигам в кишечной микробиоте [Джавадов, 2011, Карпучин с соавт., 2016]. Данные последних лет указывают на наличие функциональной связи между нарушением моторно-эвакуаторной функции кишечника и составом кишечной микробиоты, хотя до сих пор не установлено, какие именно изменения архитектуры микробного сообщества желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) специфичны для ХЗ. Установление механизмов микробной регуляции сократительной активности кишечника также далеки от разрешения. Предполагается что, они реализуются при участии конечных продуктов микробного метаболизма, посредством медиаторов, выделяемых клетками иммунной системы в ответ на симбиотические микроорганизмы, либо кишечных нейроэндокринных факторов [Джавадов, 2011; Barbara *et al.*, 2005].

Целью работы является характеристика сообщества микроорганизмов толстой кишки пациентов с нарушенной моторно-эвакуаторной функцией желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали 18 резецированных препаратов толстой кишки пациентов, прооперированных по поводу декомпенсированной формы хронического колостаз. Материал исследовали в соответствии с разрешением Локального этического комитета ГБОУ ВПО КГМУ МЗ РТ (протоколы №9 от 24.11.2015, №3 от 21.03.2017).

Методами классической микробиологии с помощью сред специального назначения оценили общую обсемененность образцов аэробными и факультативно анаэробными бактериями на БТН-агаре («Биотехновация», Россия), а также *Bifidobacterium* spp. на агаре для бифидобактерий (HiMedia Laboratories Limited, Индия), энтеробактериями на среде Эндо (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), в том числе *Salmonella* spp. и *Shigella* spp. на бактоагаре Плоскирева (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), молочнокислыми бактериями (МКБ) на среде для выделения молочнокислых бактерий с мелом [Нетрусов с соавт., 2005], в том числе *Lactobacillus* spp. на среде MRS [De Man *et al.*, 1960].

Секвенирование генов 16S рРНК выполнили на секвенаторе MiSeq (Illumina). Первичный анализ данных секвенирования выполнили на платформе Basespace (Illumina). Для анализа полученных последовательностей гена 16S рРНК использовали биоинформационный пакет QIIME v. 1.8.0. (<http://qiime.org/>).

Результаты и обсуждение. Образцы кишечника, полученные от разных пациентов, значительно отличались по микробному пейзажу и обсемененности. Тем не менее, большинство образцов характеризовалось высоким содержанием МКБ: от 10^3 до $1.6 \cdot 10^{15}$ КОЕ/г. По данным микробиологического анализа, в трети исследованных образцов присутствовали бактерии семейства *Enterobacteriaceae* в количестве от $5.9 \cdot 10^4$ до $2.6 \cdot 10^{13}$ КОЕ/г, а в двух образцах обнаружены представители родов *Salmonella* и *Shigella* ($7.5 \cdot 10^5$ и 10^5 КОЕ/г). Содержание в образцах МКБ и энтеробактерий, определенное культуральным методом и с помощью метагеномного анализа, существенно отличается. Сопоставление данных, полученных микробиологическими и молекулярно-биологическими методами, указывает на высокое содержание в кишечнике человека микроорганизмов облигатно анаэробных и/или находящихся в некультивируемом состоянии.

Методом секвенирования генов 16S рРНК показано, что у больных хроническим колостазом в толстой кишке преобладают представители четырех фил: доминирующие *Firmicutes* (31-52%) и *Bacteroidetes* (34-43%), за которыми следуют *Proteobacteria* (4-26%) и *Actinobacteria* (1-4%). В целом, при колостазе нами отмечено изменение соотношения *Firmicutes* / *Bacteroidetes*, а также увеличение доли представителей *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Verrucomicrobia* по сравнению с составом кишечного сообщества здоровых людей.

В качестве индикаторов альфа-разнообразия микробного сообщества образцов были вычислены количество наблюдаемых операционных таксономических единиц (ОТЕ), а также индексы Шеннона, Симпсона и Чао 1. Установлено, что исследуемые образцы кишечника имеют высокий уровень видового разнообразия, при этом, согласно индексу Чао 1, примерно 10% семейств и родов не были выявлены в ходе метагеномного анализа.

На основании данных литературы и метагеномного анализа нами были определены отдельные компоненты кишечного микробиома и их метаболиты, которые способны подавлять моторную функцию кишечника. Короткоцепочечные жирные кислоты принадлежат к основным функциональным метаболитам анаэробной микробиоты кишечника, которые, присутствуя в физиологических концентрациях, способны усиливать моторику подвздошной, средней и дистальной части кишки [Ардатская, 2003; Шульпекова, 2010]. Однако при высоких концентрациях они могут оказывать ингибирующее действие на данную функцию [Baxter *et al.*, 2014; Hurst *et al.*, 2014; Larraufie *et al.*, 2016]. В большинстве образцов нами были идентифицированы различные ацетат-, пропионат- и бутират-продуцирующие бактерии.

По данным литературы, у пациентов с ХЗ и замедленным кишечным транзитом наблюдается увеличение количества метаногенов [Attaluri *et al.*, 2010]. Метан способствует нарушению перистальтических сокращений толстой кишки и таким образом угнетает ее моторную функцию [Pimentel *et al.*, 2006; Sahakian *et al.*, 2010; Jahng *et al.*, 2012]. В образцах были идентифицированы метаногены семейств *Methanobacteriaceae* и *Methanosarcinaceae*. Отметим, что определенное нами количество метаногенов в образцах может быть заниженным, т.к. в работе мы анализировали ген 16S рРНК, тогда как для выявления метаногенных архей принято использовать ген метил-коэнзим-М-редуктазы (*mcrA*).

Сероводород в физиологических концентрациях является высокотоксичным для колоноцитов, нарушает их метаболическую функцию, особенно окисление бутирата, а также он способен вызывать повреждение ДНК и воспалительные реакции [Attene-Ramos *et al.*, 2010; Medani *et al.*, 2011]. Потенциальными продуцентами H_2S в кишечнике человека являются многие сульфатвосстанавливающие бактерии [Nava *et al.*, 2012]. В образцах были обнаружены такие их представители, как *Desulfovibrio* и *Bilophila*. Вовлеченным в пути метаболизма сероводорода в кишечнике является род *Akkermansia*, также к деградации цистеина до H_2S способны представители *Enterobacter* spp., идентифицированные в образцах [Shatalin *et al.*, 2011; Belzer, De Vos, 2012]. Увеличение относительного содержания в исследуемых образцах семейства *Verrucomicrobiaceae* (род *Akkermansia*) может указывать на возможное повышение количества H_2S

в кишке, чья роль в этиологии и патогенезе заболеваний ЖКТ, в частности, колостаз, заслуживает дальнейшего изучения.

Таким образом, нами не выявлена функциональная связь между составом микробного сообщества толстой кишки и патологией (хроническим колостазом), но идентифицированы отдельные члены кишечной микроботы, которые могут влиять на сенсорно-моторную функцию кишечника при производстве метана (*Methanobrevibacter*), сероводорода (*Desulfovibrio*, *Bilophila*, *Escherichia*, *Akkermansia*), бутирата (*Clostridiales*), пропионата (*Bacteroides*, *Akkermansia*) и ацетата (многие таксоны).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-34-00268 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

Список использованной литературы:

1. Ардатская М. Д., Мишушкин О. Н., Иконников Н. С. Дисбактериоз кишечника: понятие, диагностические подходы и пути коррекции. Возможности и преимущества биохимического исследования кала: пособие для врачей // Москва. 2003. 57 с.
2. Джавадов, Э. А. О. Хирургическое лечение больных с хроническим колостазом на фоне долихоколон : автореф. дис. док. мед. наук Российский ун-т дружбы народов. Москва, 2011. 32 с.
3. Карпухин, О. Ю., Можанов Е. В., Шакуров А. Ф., Елеев А. А. Лапароскопический и лапаротомный доступ в хирургическом лечении хронического // Практическая медицина. 2016. Т. 1. № 4. С. 93-96.
4. Костырной А. В., Шевкетова Э. Р. Хронические запоры: вопросы диагностики и хирургического лечения // Казанский медицинский журнал. 2015. Т. 96. № 6. С. 1004-1009.
5. Нетрусов А. И., Егорова М. А. Практикум по микробиологии // Москва. 2005. 608 с.
6. Самсонов А. А. Синдром хронического запора // Русский медицинский журнал. 2009. Т. 17. № 4. С. 233-237.
7. Шелыгин Ю. А., Благодарный Л. А. Справочник по колопроктологии // М.: Литтерра. 2012. 596 с.
8. Шульпекова, Ю. О. Лактулоза: аргументы и факты // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. 2011. №9. С. 28-35.
9. Attaluri A., Jackson M., Valestin J. Methanogenic flora is associated with altered colonic transit but not stool characteristics in constipation without IBS // Am. J. Gastroenterol. 2010. N. 105. P. 1407-1410.
10. Barbara G., Stanghellini V., Brandi G. et al. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease // Am J Gastroenterol. 2005. V. 100. N. 11. P. 2560-2568.
11. Baxter N. T. et al. Structure of the gut microbiome following colonization with human feces determines colonic tumor burden // Microbiome. 2014. N. 2. P. 20.
12. Belzer C., De Vos W. Microbes inside - from diversity to function: the case of *Akkermansia* // ISME J. 2012. V. 6. P. 1449-1458.
13. Hurst N. R. et al. The Short Chain Fatty Acids, Butyrate and Propionate, have Differential Effects on the Motility of the Guinea Pig Colon // Neurogastroenterol Motil. 2014. V. 26. N. 11. P. 1586-1596.
14. Jahng J. et al. The effects of methane and hydrogen gases produced by enteric bacteria on ileal motility and colonic transit time // Neurogastroenterol Motil. 2012. V. 24. P. 185-190.
15. Larraufie P. et al. TLR ligands and butyrate increase Pyy expression through two distinct but inter-regulated pathways // Cellular microbiology. 2016. V. 19. N. 2. P. 92-95.
16. Medani M. et al. Emerging role of hydrogen sulfide in colonic physiology and pathophysiology // Inflamm. Bowel Dis. 2011. V. 17. P. 1620-1625.
17. Nava G. M. et al. Abundance and diversity of mucosa-associated hydrogenotrophic microbes in the healthy human colon // ISME J. 2012. N. 6. P. 57-70.
18. Pimentel, M. Methane, a gas produced by enteric bacteria, slows intestinal transit and augments small intestinal contractile activity [Text] / M. Pimentel, H. C. Lin, P. Enayati // Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol. – 2006. – N. 290 – P. 89-95.

19. Sahakian A. B., Jee S. R., Pimentel M. Methane and the gastrointestinal tract // Dig Dis Sci. 2010. N. 55. P. 2135-2143.
20. Shatalin K. et al. H₂S: a universal defense against antibiotics in bacteria // Science. 2011. V. 334. P. 986-990.
21. Wexner, S. D. Constipation : Etiology, Evaluation, and Management // London: Springer. Second Edition. 2006. V. 3. P. 265.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Бабушкина И.В., Бондаренко А.С., Шпиняк С.П., Ульянов В.Ю.

НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО
«Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия

В связи с интенсивным развитием эндопротезирования крупных суставов отмечается ежегодное увеличение количества осложнений различного характера, наиболее частым является перипротезная инфекция. Дифференциальная диагностика инфекционных осложнений и асептического воспаления остается сложной задачей, что обусловлено особенностями патогенеза имплант-ассоциированной инфекции. Микробиологические исследования имеют большое значение в подтверждении диагноза перипротезной инфекции и дифференциальной диагностике, однако стандартные микробиологические методы не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью при имплант-ассоциированной инфекции и могут привести к неправильной интерпретации полученных данных. Патогенез перипротезной инфекции определяется формированием биопленок на биогенных и абиогенных поверхностях, что вызывает изменение метаболизма микроорганизмов, замедленный рост, развитие резистентности к гуморальным и клеточным факторам иммунитета, а также антибактериальным препаратам.

Цель исследования. Оптимизация микробиологической диагностики инфекционных осложнений после тотального эндопротезирования коленного сустава.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов микробиологического исследования 318 образцов различного клинического материала, полученного от 173 пациентов с инфекционно-воспалительными осложнениями после первичного эндопротезирования коленного сустава, находившихся на лечении в НИИТОН СГМУ МЗ РФ в период 2014-2017. На этапе дооперационной диагностики проводилось изучение отделяемого поверхностных ран и свищевых ходов, аспирата из полости сустава. На этапе ревизии эндопротеза в качестве образцов клинического материала исследовали отделяемое операционной раны, биоптаты перипротезных тканей, удаленные компоненты эндопротезов. Идентификацию возбудителей проводили на микробиологическом анализаторе BD BBL™ Crystal™ AutoReader (Becton Dickinson, США) с применением панелей Crystal™ Enteric/Nonfermenter IDKit (Becton Dickinson, США), Crystal™ Gram-Positive IDKit (Becton Dickinson, США). Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». В исследовании использовали питательную среду Mueller-Hinton-Agar (Becton Dickinson, США) и сенси-диски с антибиотиками (Becton Dickinson, США). Чувствительность к метициллину определяли с использованием набора «MeReSa Agar Base, MRSAAlert™» (HiMedia, Индия), в соответствии с инструкцией по использованию.

Результаты. Микробиологический мониторинг этиологической структуры возбудителей перипротезной инфекции показал, что наиболее частыми возбудителями имплант-ассоциированной инфекции являются представители грамположительной кокковой флоры (65,4% случаев), причем низковирulentные штаммы эпидермального стафилококка составили 37,7% от общего числа выделенных штаммов. Штаммы золотистого стафилококка были идентифицированы

в 18,3% случаев. Следует отметить высокий уровень резистентности штаммов стафилококка к антибиотикам, что связано с предшествующей антибиотикотерапией у большинства пациентов и формированием биопленок представителями рода *Staphylococcus*. Наиболее проблемными являются метициллинрезистентные штаммы стафилококка. Следует отметить увеличение количества MRSA с 17,8% в 2014г. до 28,35 в 2017г., при этом количество MRSE возросло с 15,3% в 2014г. до 38,9% в 2017г. Количество инфекционных осложнений, связанное с данным типом микроорганизмов, особенно с коагулазонегативными стафилококками, неуклонно растет и имеет тенденцию к дальнейшей прогрессии, их доля превышает 50% от случаев диагностированной перипротезной инфекции.

Роль грамотрицательных бактерий в период наблюдения оставалась неизменной, их доля в общей структуре возбудителей составляла около 28,5% случаев, причем в качестве монокультуры грамотрицательные бактерии были выделены лишь в 8,4% случаев, в большинстве наблюдений представители грамотрицательной флоры присутствовали в виде ассоциатов с различными стафилококками и грибами рода *Candida*.

Для повышения информативности микробиологической диагностики инфекционных осложнений после эндопротезирования необходимо изменение методологии классического бактериологического исследования. Увеличение времени наблюдения перипротезных культур до 14 суток приводило к повышению количества бактериологически подтвержденных случаев перипротезной инфекции на 12,3%, что обусловлено сниженным метаболизмом и замедленным ростом возбудителей перипротезной инфекции. Подтверждением диагноза перипротезной инфекции считали высеv высоковирулентного микроорганизма (*P. aeruginosa*, *S. aureus*) из одного образца клинического материала или выделение представителей низковирулентной флоры с одинаковой антибиотикограммой и фенотипическими свойствами из двух или более образцов клинического материала. Подобный подход к интерпретации результатов исследования позволяет избежать ложноположительных результатов, особенно при исследовании отделяемого поверхностных ран и свищевых ходов, которое часто бывает контаминировано микрофлорой кожных покровов. Исследование аспирата из полости суставов обладает достаточной специфичностью, однако не обладает достаточной чувствительностью в связи с частым отсутствием планктонных форм микроорганизмов в полости сустава.

Наиболее информативными методиками бактериологической диагностики являлись исследование биоптатов мягких тканей, полученных на этапе ревизии эндопротеза и изучение удаленных компонентов эндопротезов. Для повышения информативности исследовали 3-5 биоптатов перипротезных тканей от каждого пациента, гомогенизировали биоптаты и проводили количественную оценку микробной обсемененности разведений биоматериала. При исследовании гомогенизированных биоптатов мягких тканей диагноз перипротезной инфекции был подтвержден у 73% пациентов.

На этапе интраоперационной диагностики проводили изучение бактериологической обсемененности компонентов эндопротезов. Для деструкции биопленки на поверхности имплантатов и повышения выявляемости возбудителей применяли ультразвуковую обработку удаленных компонентов эндопротезов. В стерильный пакет помещали извлеченный компонент эндопротеза, добавляли 30-50 мл 0,9% раствора NaCl, подвергали воздействию низкочастотных ультразвуковых колебаний в ультразвуковой установке "УЗУМИ-2"(ТРИМА, Россия) в течение 10 минут, затем смывную жидкость высевали на питательные среды в соответствии с утвержденными микробиологическими методиками. При изучении смывной жидкости после ультразвуковой обработки эндопротезов диагноз перипротезной инфекции был подтвержден у 89% пациентов, что достоверно выше ($\chi^2 = 3,182$; $p < 0,05$), чем при использовании стандартных методик бактериологической диагностики. В 15,3% случаев только при посеве смывной жидкости с компонентов эндопротеза после ультразвуковой обработки был подтвержден диагноз перипротезной инфекции.

Выводы: В результате выполненного сравнительного анализа информативности методик микробиологического исследования образцов различного клинического материала при верификации диагноза имплант-ассоциированной инфекции следует отметить методологические аспекты, которые позволяют повысить эффективность выделения возбудителя. При выполнении

бактериологических исследований при перипротезной инфекции следует использовать пролонгированное культивирование образцов клинического материала, подтверждение этиологической значимости низковирулентных микроорганизмов выделением из нескольких образцов клинического материала, использование высокоинформативных методик – изучение гомогенизированных биоптатов мягких тканей и смывной жидкости после ультразвуковой обработки компонентов эндопротезов. Комплексный подход, опирающийся на особенности патогенеза перипротезной инфекции, позволяет правильно интерпретировать результаты бактериологических исследований.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ СТАФИЛОКОККОВ К АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

Баязитова Л.Т.^{1,2}, Михайлова О.С.², Салиева Д.Р.², Тюпкина О.Ф.¹, Тюрин Ю.А.^{1,2}

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Актуальность. В последние годы увеличивается доля MRSA инфекций; при этом метициллинрезистентные стафилококки все чаще выделяются у пациентов с внебольничными инфекциями. Особенностью MRSA является устойчивость к β -лактамам антибиотикам, которая сопровождается устойчивостью и к другим препаратам-макролидам, аминогликозидам, линкозамидам и фторхинолонам, что существенно осложняет выбор препарата для эмпирической антистафилококковой терапии. Данный факт диктует необходимость поиска новых средств в качестве альтернативных средств лечения и профилактики.

Цель: оценить метициллинчувствительность и метициллинрезистентность нозокомиальных штаммов золотистого стафилококка (MRSA) на основании фенотипических признаков и молекулярного генотипирования; определить их профиль чувствительности к антисептическим препаратам.

Материалы и методы. Изучено 56 нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов многопрофильного стационара. Идентификация изолятов проводилась на основании морфологических, тинкториальных и биохимических свойств. Для скрининга метициллин (оксациллин)резистентных штаммов применяли среду CHROMagarMRSA. Для выявления продукции пенициллиназы у *S. aureus* использовали бензилпенициллин (1мкг). «Золотым стандартом» подтверждения метициллинрезистентности является генотипическое подтверждение наличия *mecA* гена методом ПЦР. Проведено скрининговое тестирование изолятов MSSA и MRSA к следующим антисептическим препаратам: гексоралу, хлоргексидину, октенисепту, мирамистину и диоксидину.

Результаты. По результатам скрининга *Staphylococcus aureus* (n=56) на хромогенной среде CHROMagarMRSA - в качестве метициллинрезистентных отобрано 12 штаммов. По данным молекулярного типирования штаммов, по фенотипическим признакам отнесенных к MRSA, 8 изолятов отнесены к метициллинрезистентным стафилококкам. То есть, в геноме данных изолятов обнаружен *SCCmecA* ген.

Результаты изучения профиля резистентности MSSA к антисептикам: минимальный уровень резистентности отмечен к хлоргексидину и октенисепту (93,7%); высокая активность наблюдалась у мирамистина (87,5%) и гексорала (83,3%). Минимальная эффективность в отношении MSSA выявлена у диоксида (31,2%). Высокоактивными проявились гексорал, хлоргексидин, октенисепт (62,5%). Менее эффективным оказался мирамистин (50%); наименее активным - диоксидин (25%).

Выводы. Результаты показали, что среди протестированных 56 нозокомиальных штаммов 8 изолятов отнесены к метициллинрезистентным на основании наличия *SCCmecA* гена. Наиболее активными в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* показали гексорал, хлоргексидин, октенисепт; мирамистин. К диоксидину чувствительны 25%-31,2% изолятов. Результаты

исследования свидетельствуют о необходимости мониторинга за циркуляцией MRSA в ЛПУ и их профиля чувствительности к антисептическим препаратам. Профилактика ИСМП должна включать деkontаминацию кожи, слизистых оболочек, объектов госпитальной среды высокоактивными антисептическими препаратами.

МИКРОБИОТА УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К БАКТЕРИОФАГАМ

Валиева Р.И.^{1,2}, Баязитова Л.Т.^{1,2}, Исаева Г.Ш.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора», Казань, Россия
²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Актуальность. Этиологическая структура воспалительных заболеваний половых органов женщины крайне разнообразна. Спектр возбудителей включает в себя десятки видов всех классов микроорганизмов. Лидирующее место среди них занимает условно-патогенная грампозитивная флора, представленная в частности бактериями рода *Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.* Следует отметить, что ведущей причиной хронического воспаления и гнойно-септических осложнений урогенитального тракта становятся полимикробные ассоциации, причем повреждающее действие на органы репродуктивной системы при таких ассоциациях значительно усиливается. Широкое распространение антибиотикорезистентных микроорганизмов требует разработки новых подходов в коррекции дисбиотических нарушений в составе микробиоты урогенитального тракта, поиска альтернативных эффективных препаратов, обладающих антимикробным действием, но не вызывающих дополнительного нарушения в составе микрофлоры.

Цель. Изучение чувствительности штаммов *Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.*, выделенных из гинекологической микробиоты (влагалища и цервикального канала), к моно- и комбинированным бактериофагам.

Материалы и методы. Было проведено бактериологическое исследование 83 образцов гинекологического материала: 52 образца из влагалища и 31 – из цервикального канала. Возраст женщин составил от 18-68 лет. Проводили посев биоматериала на питательные среды: Columbia agar Base («Conda», Испания) с добавлением 5 % крови; желточно-солевой агар, хромогенный агар для уropатогенных бактерий «HiChromeUTI Agar (Himedia), Эндо, Сабуро и тиогликолевую среду. Идентификация микроорганизмов проводилась по комплексу культуральных, морфологических и биохимических свойств согласно действующим нормативным документам. Чувствительность к бактериофагам определялась с помощью спот- метода (метод пятна): производился посев культуры газоном, после подсушивания наносилась капля бактериофага, после инкубации наблюдались стерильные зоны отсутствия роста бактерий в результате размножения бактериофагов, вызывающих лизис культуры.

Результаты. В гинекологической микробиоте обнаружены бактерии рода *Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.* в высокой степени обсемененности: 10^4 - 10^6 КОЕ/мл, в 33,2% и 36,6% соответственно. Ассоциативный рост условно-патогенных микроорганизмов зарегистрирован у 49,9% пациенток: сочетание грампозитивной кокковой флоры с энтеробактериями (*E.coli*, *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.*) встречается в 18,1% случаев, ассоциативный рост стафилококков и энтерококков наблюдается у 31,8% женщин. У 16,6 % женщин в состав микробиоценоза входили грибы рода *Candida*. Выделенные изоляты бактерий рода *Staphylococcus spp.* обладали наибольшей чувствительностью к стафилококковому бактериофагу - у 62%, а к пиобактериофагу чувствительны лишь 10,6% бактерий. 51% штаммов *Enterococcus spp.* Лизировались интестибактериофагом, а 24,2% штаммов – пиобактериофагом.

Заключение. В результате микробиологического исследования микробиоценоза женщин установлено, что превалируют дисбиотические сдвиги в вагинальном микробиоценозе, обусловленные выраженным дефицитом нормофлоры и избыточным ростом

условно-патогенной микрофлоры. Большинство генитальных штаммов стафилококков (72,6%) и энтерококков (75,2%) были чувствительны к моно- и комбинированным бактериофагам, что позволяет рекомендовать применение бактериофагов в качестве альтернативных препаратов для лечения гинекологической патологии у женщин.

МОНИТОРИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ ОТКРЫТЫХ ВОДОЕМОВ НА ВИБРИОФЛОРУ

*Волостнова Е.С.^{1,2}, Милова И. В.¹, Бадамынина Г. Г.¹, Зиятдинов В. Б.¹, Исаева Г. Ш.^{2,3},
Ставропольская Л. В.¹, Галиуллина Ч.Ф.¹*

¹ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Республике Татарстан (Татарстан)», г. Казань, Россия
² ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии», г. Казань, Россия
³ ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Одним из основных направлений в рамках мониторинговых исследований объектов внешней среды являются исследования воды открытых водоемов и сточной воды с целью обнаружения холерного вибриона и холерного вибриона группы *non O1/ O139*.

Республика Татарстан по типу эпидемической проявляемости холеры отнесена к Привожскому федеральному округу территории 3 типа, подтипа А. Бактериологическое исследование на холеру проб из объектов окружающей среды на территориях указанного типа проводятся в июле и августе. Во время проведения и подготовки в 2015 году Чемпионата мира по водным видам спорта, Кубка конфедерации FIFA по футболу в 2017 году на территории г. Казань увеличился период мониторинговых исследований поверхностных водоемов на наличие холерных вибрионов с 01 июня по 31 августа.

В 2015-2017 годах было проведено 8972 исследований проб воды из стационарных точек открытых водоемов и сточной воды. Согласно СП 3.1.1.2521-09 «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории РФ» и в связи с чемпионатом мира по водным видам спорта июне-августе 2015 года было отобрано 230 проб воды открытых водоёмов и 29 проб сточной воды, в 2016 году - 272 пробы воды открытых водоёмов и сточной воды, в 2017 году в связи с проведением Кубка конфедерации FIFA по футболу было отобрано 406 проб воды открытых водоёмов и сточной воды с целью обнаружения холерного вибриона.

При эпидемиологическом надзоре за холерой, осуществляемом с профилактической целью, предусматривались забор проб воды из водоемов I категории, используемых в качестве источников для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, в зонах санитарной охраны, вода из водоемов, в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод независимо от степени их очистки (и ниже по течению на 50-500м); вода из водоемов II категории, в местах рекреационного водопользования, определенных санитарными правилами. Другие стационарные точки отбора проб из водоемов определялись с учетом санитарно-гигиенических и санитарно-бактериологических показателей, а также эпидемиологических показаний.

По результатам проведенных исследований установлено: в 2015 году было проведено 2656 исследований воды на обнаружение холерного вибриона, выделено 67 культур холерного вибриона *non O1/ O139*, количество выделенных культур составило 2,5% от исследованных проб. В 2016 году было проведено 2467 исследований воды открытых водоёмов и сточной воды, выделено 146 культур холерного вибриона *non O1/ O139*, удельный вес выделенных культур составил 5,9 %. В 2017 году было проведено 3849 исследований, выделено 88 культур холерного вибриона *non O1/ O139*, удельный вес выделенных культур составил 2,25 %.

В 2016 году специалистами бактериологической лаборатории филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» в г. Набережные Челны и

Актанышском районе выделена одна культура *V.Cholerae* O1, биовар eltor, серовар Inaba из реки Ик, на 500м ниже спуска сточных вод в Муслюмовском районе. Культуры идентифицированы по микробиологическим показателям, оценена их эпидзначимость по гемолитической активности в пробе Грейга, чувствительности к холерным эль-тор фагам ctx+ и ctx- , в полимеразной цепной реакции на наличие генов холерного токсина ctxA и токсинорегулируемых пилей tcpA в отделении диагностики особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», подтверждены в Референс-центре по мониторингу за чумой и другими особо опасными бактериальными инфекциями – ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. Выделенные культуры были подтверждены специалистами ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора как *V.Cholerae* O1, биовар eltor, серовар Inaba, эпидемически не опасны.

В 2015-2017 годах, из проведенных 8972 исследований воды открытых водоемов и сточной воды на наличие бактерий рода *Vibrio* в 937 стационарных точках с положительным результатом выявлена 301 проба (процент положительных результатов составил 3,35%). Чаще всего выделялись холерные вибрионы по O1/ O139 II и I групп Хейберга. Наибольшее количество выделенных вибрионов отмечалось в 2016 году.

Заключение.

1. Наличие выделенных холерных вибрионов по O1/ O139 требует проведения противоэпидемических мероприятий.
2. Выделение *V.cholerae* O1 в воде открытого водоема диктует необходимость постоянной готовности госпитальной и лабораторной базы.
3. Увеличение периода мониторинговых исследований поверхностных водоемов на наличие холерных вибрионов связано с усилением эпидемиологического надзора за холерой во время проведения массовых мероприятий на территории г. Казани.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА РАЗНЫХ ВИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA*

Гилязева А.Г., Пуховская В.С., Марданова А.М.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются широко распространенной проблемой здравоохранения и являются частой причиной обращения за медицинской помощью. Известно, что урологические инфекции составляют до 40% нозокомиальных инфекционных заболеваний [1]. Кроме того, среди нозокомиальных ИМП основную часть (80%) составляют катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей (КАИМП) [1]. При этом ведущим фактором риска возникновения КАИМП является длительность катетеризации [1].

Патогенез КАИМП основан на способности катетера (или стента) нарушать защитный слой гликозаминогликанов, который препятствует взаимодействию бактерий и эпителиальных клеток и тормозит развитие биопленок. Кроме того, длительная катетеризация способствует образованию слизистой муфты между катетером и стенкой уретры, создающей благоприятные условия для инвазии бактерий. Таким образом, при катетеризации становится возможным образование биопленок между катетером и слизистой уретры, что создает благоприятные условия для инвазии и пролиферации бактерий. Помимо этого, бактерии способны формировать биопленки и на внутренней поверхности катетера. Адгезивные свойства уропатогенов обусловлены наличием у бактерий комплекса факторов вирулентности, среди которых особую роль играют чувствительные к маннозе фимбрии I типа и устойчивые к маннозе фимбрии III типа [2].

В большинстве случаев возбудителями ИМП и КАИМП являются *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* [3, 4]. К числу реже встречающихся уропатогенов относятся *Proteus mirabilis*, *Providentia tuartii*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, а также *Klebsiella oxytoca* [5, 6]. Кроме того, указанные выше уропатогены

нередко содержатся в биопленках при КАИМП [6]. Установлено, что в составе биопленок бактерии, представленные в меньшем количестве, усиливают вирулентность патогенов, составляющих основную массу биопленки. Вышеперечисленное объясняет актуальность изучения вирулентных свойств как распространенных уропатогенов, так и минорной микрофлоры.

Целью работы была сравнительная характеристика адгезивных свойств клинического изолята *Klebsiellapneumoniae*, выделенного с поверхности уретрального стента пациента с гиперплазией простаты, и изолята *K. oxytoca*, который был выделен из мочеточникового стента пациентки с мочекаменной болезнью. Таким образом, в качестве объектов исследования выступали как широко распространенный, так и минорный уропатоген.

С помощью баз данных ASAP (<https://asap.genetics.wisc.edu/asap/logon.php>) и NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) были проанализированы опероны фимбрий I типа (*fim*-опероны) среди секвенированных геномов обоих видов *Klebsiella*. У *E. coli* данный оперон содержит 7 структурных генов, составляющих каркас фимбрии и ответственных за транспорт компонентов и сборку фимбрии (Rosenetal 2008). Кроме того, транскрипция *fim*-оперона подчиняется фазовой вариации и регулируется за счет изменения положения свитч-элемента *fimS* в составе промотора оперона. Положение *fimS* (положение «ON»/»OFF») контролируется регуляторными генами *fimB* и *fimE*, расположенными перед *fim*-опероном. В отличие от *E. coli*, опероны *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* содержат дополнительный *fimK* ген на 3'-конце. Предполагается, что данный ген подавляет экспрессию *fim*-оперона, и его наличие объясняет вспомогательную роль бактерий рода *Klebsiella* в развитии ИМП в сравнении с широко распространенной *E. coli*, у которой отсутствует *fimK*-ген. Кроме того, у *K. pneumoniae* отсутствует регуляторный ген *fimE*, роль которого заключается в «переключении» промотора *fim*-оперона в положение «ON», что также вносит вклад в относительно меньшую распространенность *K. pneumoniae* среди возбудителей ИМП. Помимо этого, нами было обнаружено, что в геноме *K. oxytoca* отсутствуют гомологи генов *fimB* и *fimE*, но есть 2 регуляторных гена, расположенные перед промотором *fim*-оперона на прямой и обратной цепи.

Для детекции фимбрий на поверхности клеток *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* использовали метод, основанный на агглютинации клеток дрожжей. Известно, что бактерии, имеющие фимбрии I и III типов способны вызывать агглютинацию дрожжевых клеток [7]. Бактерии культивировали на среде LB и натуральной детской моче в течение 17 часов при температуре 37 °С. Клетки осаждали центрифугированием при 8000 об/мин в течение 10 мин и отмывали в PBS-буфере, после чего ресуспендировали в этом буфере до оптической плотности OD₆₀₀=0.5. Для количественной оценки адгезивной способности культур готовили серию двукратных разведений суспензии бактерий. Для агглютинации использовали 5 % суспензию пекарских дрожжей, которую добавляли к бактериальной суспензии в соотношении 1:1 по объему. Отмечали наличие агглютинации дрожжевых клеток при взаимодействии с суспензией бактерий в разных разведениях. В случае *K. pneumoniae* агглютинацию дрожжей наблюдали для суспензий бактерий с титром разведения 1:2 для культуры, выращенной на среде LB, в то время как при культивировании на моче отмечалось отсутствие агглютинации. Агглютинация дрожжей была более выражена в случае *K. oxytoca*: агглютинация наблюдалась для бактериальной суспензии с титром разведения 1:4 (для культуры, выращенной на среде LB) и – 1:8 при культивировании на моче. Это свидетельствует о том, бактерии при росте на натуральной моче обладают более выраженными адгезивными свойствами. Установили, что агглютинация не ингибируется в присутствии 1% раствора D-маннозы, что позволяет нам предположить, что клетки исследованных бактерий экспрессируют фимбрии как I, так и III типа.

Исследовали адгезивные свойства бактерий в отношении эукариотических клеток с помощью линии культуры клеток карциномы мочевого пузыря T24. Клетки уротелия выращивали в 24-луночных планшетах на среде α -MEM в течение 24 часов до состояния 80 % монослоя. Затем культуру клеток инфицировали суспензиями *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* в дозе 100 бактерий на одну эукариотическую клетку. Бактерии выращивали на среде LB. Культуру клеток после инфицирования инкубировали в течение 2 часов при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ и 100 % влажности. Затем клетки T24 отмывали PBS-буфером от планктонных бактерий, разрушали 1 % раствором тритона X-100 в течение 7 минут и добавляли в лунки среду LB для предотвращения

дальнейшего воздействия тритона Х-100. Далее готовили серию разведений освободившихся бактерий с последующим высевом на чашки Петри с агаризованной средой LB для подсчета колониеобразующих единиц. Через 24 часа инкубации чашек Петри при 37 °С производили учет результатов. В случае *K. pneumoniae* к клеткам Т24 адгезировало 0.115% бактерий от инфекционной дозы. Бактерии *K. oxytoca*, выращенные на LB, адгезировали к клеткам уротелия в количестве 0.017% от инфекционной дозы. Следовательно, доля бактерий *K. pneumoniae*, адгезированных к клеткам уротелия, была на порядок выше, чем в случае *K. oxytoca*.

Таким образом, сравнительная характеристика клинических изолятов *K. pneumoniae* и *K. oxytoca*, выделенных от пациентов с КАИМП, позволила выявить различия в адгезивных свойствах двух видов *Klebsiella*. Согласно полученным результатам, несмотря на более выраженную способность культуры *K. oxytoca* к агглютинации дрожжей, она в меньшей степени адгезировала к клеткам уротелия Т24, в отличие от бактерий *K. pneumoniae*. Это может быть обусловлено различиями в составе оперонов фимбриальных генов этих двух видов бактерий. Также можно предположить, что на поверхности клеток *K. pneumoniae* помимо фимбрий I и III типа имеются дополнительные адгезины, обуславливающие их высокий адгезивный потенциал на культуре клеток, отсутствующие у бактерий *K. oxytoca*.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 18-34-00837 мол_а.

Список использованной литературы:

1. Tenke, P. European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections / P. Tenke, B. Kovacs, T.E. Bjerklund Johansen, T. Matsumoto, P.A. Tambyah, K.G. Naber // Int J Antimicrob Agents. – 2007. – V. Suppl 1. – P. S68-78.
2. Rosen, D.A. Utilization of an intracellular bacterial community pathway in *Klebsiella pneumoniae* urinary tract infection and the effects of FimK on type 1 pilus expression / D.A. Rosen, J.S. Pinkner, J.M. Jones, J.N. Walker, S. Clegg, S.J. Hultgren // Infect Immun. – 200. – V. 76. – P. 3337-3345.
3. LaPlante, K.L. Effects of cranberry extracts on growth and biofilm production of *Escherichia coli* and *Staphylococcus* species / K.L. LaPlante, S.A. Sarkisian, S. Woodmansee, D.C. Rowley, N.P. Seeram // Phytother Res. – 2012. – V. 26. – P. 1371-1374.
4. Tofte, N. Chronic urinary tract infections in patients with spinal cord lesions – biofilm infection with need for long-term antibiotic treatment / Tofte N, Nielsen AC, Trostrup H, Andersen CB, Von Linstow M, Hansen B, Biering-Sorensen F, Hoiby N, Moser C. // APMIS. – 2017. – V. 125. – P. 385-391.
5. Çelikkilek, N. Extended-spectrum beta-lactamase production by *Enterobacteriaceae* isolates from urine cultures of outpatients: results of a 7-year follow-up / N. Çelikkilek, A. Gözalan, B. Özdem, F. Kırca, Z.C. Açıkgöz // Mikrobiyol Bul. – 2015. – V. 49. – P. 259-265.
6. Armbruster, C.E. The pathogenic potential of *Proteus mirabilis* is enhanced by other uropathogens during polymicrobial urinary tract infection / C.E. Armbruster, S.N. Smith, A.O. Johnson, V. DeOrnellas, K.A. Eaton, A. Yep, L. Mody, W. Wu, H.L. Mobley // Infect Immun. – 2017. – V. 85. – Pii. e00808-16.
7. Schroll, C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation / C. Schroll, K.B. Barken, K.A. Krogfelt, C. Struve // BMC Microbiol. – 2010. – V. 10. – P. 179.

МИНИМАЛЬНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ У ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ O1 И O139 СЕРОГРУПП СПОСОБНОСТИ ГИДРОЛИЗОВАТЬ МИНЕРАЛЬНЫЕ УДОБРЕНИЯ

Дуванова О.В., Шипко Е.С., Мишанькин Б.Н., Писанов Р.В., Галичева А.Л.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Регулярное использование человеком в различных отраслях промышленности и народном хозяйстве различных классов химических веществ, включая минеральные удобрения, ежегодно увеличивает антропогенную нагрузку на различные экосистемы. При этом, вовлекаясь в различные пищевые цепи, эти вещества не могут не оказывать воздействия на биогеоценоз водных и других экосистем. Принимая во внимание наличие у холерного вибриона ферментов, участвующих в деструкции поверхностно-активных веществ [1,2,3], постоянно присутствующих в объектах окружающей среды и в связи с возрастающим антропогенным воздействием, представляет интерес оценка способности холерных вибрионов гидролизовать минеральные удобрения. Для решения этой задачи была предпринята попытка конструирования простой синтетической среды.

Цель исследования состояла в конструировании простой и информативной среды, позволяющей проводить анализ способности штаммов холерных вибрионов разных серогрупп, выделенных из различных источников и с разной эпидемической значимостью (наличие/отсутствие генов *ctxAB* и *tcpA*), гидролизовать некоторые минеральные удобрения.

В работе использовали 14 штаммов *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп (*ctx+* *tcp+* и $\Delta ctx \Delta tcp$), выделенных из различных источников. Все культуры получены из музея живых культур ФКУЗ Ростовского НИПЧИ, где они находились в лиофилизированном состоянии.

Способность холерных вибрионов гидролизовать минеральные удобрения изучали на плотной среде, которая содержала 2% инстант агара Serva, 0.002% бромтимолового синего и в качестве субстратов азотные минеральные удобрения (сульфат аммония, мочевины), комплексные (нитрат калия) и калийные (хлористый калий) в концентрации 0.25, 0.5 и 0.75%. Посев на поверхность среды осуществляли петлей «пятачками» из агаровой культуры. Чашки инкубировали при 37°C в течение 24 часов-14 суток, периодически просматривая в проходящем свете. При наличии у испытуемых штаммов способности гидролизовать предложенные субстраты вокруг посевов четко просматривались прозрачные зоны различного диаметра.

В результате проведенного исследования с использованием сконструированной минимальной среды обнаружено, что среди исследованных культур как токсигенных, выделенных от людей, так и нетоксигенных, изолированных из объектов окружающей среды, были обнаружены штаммы, которые обладали способностью гидролизовать предложенные субстраты, что выражалось в появлении вокруг макроколоний вибрионов прозрачных зон разного диаметра за счет деструкции минеральных удобрений. Некоторые штаммы уже через 24 часа инкубации проявляли способность гидролизовать минеральные удобрения, в то время, как у ряда штаммов такая способность была выявлена спустя 7 и более суток инкубации, что можно объяснить индивидуальными особенностями штаммов.

Возможно, что в определенных условиях минеральные удобрения в результате биотрансформации могут использоваться холерными вибрионами в качестве источника азота, калия и др. химических элементов, обеспечивая им конкурентноспособность и возможность адаптации в различных экологических условиях, особенно в случае антропогенного загрязнения окружающей среды.

Таким образом, разработанная минимальная синтетическая среда для выявления способности штаммов *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп гидролизовать предложенные субстраты открывает перспективы углубленного изучения этого признака и у других вибрионов.

Список использованной литературы:

1. Дуванова, О.В. Твиназная активность у *Vibrio cholerae* O139 серовара «Бенгал», выделенных из различных источников / О.В. Дуванова, Н.Я. Шиманюк., Т.Г. Мордвинцева, Б.Н. Мишанькин // Холера и патогенные для человека вибрионы: Матер. пробл. комиссии. - Ростов-на-Дону. - 1999. - Вып.12. - С.78.
2. Дуванова, О.В. Способ дифференциации штаммов *Vibrio cholerae* O139 серогруппы по алкилсульфатазной активности / О.В. Дуванова, Б.Н. Мишанькин., С.О.Водопьянов, Р.В.Писанов //Патент на изобретение 2473697 от 27.04.2011.
3. Дуванова О.В., Способность холерных вибрионов гидролизовать спаны /О.В. Дуванова, Е.С. Шипко., Б.Н. Мишанькин // Холера и патогенные для человека вибрионы: Матер. пробл. комиссии. - Ростов-на-Дону. - 2017. - Вып.30. - С.76-78.

ОСОБЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ МНОГОЛЕТНЕГО МОНИТОРИНГА НА НАЛИЧИЕ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМАХ И СТОКАХ Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ

Ежова М.И., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Архангельская И.В.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону, Россия

С начала седьмой пандемии холеры (1961 г.) на территории бывшего СССР первая заносная вспышка этой инфекции была зарегистрирована в 1965 г. в Каракалпакской АССР и Хорезмской области Узбекистана. До 1970 г. локальные вспышки и единичные случаи холеры были отмечены в Узбекистане (1968), Туркмении (1969), в Дагестане и Ростовской области (1969 г.). Параллельно на этих территориях, а также в Азербайджане и в Краснодарском крае выделялись единичные штаммы холерных вибрионов O1 из поверхностных водоёмов. В период с 1970 г. по 1977 г. эпидемические осложнения по холере были зарегистрированы на более чем 80 административных территориях страны. Наибольшее число вспышек холеры после ее заноса в 70-е годы было связано в основном с реализацией водного пути передачи. При этом, наряду с выделением от людей токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 изолировались также из водных объектов окружающей среды [1,2].

В Ростовской области наибольшее число случаев инфицирования с 1969 по 1990 гг. приходилось на г. Ростов-на-Дону и г. Таганрог в период вспышек 1973-1975 гг. Так, в г. Ростов-на-Дону только в 1972 г., 1986 г. и 1987 г., не было зарегистрировано случаев холеры и вибрионосителей. Отмечалась ведущая роль водного фактора распространения в связи с интенсивным загрязнением неочищенными хозяйственно-бытовыми стоками таких водоемов, как реки Дон и Темерник, проток Мертвый Донец. В общей сложности из воды поверхностных водоемов Ростовской области с 1969 г. по 1990 г. было выявлено 309 штаммов вибриона Эль Тор, а из сточных вод - 189 штаммов [3]. Обобщенные результаты мониторинга холерных вибрионов O1, O139 в различных экосистемах на территории бывшего СССР были систематизированы и отражены в Справочнике-кадастре и ГИС [4,8].

Цель настоящей работы состояла в анализе динамики выделения и биологических свойств штаммов, изолированных на территории г. Ростова-на-Дону в период с 1991 г. по 2017 г. при проведении систематических микробиологических исследований на наличие холерных вибрионов в пробах воды поверхностных водоемов и сточных вод восьми стационарных точек, закрепленных за Ростовским-на-Дону противочумным институтом.

Исследования осуществляли в соответствии с нормативными документами [5,6,7].

За изучаемый период из стационарных точек поверхностных водоемов и сточных вод, закрепленных за ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, было выделено 70 штаммов холерных вибрионов, из которых 67 штаммов были O1 серогруппы и три штамма - O139 серогруппы.

При характеристике биологических свойств всех изолированных культур была подтверждена их принадлежность к виду *Vibrio cholerae* по фенотипическим и таксономическим признакам. Вместе с тем, все штаммы *V. cholerae* O1 (67), кроме одного, идентифицированного как *V. cholerae* O1 classical (1999 г.), относились к биовару El Tor. При определении серовара было выявлено, что большинство штаммов принадлежало к серовару Огава – 48. К Инаба -16 штаммов и три - к Гикошима. Все изолированные штаммы *V. cholerae* O1 были типичны по культурально-морфологическим, биохимическим, серологическим свойствам. Из 67 штаммов *V. cholerae* O1 семь штаммов были идентифицированы как токсигенные, а штаммы *V. cholerae* O139 относились к нетоксигенным.

К одной из особенностей результатов мониторинга на холеру поверхностных вод и стоков г. Ростова-на-Дону можно отнести периодичное обнаружение единичных токсигенных штаммов,

кроме изоляции сразу трех штаммов в 2001 г., наряду с регистрацией выделения нетоксигенных штаммов не в единичных случаях (1999 г., 2001 - 2002 гг., 2005 - 2010 гг., 2013 г.).

Анализируя данные, касающиеся холерных вибрионов, можно заключить, что за последние 28 лет прослеживается динамичная тенденция к количественному увеличению числа ежегодно выделяемых штаммов из водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону. Так, в период 1991-1998 гг. было изолировано два нетоксигенных штамма *V. cholerae* O1, а с 1999г. по 2017г. – 65 штаммов *V. cholerae* O1 и 3 штамма *V. cholerae* O139. При этом на фоне эпидемического благополучия по холере на изучаемой территории из стоков и водоёмов были изолированы эпидемически опасные, т.е. *ctxA*⁺, *tcrA*⁺, штаммы *V. cholerae* O1 (1999 г., 2000 г., 2001 г., 2003 г., 2014 г.) и штаммы (2001 г., 2002 г., 2007 г.) с генетической характеристикой *ctxA*⁻, *tcrA*⁺.

Обращает на себя внимание тот факт, что на территории России с 1991г. по 2017 г.- было выделено 15 токсигенных штаммов, из них в г. Ростове-на-Дону - семь, что составило 47% [8].

Следует отметить, что на территории Российской Федерации за изучаемый период только на трех административных территориях (г. Санкт-Петербург, г. Таганрог, г. Ростов-на-Дону) при выделении из водных объектов окружающей среды токсигенных штаммов от людей штаммы холерных вибрионов выявлены не были, и большинство этих штаммов 78% (семь штаммов) были выделены в г. Ростове-на-Дону. В отличие, например, от ситуации в 1995 г. в г. Москве и в 1999 г. в Приморском крае, где токсигенные штаммы из воды были выделены на фоне выявленных больных.

При проведении ПЦР-анализа токсигенные штаммы (*ctxA*⁺, *tcrA*⁺) содержали полный набор генов вирулентности, патогенности/персистенции т.е. представляли эпидемическую опасность и были потенциально способны к продукции инфекционных вирионов СТХф. Все токсигенные штаммы кроме классического (1999 г.) и эльтор (2000), были генетически измененными и содержали в своем геноме гибридный профаг, имеющий ген *rstR* типа эльтор, и ген *ctxB* классического типа.

У семи штаммов с генетической характеристикой (*ctxA*⁻, *tcrA*⁺) в геноме были обнаружены гены острова патогенности VPI при отсутствии полноценного профага СТХф и RS1ф. Причем у четырех из этих штаммов, выделенных в 2007г., в геноме был выявлен сайт интеграции СТХ-профага *attRS1* и полноценный *preCTX*- элемент с генами коровой области *ctxAB* (*cep*, *orfU*, *ace* *изот*). У нетоксигенных штаммов (*ctxA*⁻, *tcrA*⁻), не содержащих гены факторов патогенности остальные гены были представлены в различных сочетаниях.

Принадлежность к определенному фаготипу удалось установить лишь у 13 (18,5%) штаммов. А именно к фаготипу № 11 у двух штаммов, к № 13 у пяти штаммов, к № 14 у двух штаммов, к № 16 у четырех штаммов. При анализе фагочувствительности/фагорезистентности было выявлено, что к фагу классическому чувствительными оказались 2 штамма, к фагу эльтор – 13 и резистентными к фагам классическому и эльтор оказалось 55 штаммов.

Проведенный биоинформационный анализ по результатам секвенирования токсигенных штаммов, выявленных в г. Ростове-на-Дону за изучаемый период, показал, что штамм, изолированный в 2000 г., был наиболее близок штамму, выделенному в г. Таганроге (в 1972 г.). Три штамма 2001 г. оказались наиболее близки к штаммам, выделенным в Бангладеш и Таиланде (в 2010 г.). Штамм 2003 г. был наиболее близок к штамму, выделенному в Бангладеш в 1991 г. Штамм 2014 г. оказался наиболее близкородственным штамму, выделенному в Таганрогском заливе в 2011г. Таким образом, все ростовские токсигенные штаммы, выделенные в разные годы, значительно отличались друг от друга, что свидетельствовало об их заносном характере.

Таким образом, результаты мониторинга показали, что в г. Ростове-на-Дону, по сравнению с другими административными территориями страны, на фоне эпидемического благополучия было выделено подавляющее число разнообразных токсигенных штаммов. Среди них отмечались, как генетически не измененные (*V. cholerae* ElTor - 2000 г. и *V. cholerae* classical - 1999 г.), так и генетически измененные (2001г., 2003 г., 2014г.). Кроме того, в 2007 г. были выделены штаммы с генетической характеристикой (*ctxA*⁻, *tcrA*⁺), имеющие полноценный *preCTX* элемент. В совокупности полученные данные, характеризующие особенности выделенных штаммов, послужили основанием для продолжения углубленного молекулярно-генетического исследования штаммов, выделенных из поверхностных вод и стоков г. Ростова-на-Дону.

На данный момент прогноз по холере в мире продолжает оставаться неблагоприятным, и риск завоза инфекции из-за рубежа на территорию г. Ростова-на-Дону достаточно высок. В связи с этим, наличие многолетних пополняемых данных о циркуляции в водных объектах окружающей среды и свойствах штаммов *V. cholerae* служат как для анализа и прогнозирования эпидемиологической обстановки по холере, так и для своевременного определения направленности и объема профилактических мероприятий на административной территории г. Ростова-на-Дону.

Список использованной литературы:

1. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2008–2017 гг. прогноз на 2018 г. / Э.А. Москвитина [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. № 1. С. 36-43.
2. Холера в СССР в период VII пандемии / под. ред. В.И. Покровского. М.: Медицина, 2000. 472с.
3. Эпидемиологические аспекты холеры эльтор в Ростовской области / Г.М. Мединский [и др.] // Холера: материалы Российс кой научной конференции, Ростов-на-Дону. 1992. С.16-20.
5. Справочник-кадастр распространения вибрионов Эль-Тор в поверхностных водоемах и сточных водах на территории СССР во время 7-й пандемии холеры / под общей ред. Г.М. Мединского, Ю.М. Ломова. Ростов-на-Дону, 1991. 172 с.
6. Лабораторная диагностика холеры: Методические указания 4.2.2218-07. М., 2007. 87 с.
7. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней: Методические указания 4.2.2870-11. М., 2011. 83 с.
8. Санитарные правила СП 3.1.1.2521-09 «Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней» / под ред. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырева. М.: 2013. с. Геоинформационная система. Холера 1989-2014. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014621055. от 28.07.2014 г. / Зубкова Д.А. [и др.]. 2014.

ХАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОТЫ КОНЬЮНКТИВАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ У ДЕТЕЙ С БЛЕФАРОКОНЬЮНКТИВИТАМИ

Зарипова А.З.¹, Баязитова Л.Т.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹, Тюрин Ю.А.^{1,2}, Мамедова С.Н.², Целищева М.В.²

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Актуальность. Бактериальные конъюнктивиты диагностируются от 40,4% до 70,3% от общего числа больных с воспалительными заболеваниями глаз. Конъюнктива обладает высокой устойчивостью к бактериальной микрофлоре. Антимикробное действие слезной жидкости, обусловленное содержанием иммуноглобулинов, компонентов комплемента, лактоферрина, лизоцима и бета-лизина, в сочетании с функцией век снижает бактериальную контаминацию поверхности глаза. Формирование инфекционно-воспалительных заболеваний конъюнктивы у детей происходит вследствие ослабления местного иммунитета; либо как осложнение острых респираторных вирусных инфекций. В связи с широким и бесконтрольным применением антибактериальных препаратов развивается множественная устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, что приводит к формированию хронических бактериальных конъюнктивитов. Важным фактором, приводящим к хронизации конъюнктивита, является общность микрофлоры сообщающихся слизистых – конъюнктивы и слизистой носа и зева. Кроме того, у больных с хроническими формами бактериальных конъюнктивитов наблюдается медленный ответ организма на местную антибиотикотерапию. В связи с этим выбор оптимального антибактериального препарата для проведения адекватной антибиотикотерапии остается весьма актуальным.

Цель исследования. Изучение характера этиологически значимой микрофлоры конъюнктивальной полости у детей с бактериальными блефароконъюнктивитами; определение профиля резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Материалы и методы. Проводилось микробиологическое исследование биоматериала – отделяемого конъюнктивальной полости 59 детей в возрасте от 1 года до 10 лет. Идентификация *Streptococcus pneumoniae*, бактерий рода *Staphylococcus* основывалась на совокупности морфологических, культуральных и биохимических признаков. Чувствительность к антибактериальным препаратам исследовалась согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2015 г). Молекулярное серотипирование штаммов *S. pneumoniae* методом мультиплексной ПЦР (МППЦР) изучалось с использованием праймеров наиболее значимых в эпидемиологическом аспекте серотипов (ООО «Синтол», Россия).

Результаты. По данным анализа результатов микробиологического обследования выявлено, что доминирующей микрофлорой является грампозитивные кокки. *Staphylococcus* spp. выделены у 74,3% пациентов; в том числе коагулазонегативные стафилококки – в 63,4% случаях; *Staphylococcus aureus* – у 10,9% детей. Обнаружен рост *Streptococcus pneumoniae* у 17 детей (28,8%), у 7 пациентов – в монокультуре; степень обсемененности – 10^3 - 10^4 КОЕ/мл. У 10 детей выявлен ассоциативный характер микробиоценоза конъюнктивальной полости – сочетание *Streptococcus pneumoniae* с коагулазонегативными стафилококками. При этом у 5 пациентов пневмококки колонизировали и конъюнктивальную полость, и носоглотку одновременно. Анализ спектра чувствительности конъюнктивальных пневмококков (n=29) выявил, что к тобрамицину чувствительны 89,6% изолятов. Высокая антипневмококковая активность зарегистрирована у фторированных хинолонов: к офлоксацину – 86,2%, к левофлоксацину – 86,2%. Менее эффективным оказался гентамицин (75,8%). Доли чувствительных к хлорамфениколу и тетрациклину изолятов составили 68,9% и 65,5% соответственно. Результаты серотипирования 5 штаммов *Streptococcus pneumoniae*: 2 изолята отнесены к серотипу 6А, 2 изолята – к серотипу 19А и 1 штамм – к серотипу 33F. Анализ антибиотикочувствительности стафилококковой микрофлоры показал: 95 % штаммов чувствительны к фузидовой кислоте; 87,2 % – к левофлоксацину; 72,5% – к ципрофлоксацину; 70,5% – к хлорамфениколу. Высокую антистафилококковую активность проявляют гентамицин (78,4%) и тобрамицин (70,9%). Тетрациклин и эритромицин наименее активны в отношении *Staphylococcus* spp.: 52,4% чувствительны к тетрациклину, 29,7% чувствительны к эритромицину.

Выводы.

1. Выявлено, что в этиологической структуре возбудителей бактериальных блефароконъюнктивитов преобладает кокковая грамположительная микрофлора: бактерии рода *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus pneumoniae*.

2. Высокоактивными антипневмококковыми препаратами являются аминогликозиды и хинолоны.

3. Высокоактивными антистафилококковыми препаратами являются фузидовая кислота, фторхинолоны и аминогликозиды.

4. У пациентов с патологией ЛОР-органов наблюдается персистенция бактерий в конъюнктивальной полости и в носоглотке, что требует санации смежных биотопов. Для проведения адекватной этиотропной терапии необходимо своевременное микробиологическое обследование пациентов с блефароконъюнктивитами.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ ИЗОЛЯТОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Кабанов Д.А.¹, Абасева И.С.², Марданова А.М.¹

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет», г. Казань, Россия

² КДЛ МСЧ КФУ, г. Казань, Россия

Pseudomonas aeruginosa (Синегнойная палочка) – грамотрицательная бактерия, широко распространенная в природе, вызывающая широкий спектр острых и хронических инфекций. По данным Карты антибиотикорезистентности России (map.antibiotic.ru) на *P. aeruginosa* приходится до 20% всех внутрибольничных инфекций, что делает его наиболее актуальным внутрибольничным патогеном. Хотя в структуре возбудителей внебольничных инфекций на долю *P. aeruginosa* приходится всего около 2%, общая его распространенность среди всех типов инфекций достигает 14%. Это ставит синегнойную палочку в один ряд с такими патогенами, как *Streptococcus pneumoniae* (15%), *Staphylococcus aureus* (13%) и *Escherichia coli* (13%).

P. aeruginosa имеет сложную регуляторную систему, секретирует большое количество различных метаболитов, обеспечивающих широкую адаптивную способность данного микроорганизма, а так же белков, ответственных за токсический эффект, вирулентность, нарушение иммунных функций клеток и инактивацию антибиотиков (Klockgether *et al.*, 2017).

Токсические вещества, секретируемые *P. aeruginosa*, преимущественно представлены протеолитическими ферментами, гемолизинами и непосредственно экзотоксинами (Shaan *et al.*, 2013). Основными токсинами являются токсин А, подавляющий синтез белка, а также экзотоксин S. Пиоцианины и пиовердин, связывая ионы металлов во внешней среде, оказывают цитотоксический эффект (Crousillat *et al.*, 2015).

Способность к биопленкообразованию – важный признак, связываемый с персистенцией, патогенностью и устойчивостью к стрессовым факторам среды. Для штаммов *P. aeruginosa* характерно сложное строение биопленок, разнообразие входящих в нее компонентов относительно типа инфекции (Shaan *et al.*, 2013). Существование штаммов этого микроорганизма в планктонной форме чаще связывают с острыми инфекциями, а в ассоциированной с биопленками – с хроническими (Crousillat *et al.*, 2015).

Целью исследования была сравнительная характеристика цитотоксичности и биопленкообразования клинических изолятов *P. aeruginosa*.

Материалы и методы. Объектом исследования были 20 штаммов *P. aeruginosa*, 10 из которых были аннотированы как нозокомиальные, а 10 – как внебольничные. В качестве нозокомиальных возбудителей рассматривали изоляты, выделенные от пациентов, у которых симптомы инфекции проявлялись более чем через 48 часов после госпитализации пациента. 7 штаммов были выделены у больных с локализацией инфекции в нижних мочевыводящих путях. 6 штаммов были ассоциированы с пневмонией. 4 штамма были выделены от больных с интерабдоминальной инфекцией и 3 штамма были ассоциированы с различными хирургическими раневыми инфекциями. Штаммы были выделены в период с февраля по апрель 2018 года и идентифицированы в КДЛ МСЧ КФУ. Штаммы идентифицированы на основании классических культуральных и биохимических тестов.

Профиль резистентности штаммов исследовали с помощью диско-диффузионного метода на агаризованной среде Мюллера-Хинтона. Результаты оценивали по диаметру зон подавления роста согласно стандартам EUCAST.

Биопленки выращивали на поверхности полистиролового 96-луночного планшета в течение 24 часов на среде Мюллера-Хинтона. Эффективность образования биопленок оценивали по степени связывания красителя генциан фиолетового. Для этого биопленки промывали трижды водой для освобождения от планктонной культуры и окрашивали в течение 15 мин 0.1% генциан фиолетовым. Затем лунки промывали для удаления не связавшегося красителя и элюировали 200 мкл этанола. Определяли оптическую плотность раствора на спектрофотометре BioRad xMark Microplate при длине волны 600 нм. Значения оптической плотности красителя принимали за тотальную плотность биопленки, ранжировали в зависимости от абсолютного значения и стандартного отклонения. В качестве негативного контроля использовали пустую лунку планшета. Учитывая соответствующее значение контроля k, принимали значение $k+3\sigma$ за отсутствие биопленки. Эксперимент проводили не менее чем в 5 повторах для каждого штамма.

Цитотоксичность изолятов *P. aeruginosa* изучали на монослое клеток уротелия мочевого пузыря (T24), выращенного на 24-луночном планшете. Конфлюентность составляла 4×10^5 клеток. Монослой уротелия выращивали на среде Альфа-МЕМ, эксперимент проводили в 500 мкл среды. К культуре клеток в питательной среде вносили суточную культуру бактерий (в

соотношениях эукариотических клеток к бактериальным 1:50 и 1:100) и инкубировали в течение 1 часа при 37° С. Повреждающее действие бактерий на монослой оценивали визуально микроскопически с помощью инвертированного микроскопа Carl ZEISS: Axio Lab. Цитотоксичность детектировали с помощью красителя трипанового синего, окрашивающего ядра мертвых клеток монослоя. Цитотоксичность выражали в процентах мертвых клеток относительно всех клеток в поле зрения.

Результаты и обсуждение. Анализ профиля резистентности исследуемых штаммов показал, что наибольшую чувствительность изоляты проявляли к меропенему и имипенему (95%). По данным карты резистентности РФ (map.antibiotic.ru) за период 2010-2018 г резистентность к меропенему и имипенему составляла 50% и 57% соответственно. Таким образом, резистентность к карбопенемам исследованного пула штаммов значительно ниже, чем средняя по России.

Меньше всего чувствительных штаммов было к амикацину и гентамицину (25%). Чувствительные штаммы были выделены из проб от пациентов с пневмонией, инфекцией нижних мочевых путей и отитом. По данным литературы, аминогликозиды являются достаточно токсичными антимикробными препаратами и используются зачастую только в случае тяжелых инфекций и в качестве сочетанной терапии. Согласно статистике по РФ резистентность к аминогликозидам наблюдается у ~50-55% штаммов псевдомонад, тогда как в случае наших штаммов резистентность была значительно выше.

45% изолятов оказались резистентными к ципрофлоксацину и левофлоксацину. 60% изолятов были резистентны к цефипиму и цефтазидиму. Только 25% штаммов имели 100% чувствительность ко всем исследованным препаратам.

Была исследована способность штаммов *P. aeruginosa* к образованию биопленок. Показана большая дисперсия признака между исследованными группами. Штаммы различались по способности к биопленкообразованию. Отметим, что наименьшая плотность биопленок показана для штаммов, ассоциированных с пневмонией.

Для дальнейших экспериментов по цитотоксичности были отобраны пять штаммов, выделенных от пациентов с урологической, раневой, интерабдоминальной инфекциями, а также от пациента с пневмонией. Эти изоляты обладали наиболее высокой способностью к биопленкообразованию. Цитотоксичность исследовали на культуре клеток уротелия мочевого пузыря. Скрининг при концентрации клеток 1:100 не выявил корреляции между цитотоксичностью и способностью к образованию биопленок. Показана наибольшая токсичность двух штаммов – урологического *P. aeruginosa* 5 (до 90% мертвых клеток в монослое) и ассоциированного с раневой инфекцией изолята *P. aeruginosa* 28 (до 50%). Для остальных штаммов показан незначительный повреждающий эффект на монослой, предположительно связанный с протеолитической активностью изолятов. Цитотоксичность штаммов была незначительной. Все штаммы обладали протеолитической активностью на молочном агаре в разной степени. Однако не обнаружили корреляции между интенсивностью протеолиза молочного белка изолятом и его токсичностью по отношению к клеткам эукариот.

Также исследовали цитотоксичность различных урологических штаммов по отношению к клеточной линии T24 при соотношении эукариотических и бактериальных клеток равном 1:50. Показали умеренное повреждающее действие на монослой исследованных изолятов кроме штамма 5. Цитотоксичность этих штаммов в среднем варьировала в пределах 3-7%, тогда как цитотоксичность штамма *P. aeruginosa* 5 при данной инфекционной дозе составляла 60±10% с сильным повреждающим эффектом на монослой.

Исследовали действие внеклеточных метаболитов штамма *P. aeruginosa* 5 на монослой культуры. Для этого культуральную жидкость 24-часовой культуры бактерий добавляли к клеточной линии T24 в количестве 100 мкл к 400 мкл среды. Показали высокую цитотоксичность (50±12%) культуральной жидкости. Однако бесклеточная культуральная жидкость оказывала менее интенсивный повреждающий эффект на монослой, в сравнении с бактериальной суспензией. Прогревание культуральной жидкости в течение 20 минут при 65 °С приводило к ингибированию токсического действия на клетки монослоя ($p>0.05$). Число погибших клеток в этом случае не превышало 3-5%. Можно предположить, что экспрессия токсических для монослоя культуры клеток метаболитов не индуцируется в присутствии эукариотических клеток, а

происходит в процессе культивирования бактерий. Метаболиты, оказывающие цитотоксический эффект, чувствительны к повышению температуры.

Таким образом, проведен сравнительный анализ патогенных и вирулентных свойств клинических штаммов *P. aeruginosa*. Способность к биопленкообразованию и цитотоксичность значительно варьировали среди как нозокомиальных, так и внебольничных возбудителей. 50% штаммов обладали множественной устойчивостью. Не выявили корреляции между эффективностью биопленкообразования и резистентностью штаммов к антибиотикам. Выявили уропатогенный изолят *P. aeruginosa* 5 с высоким потенциалом цитотоксичности, что обусловлено действием термочувствительных экзометаболитов.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Список использованной литературы:

1. Crousills, A. Which microbial factors really are important in *Pseudomonas aeruginosa* infections? // A. Crousills, E. Maunders, S. Bartlett // Future microbiol.- 2015. - V. 1. - P. 1789-1800.
2. Klockgether, J. (2017). Recent advances in understanding *Pseudomonas aeruginosa* as a pathogen. // B. Klockgether, B. Tümmler // F1000Research. – 2017. - V. 6. - P.1261-1270.
- Shaan, L. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses // L. Shaan, G. Robert, E. Hancock // Pathogens and Disease. – V. 67. – 2013. – P. 159–173.

АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ ПРИ ПНЕВМОНИЯХ У ОБЕЗЬЯН, СОДЕРЖАЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ

Калашикова В.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
медицинской приматологии», Сочи, Россия

Как известно, пневмонии имеют инфекционную природу, поэтому актуальность изучения спектра возбудителей имеет большое значение. Пневмония может быть обусловлена большим количеством возбудителей (бактериальной и вирусной природы), из которых наиболее часто встречаются грамположительные кокки (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus* и др.), условно-патогенные представители семейства *Enterobacteriaceae*, такие как, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichiacoli*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp.*, а также неферментирующие грамотрицательные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* и др.). В последние годы отмечается увеличение частоты пневмоний, вызванных полимикробными ассоциациями.

В ветеринарной практике проблема пневмоний малоизученна, но также весьма актуальна, вследствие того, что они часто регистрируются у млекопитающих животных (кошки, собаки, лошади). В зарубежной литературе отсутствуют данные по роли *S. aureus* и других бактериальных возбудителей в развитии пневмоний у обезьян. Актуальность исследования возбудителей данной патологии у обезьян, содержащихся в условиях неволи, обусловлена высокой степенью заболеваемости, приводящей к гибели животных.

Цель работы – определение этиологической структуры возбудителей пневмоний у обезьян.

Материалы и методы. Обследовано 1022 обезьяны 11 видов в возрасте от 0 дней (мертворождение) до 35 лет, погибших в период 2014-2017 годы, из них 415 с патологоанатомическим диагнозом «пневмония». Материалом для исследования послужили кусочки лёгких, взятых при постмортальном вскрытии животных. Посев материала проводился на стандартные дифференциально-диагностические среды (Эндо, Плоскирева, желточно-солевой агар, 5%-й кровяной агар). Род и вид выделенных бактериальных культур были определены классическим методом на основе биохимических свойств. Идентификацию стафилококков также осуществляли на основании характеристики колоний, их пигментации, лецитиназной активности,

окраски по Граму и морфологии. Для определения видовой принадлежности использовали тест на плазмокоагулирующую активность и способность ферментировать манит в анаэробных условиях.

Результаты и обсуждения. От пневмонии погибли 415 обезьян, что составило 40,6% от числа всех погибших за указанный период. При изучении бактериальных посевов было установлено, что в 7,7% (32 случая) рост микроорганизмов на питательных средах отсутствовал. Этиологическая структура пневмоний у обезьян характеризовалась разнообразием. Чаще при пневмониях обнаруживали *S. aureus* (39,3%) и *E.coli* (35,9%), *Proteus spp.* выделялся в 13,3% случаев, в 6% встречался *Enterococcus spp.* Другие представители энтеробактерий обнаружены в незначительном проценте случаев (*Klebsiella spp.* – 1,7%, *Providencia spp.* и *Morganella morganii* – 0,3%, *Enterobacter spp.* – 0,9%, *Hafnia alvei* и *Y.pseudotuberculosis* – 0,15%). Неферментирующие *Pseudomonas aeruginosa* также выделены 1,7%.

Микрофлора при пневмониях у обезьян представлена как в монокультуре, так и в ассоциациях. Анализ данных показал, что в монокультуре выделено 174 микроорганизма, из них лидирующую позицию занял *S. aureus* (47,1%), на втором месте – *E. coli* (36,8%), редко выделены *Proteus spp.* (5,8%), *Klebsiella spp.* (4%), *Morganella morganii* (0,6%), *Pseudomonas aeruginosa* (1,2%), *Enterococcus spp.* (4,6%). Микробные ассоциации включали сочетание *S.aureus* с энтеробактериями и представителями семейства *Enterobacteriaceae* между собой. Сочетания *S.aureus* представлены в двух-, трёх- и четырёхкомпонентных ассоциациях. Наиболее часто выявлены сочетания *S. aureus*+*E. coli* (52,4%). Реже встречались сочетания – *S. aureus*+*Proteus spp.* (14,7%), *S. aureus*+*E. coli*+*Proteus spp.* (11,8%), *S. aureus*+*E. coli*+*Enterococcus spp.* (6,5%), *S. aureus*+*Enterococcus spp.* (5,3%). Среди ассоциаций энтеробактерий преобладали сочетания *E. coli*+*Proteus spp.* (56,4%). Четырёхкомпонентные ассоциации представлены единичными случаями.

На основе анализа результатов бактериологического исследования биоматериала обезьян, погибших от пневмоний, такие виды бактерий как *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные из несвойственных им биотопов, оценены нами как возбудители заболевания.

Таким образом, проведённое исследование позволило охарактеризовать этиологическую структуру бактериальных возбудителей пневмоний у обезьян, показать её особенности, установить роль условно-патогенной микрофлоры и значимость *S. aureus*, а также полимикробных ассоциаций, особенно таких, как *Staphylococcus spp.*+*E. coli*, *E. coli*+*Proteus spp.* и *S. aureus*+ *E. coli*+*Proteus spp.* в развитии пневмоний у животных.

Выводы.

1. Пневмонии у обезьян, в основном, имеют полимикробную этиологию и регистрируются в 40,6% случаев гибели животных.

2. Этиологическая структура бактериальных возбудителей пневмоний у обезьян представлена преимущественно *S. aureus* (39,3%) и представителями семейства *Enterobacteriaceae* (53%).

3. Ведущую роль в развитии пневмоний у обезьян играют *S. aureus* (39,3%) и *E. coli* (35,9%). Отмечено значительное число ассоциаций бактериальных культур, из которых наиболее частые – *S. aureus*+*E.coli*, *E. coli*+*Proteus spp.* и *S. aureus*+*E. coli*+ *Proteus spp.*

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГРИБОВ *CANDIDA ALBICANS* В МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЯХ

Лисовская С.А.^{1,2}, Халдеева Е.В.¹

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

В последнее время неуклонно увеличивается заболеваемость кандидозом, при этом наиболее частым возбудителем остается *Candida albicans*. В настоящее время существует ряд проблем в лечении кандидозных инфекций. В первую очередь микроскопические грибы

значительно отличаются от других возбудителей инфекций. Грибы имеют в своем арсенале широкий спектр вирулентности, позволяющий им быстро адаптироваться к факторам агрессии, что связано с появлением штаммов, устойчивых к противогрибковым препаратам. Известно, что факторы патогенности *C. albicans*, основанные на физиологических особенностях грибковой клетки и характере ее взаимодействия с макроорганизмом, способствуют закреплению гриба в организме и развитию кандидозной инфекции.

Инфекционные заболевания, связанные с грибковым поражением органов человека, обычно возникают и развиваются в условиях микробных ассоциаций. Возбудители заболевания, заражая человека, неизбежно включаются в жизнь микробных ассоциаций и вступают в те или иные отношения с микробами-ассоциантами. Известно, что в микробной ассоциации между разными видами складываются сложные и неоднозначные взаимоотношения, в которых тесно переплетаются взаимные влияния участников ассоциаций друг на друга и на макроорганизм. Считается, что ассоцианты могут изменять биологические свойства, стимулировать или тормозить размножение и развитие основного возбудителя. Заселяя кожу и слизистые, грибы и бактерии могут выступать в качестве возбудителей оппортунистических инфекций или провоцировать воспалительные реакции.

Так как, для *C. albicans* характерна фенотипическая нестабильность, а патогенность является мультифакторной, то важным дополнением к этиологической роли гриба в инфекционном заболевании, в условии микст ассоциаций, будет установление патогенности штамма и изучение влияния ассоциантов на факторы вирулентности гриба.

Целью нашей работы являлось изучение влияния бактерий и микромицетов на адгезивные свойства штаммов *C. albicans*, выделенных от больных с наружными формами микозов.

В исследовании использовали: 1 музейный-эталонный штам и 4 штамма *C. albicans*, полученные от пациентов, находящихся на амбулаторном лечении, с клинически подтвержденным диагнозом микоз и кандидоз кожи с высокой степенью обсемененности, выделенные в микст и моно-культурах. Посев проводился на агаризованную среду Сабуро в две чашки Петри, причем в одну чашку добавлялся ципрофлоксацин в количестве 70 ед/мл среды. Засеянные среды выдерживали в термостате при температуре 30⁰С в течение 48-72 часа. Производили расчет численности клеток *C. albicans* в смыве с 1 тампона в 1 мл дистиллированной воды.

Идентификацию грибов проводили микроскопическими и биохимическими методами, проводили тест на образование ростковых трубок. В работе использовались коммерческие тест-системы, основанные на исследовании аукоантограммы: «Auxacolor2» (Bio-Rad).

Оценку адгезивных свойств выделенных штаммов *C. albicans* проводилось на ранее разработанной авторами модели адгезии клеток гриба на нитроцеллюлозную пленку с иммобилизованным гемоглобином. Определение уровня адгезии проводили по разнице начальной и конечной оптической плотности суспензии клеток, а также прямым подсчетом клеток в суспензии с помощью микроскопа при увеличении 10х20, подсчитывали не менее 10 полей зрения.

Для изучения влияния грибов- и бактерий-ассоциантов на свойства штаммов *C. albicans* в работе использовали экстракты условно-патогенных грибов, часто встречаемых в микробиологических посевах, *Aspergillus niger* (AsN), фитопатогенного гриба *Penicillium chrysogenum* (PCh), предоставленные и изготовленные лабораторией по разработке грибковых аллергенов Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии в соответствии стандартам ВФС 42-93-88. Бактериальные клинические штаммы *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*.

Ингибирующее или стимулирующее действие экстрактов мицелиальных грибов на адгезивную способность клеток проводили методом острого опыта. Культуру клеток *C. albicans* раннего возраста засеивали в жидкую питательную среду Сабуро, разлитую в пробирки по 3 мл с разной концентрацией (0,05; 0,1; 0,25; 0,5 мл) соответствующих экстрактов и в течение 48 часов культивировали при температуре 30⁰С. Затем определяли уровень адгезии как описано выше. В качестве контроля исследовали культуру клеток *C. albicans*, выросшую без добавления экстрактов.

Изучение взаимодействия грибов *C. albicans* и бактерий проводили при совместном культивировании в жидкой среде и на поверхности плотной питательной среды и методом

перпендикулярных штриховых посевов для выявления отсроченного антагонизма. Инкубацию проводили при 30⁰С-35⁰С от 20 часов до двух суток на модифицированной среде Сабуро и среде МПА, МПБ.

Результаты исследования. Совместное культивирование штаммов *C. albicans* с экстрактами микромицетов показало наличие стимулирующего действия на адгезивные свойства штаммов *C. albicans*. Однако, эффект достигался только при культивировании штаммов с объемом экстракта 0,1; 0,25 мл, причем добавление 0,25 мл экстракта показало наиболее заметное влияние на адгезивные свойства штамма. Добавление 0,5 мл экстракта микромицетов оказывало выраженное ингибирующее действие на рост штаммов *C. albicans*. Культивирование штаммов с 0,05 мл экстракта не оказывало влияния ни на рост гриба, ни на адгезивные свойства штамма, что, вероятно, обусловлено слишком низкой концентрацией биологически активных соединений. Кроме того, уровень адгезии у штаммов, выделенных в микст культурах, после культивирования их с экстрактами микромицетов, практически не изменялся. У штаммов, выделенных из монокультуры, средний уровень адгезии повысился с 9,5% до 19,6%. Адгезивная способность непатогенного штамма №4 выросла с 1,7% до 5%.

Изучение взаимодействия грибов и бактерий при совместном культивировании в жидкой среде показало, что при совместной инкубации *C. albicans* и *K. pneumoniae*, у *C. albicans* наблюдалось активное формирование трубок прорастания и псевдогиф, деление клеток было более активным. Образовывались бактериально-грибковые конгломераты, за счет адгезии клеток *K. pneumoniae* на сформировавшиеся трубки прорастания у клеток *C. albicans*. Уровень адгезивной активности у грибов *C. albicans* после их совместной инкубации с бактериями *K. pneumoniae* и в их отсутствие показало повышение уровня адгезии в 1,5-2 раза (28,5±0,1 и 10,8±0,4 соответственно).

При совместной инкубации *C. albicans* и *Staph. aureus* морфологических изменений по сравнению с клетками *C. albicans*, выращенными в монокультуре, не наблюдалось. Однако, при сравнении адгезивной активности у грибов *C. albicans*, после их совместной инкубации со штаммами *Staph. aureus* и в их отсутствии, наблюдали повышение уровня адгезии (27,8 ± 0,2; 14,2±0,1 и 10,8±0,4 соответственно).

Кроме того, штамм *C. albicans* №4, обладавший чувствительностью к антимикотическим препаратам, после совместного культивирования с *Staph. aureus* проявил снижение в уровне чувствительности к препаратам производных имидазола (кетоконазол, клотримазол) и полиеновым антибиотикам (нистатин). После инкубации с *K. pneumoniae*, штамм *C. albicans* №4 проявлял выраженную чувствительность к препаратам: нистатин и пимафуцин.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о возможном синергизме *C. albicans* с бактериями- и грибами-ассоциантами при грибковых и полимикробных инфекциях кожи. Показана возможность увеличения одного из факторов патогенности гриба *C. albicans* под влиянием продукции жизнедеятельности других видов грибов при их совместном росте. Увеличение уровня адгезии штаммов дрожжеподобных грибов *C. albicans* в микст-биоценозе и формирование псевдомицелия под воздействием бактерий ассоциантов может привести к возникновению более тяжелой формы кандидоза, что может служить дополнительным критерием в оценке патогенного потенциала гриба *C. albicans*.

ВЛИЯНИЕ СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НА БАКТЕРИОПЛАНКТОН ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ

Меньшикова Е.А., Курбатова Е.М., Архангельская И.В., Левченко Д.А., Сагакянц М. М., Кругликов В.Д., Титова С.В.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Современные тенденции глобализации приводят к возникновению серьезных рисков для здоровья населения, связанных с проблемами обеспечения безопасности водных ресурсов, в том

числе их интенсивным микробиологическим загрязнением в результате сброса сточных вод. Вода открытых водоемов является естественной средой обитания разнообразных микроорганизмов, сосуществующих в виде сложных ассоциаций - микробиоценозов, количественные и качественные характеристики которых могут существенно изменяться в условиях антропогенного воздействия [1].

Ростов-на-Дону – десятый по количеству населения город России и административный центр Южного федерального округа, расположенный на берегу Дона [2]. Поверхностные водоемы г. Ростова-на-Дону подвергаются воздействию множества абиотических и биотических факторов, влияющих на количественный и качественный состав бактериопланктона. Кроме того, геофизические исследования отмечают климатические изменения в регионе, в частности, мягкие малоснежные зимы, рост температуры в весенне-осенний период и снижение количества осадков, что может оказать благоприятный эффект на развитие патогенной микрофлоры [3].

Целью работы явилось изучение влияния сезонных колебаний температуры на видовой состав бактериопланктона природных водоемов г. Ростова – на – Дону.

В работе использовали данные мониторинговых исследований проб воды в двух стационарных точках г. Ростова-на-Дону (река Дон, правый берег у Державинского спуска; река Темерник - Ботанический сад, у моста) - в местах сброса аварийных стоков, с мая 2017 г. по май 2018 г. В весенне-осенний период забор проб проводили 1 раз в 14 дней, осенью, зимой и весной периодически - 1 раз в сезон. Температуру воды измеряли в момент забора проб в водоеме. Выделение, идентификацию и чувствительность/устойчивость к антибактериальным препаратам микроорганизмов проводили в соответствии с действующими нормативными документами [3,4]. Кроме того, для родовой и видовой идентификации микроорганизмов использовали программно-аппаратный комплекс MALDI Biotyper. Масс-спектрометрический анализ проводили с использованием MALDI-TOF масс-спектрометра Microflex («Bruker Daltonics», Германия). Для записи, обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение фирмы «Bruker Daltonics» (Германия): flexControl 2.4 (Build 38) и flexAnalysis 2.4 (Build 11).

В ходе проведения мониторинговых исследований микробиоценоза воды поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону в период с мая 2017 по май 2018гг. было выделено и идентифицировано 20 родов и 36 видов микроорганизмов. Анализ полученных данных показал, что микробиоценоз исследуемых водоемов значительно изменялся в зависимости от сезона и температуры воды. Стоит отметить, что в весенне – летний период 2017 года погода была нехарактерной для нашего региона, в мае-июне шли ливневые дожди и средняя температура в реках Дон и Темерник колебалась от 15⁰ С до 21⁰ С и от 16⁰ С до 23⁰ С соответственно. При температуре воды 16-19⁰ С из-за ливневых дождей и сброса сточных вод в пробах воды из реки Дон доминировали представители семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* - 41%) и *Bacillaceae* (*Exiguobacterium aurantiacum* - 31,8%), остальной процент изолированных микроорганизмов приходился на *Acinetobacter schindleri*, *Bacillus pumilus*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia odorifera*, *Klebsiella pneumoniae*. В этот же период в реке Темерник также преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* - 40%), остальной бактериопланктон составляли - *Klebsiella pneumoniae*, *Halomonas aquamarina*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Acinetobacter lwoffii*. При повышении температуры воды до 20⁰ С в водоемах доминировал род *Aeromonas* (от 50 до 76 % от ОМЧ – общего микробного числа в пробе), представленный видами *A. caviae*, *A. veronii*, *A. hydrophila*, *A. media*. В таких климатических условиях *Vibrio cholerae* не выделялись из обеих исследуемых точек.

При повышении температуры воды до 23-27⁰С в июле 2017 года произошла смена доминирующих видов бактериального сообщества. Процентная составляющая представителей рода *Aeromonas* снизилась ниже 50%. В августе месяце доминировал род *Acinetobacter*, представленный видом *A. lwoffii*. В это же время из проб исследуемых точек выделяли *V. cholerae nonO1/nonO139*. Понижение температуры воды до 19⁰С в реках Дон и Темерник в конце сентября привело к очередной смене микробиоценоза в сторону доминирования микроорганизмов рода *Aeromonas*, но *V. cholerae nonO1/nonO139* еще присутствовали в исследуемых пробах.

При дальнейшем понижении температуры воды до 16⁰С в сентябре, 7-8⁰С в октябре, 7⁰С в декабре и 4-5⁰С в марте в пробах воды из исследуемых точек по-прежнему доминировали

представители рода *Aeromonas* (составляли, соответственно, 65% и 88% от ОМЧ). Результаты исследования этих проб на наличие холерных вибрионов были отрицательными. Нами установлено, что в осеннее – зимний период в бактериопланктоне поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону появляются новые виды микроорганизмов, которых не обнаруживали в весенне – летний период при температуре выше 16⁰С. При 7⁰С в реке Дон идентифицировали *A. euerenophila*, *Listeria graui*, *Novosphingobium resinovorum*, *Arthrobacter pyridinolis*, *Propioniferax innocua*, *Lactobacillus brevis*, *Shewanella baltica*, *Pseudomonas boreopolis*- в реке Темерник - *Corynebacterium xerosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Citrobacteri freundii*, *Pseudomonas flavescens*, *Lelliottia amnigena*, *Filifactor villous*, *Bacillus subtilis*. Мониторинговые исследования поверхностных водоемов в течение года позволили установить, что доминирующие виды микроорганизмов *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Exiguobacterium* относятся к условно-патогенным микроорганизмам.

Одним из важнейших аспектов фенотипической характеристики условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из поверхностных водоемов крупного мегаполиса, является их резистентность к антимикробным препаратам. Нами установлено, что представители рода *Aeromonas*, циркулирующие в водоемах круглый год, были чувствительны к левомицетину, гентамицину, доксициклину и устойчивы к ампициллину, цефалексину и цiproфлоксацину, культуры, относящиеся к роду *Acinetobacter* – чувствительны к левомицетину, гентамицину, доксициклину, ампициллину, цiproфлоксацину и промежуточно устойчивы к цефалексину. Штаммы *V. cholerae nonO1/nonO139*, изолированные в ходе мониторинга речной воды г. Ростова-на-Дону, были промежуточно устойчивы к цефалексину и чувствительны ко всем выше перечисленным антибактериальным препаратам.

Таким образом, выявлена взаимосвязь видового состава бактериопланктона поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону от сезона и температурных колебаний, под влиянием которых происходит смена доминирующих микроорганизмов. Цикличность обнаружения холерных вибрионов в водоемах – это результат тесной взаимосвязи их жизнедеятельности с сезонными изменениями окружающей среды. Характеристика этой среды складывается из многочисленных экологических факторов, важнейшим из которых является температура, сезонные изменения которой влияют не только на количественный состав и концентрацию микроорганизмов, но и на взаимоотношения в межмикробных ассоциациях. Кроме того, холерные вибрионы являются сочленами сложных водных экосистем, и любые изменения в гидробиоте под воздействием температуры или других факторов также могут вызывать изменения экологии этих патогенных бактерий обитателей водной среды. Определение чувствительности/резистентности к антибактериальным препаратам микроорганизмов, циркулирующих в водных экосистемах крупного города и подвергающимся антропогенному воздействию, является неотъемлемой задачей микробного мониторинга.

Список использованной литературы:

1. Анганова, Е.В. Гетерогенность микробных сообществ поверхностных водоемов по показателям антибиотикорезистентности бактерий / Е.В. Анганова, Е.Д. Савилов, М.Ф. Савченков, Н.Н. Чемезова // Гигиена и санитария. – №4. – 2014. – С.19-22.
2. <http://greenologia.ru/eko-problemy/goroda/rostov-na-donu.html>
3. Панов, В.Д. Климат Ростовской области: вчера, сегодня, завтра / В.Д. Панов, П.М. Лурье, Ю.А. Ларионов // Монография – 2006. – Ростов-на-Дону. – 488с.
3. Методические указания МУК 4.2.2218-07: Лабораторная диагностика холеры: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2007. – 87 с,
4. Методические указания МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно - паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». – 2004. – 108с.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ЖГУТИКОВАНИЕ УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ *MORGANELLA MORGANII*

Миннуллина Л.Ф.¹, Тошева З.С.¹, Евтюгин В.Г.², Марданова А.М.¹

Несмотря на все успехи медицины, инфекционные заболевания на сегодняшний день продолжают оставаться актуальной проблемой для здравоохранения. В данной ситуации особое значение приобретают нозокомиальные и внебольничные инфекции, причиной которых, в большинстве случаев, являются условно-патогенные возбудители [1]. Несмотря на то, что на первый взгляд слабовирулентные микроорганизмы не могут представлять большой опасности для общества, характерное для них отсутствие специфичности, выраженная гетерогенность и изменчивость популяции, а также способность быстро приобретать резистентность к антимикробным веществам влекут за собой трудности в профилактике и лечении подобных заболеваний.

Morganella morganii – представитель нового семейства *Morganellaceae* (согласно старой классификации, его относили к семейству *Enterobacteriaceae*) [2]. Данная бактерия является возбудителем широкого спектра инфекций (абсцесс мозга, раневые инфекции, сепсис, перитонит и др.), среди которых основную группу составляют инфекции мочевыводящих путей (ИМП) [3]. Известно, что наличие жгутиков является важным фактором вирулентности. В частности, подвижные штаммы возбудителей ИМП способны распространяться из мочевого пузыря в верхние отделы мочевыводящих путей и колонизировать их [4].

Согласно данным литературы, многие гены вирулентности находятся под контролем термочувствительных регуляторов, и их экспрессия наблюдается только в условиях организма хозяина. Так, показано влияние температуры среды на жгутикование и формирование биопленок штаммами условного патогена *Acinetobacter baumannii* [5].

Цель работы заключалась в определении влияния температуры культивирования на жгутикование штаммов *M. morganii*.

Материалы и методы. Клинические изоляты *M. morganii* 1 и 190, предоставленные для работы ООО ЛДЦ «Биомед» г. Казани, были выделены из мочи амбулаторных пациентов. Бактерии культивировали на среде LB (триптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, NaCl – 5 г/л) при 30 °C и 37 °C в течение 24 часов с интенсивностью качания 200 об/мин. В качестве инокулята использовали 12-часовые культуры бактерий, выращенные на среде LB при 37 °C.

Плавающую подвижность бактерий определяли на среде LB, содержащей 0.33% агара. Для этого на поверхность среды наносили 2 мкл 24-часовой культуры бактерий, выращенной при 30 °C или 37 °C. Чашки со средой оставляли на 15 мин до полной абсорбции суспензии бактерий средой, после чего культивировали в термостате при 30 °C или 37 °C в зависимости от варианта опыта. Подвижность оценивали по изменению диаметра растущей колонии.

Подготовку проб для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) проводили следующим образом: 24-часовую культуру бактерий осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 10 °C и 2000 об/мин, после чего промывали 3 раза 0.1 М натрий-фосфатным буфером [6]. Суспензию бактерий в натрий-фосфатном буфере наносили на подложку, высушивали и изучали с помощью просвечивающего электронного микроскопа Hitachi HT7700 Exalens на базе Междисциплинарного центра «Аналитическая микроскопия» КФУ.

Результаты и их обсуждение. Провели сравнительную характеристику двух уропатогенных изолятов *M. morganii*, различающихся по гемолитической активности и адгезивным свойствам. Штамм *M. morganii* 1 обладает низкой гемолитической и адгезивной активностью, а штамм *M. morganii* 190 – высокой (наибольшую адгезивность проявляли 24-часовые культуры бактерий). Исследовали подвижность бактерий *M. morganii* 1 и *M. morganii* 190 в полужидкой среде при разных температурах культивирования: 30 °C и 37 °C. Было показано, что оба штамма подвижны при 30 °C: через 7 часов культивирования диаметр колоний *M. morganii* 1 и *M. morganii* 190 достигал 50 и 45 мм соответственно. При повышении температуры

культивирования до 37 °С наблюдали сильное ингибирование подвижности штамма 190 (диаметр колонии через 7 часов роста достигал всего 13 мм). Таким образом, выявлены различия между штаммами по влиянию температуры на жгутиковую подвижность бактерий: штамм *M. morganii* 1 способен к выраженной подвижности в полужидкой среде при обеих температурах, в то время как штамм *M. morganii* 190 проявлял способность к подвижности только при 30 °С.

Изучали морфологию клеток 24-часовых планктонных культур *M. morganii* 1 и *M. morganii* 190, выращенных при 30 °С и 37 °С, с помощью ТЭМ. Было показано, что при температуре культивирования 30 °С на поверхности клеток обоих штаммов обнаруживаются жгутики. Причем бактерии штамма *M. morganii* 1 характеризовались большим количеством жгутиков, чем клетки штамма *M. morganii* 190. При температуре культивирования 37 °С жгутики обнаруживались только на поверхности клеток штамма *M. morganii* 1 и в меньшем количестве. При этих условиях жгутики на поверхности клеток штамма *M. morganii* 190 не были обнаружены, что может свидетельствовать о том, что экспрессия жгутиков у этого штамма подавляется при высокой температуре.

Таким образом, была выявлена корреляция между подвижностью штаммов *M. morganii* при разных температурах и наличием жгутиков на поверхности их клеток. Показали, что имеет место штаммовое различие в регуляции подвижности бактерий и их жгутиковании при разных температурах роста. Полученные данные позволяют нам говорить о возможности регуляции экспрессии генов, ответственных за жгутикование *M. morganii*, термочувствительными регуляторами.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Список использованной литературы:

1. Cardoso, T. Classification of healthcare-associated infection: a systematic review 10 years after the first proposal / T. Cardoso, M. Almeida, N. D. Friedman, I. Aragão, A. Costa-Pereira, A. E. Sarmento, L. Azevedo // BMC Med. – 2014. – V. 40, No. 12. - doi: 10.1186/1741-7015-12-40.
2. Adeolu, M. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘*Enterobacteriales*’: proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. / M. Adeolu, S. Alnajjar, S. Naushad, R. S. Gupta // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2016. – V. 66, No. 12. – P. 5575–5599
3. Liu, H. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen / H. Liu, J. Zhu, Q. Hu, X. Rao // Int. J. Infect. Dis. – 2016. – V. 50. – P. 10-17.
4. Lüthje, P. Virulence factors of uropathogenic *E. coli* and their interaction with the host / P. Lüthje, A. Brauner // Adv. Microb. Physiol. – 2014. – V. 65. – P. 337-372.
5. De Silva, P. M. Effect of incubation temperature on antibiotic resistance and virulence factors of *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 / P. M. De Silva, P. Chong, D. M. Fernando, G. Westmacott, A. Kumar // Antimicrob. Agents Chemother. – 2017. – V. 62, No. 1. - doi: 10.1128/AAC.01514-17. Print 2018 Jan.
6. Kuo, J. Electron microscopy: methods and protocols / J. Kuo – 2nd ed. – NJ: Humana Press Inc, 2007. - 608 pp.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СПОНТАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ МУТАНТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ

Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Пасюкова Н.И., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Во многих лабораториях мира ведутся интенсивные исследования по выяснению механизмов формирования устойчивости микроорганизмов с целью поиска путей ее преодоления,

а также по выявлению новых мишеней в бактериальной клетке, воздействие на которые будет способствовать прекращению жизненного цикла микробов в организме хозяина или снижению их патогенных свойств [1, 2]. Очевидно, что для подобных экспериментов необходимы антибиотикоустойчивые мутанты, изолированные либо из природных источников, либо полученные в лабораторных условиях.

Возбудитель туляремии (*Francisellatularensis*) -тяжелого инфекционного заболевания человека и животных – характеризуется природной устойчивостью к β -лактамным антибиотикам (пенициллины и цефалоспорины), макролидам (*F. tularensis* subsp. *holarctica*), клиндамицину и полимиксину. [3, 4, 5]. Поэтому арсенал средств этиотропной терапии туляремии ограничен и включает аминогликозиды, фторхинолоны, тетрациклины и рифампицин. Возможность формирования устойчивости туляремийного микроба к рекомендованным антибиотикам изучена крайне недостаточно.

Необходимо учитывать еще один аспект, а именно, включение туляремийного микроба в список наиболее опасных агентов биотерроризма, который не исключает вероятность применения антибиотикорезистентных вариантов. Лечение инфекции, обусловленной подобными формами возбудителя, будет сопряжено со значительными трудностями [6, 7, 8, 9].

Целью настоящего исследования явилось изучение спонтанных мутантов туляремийного микроба, резистентных к левофлоксацину и рифампицину.

Первый этап исследования включал получение одномаркерных спонтанных мутантов, устойчивых к антибиотикам, из вирулентных штаммов *F. tularensis* трех основных подвидов (*F. tularensis* subsp. *tularensis*, subsp. *mediasiatica*, subsp. *holarctica*). Для этого после определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) препаратов бактерии выращивали на средах, содержащих концентрации, заведомо превышающие МПК в 2-4-8 раз.

Как установлено, резистентность к рифампицину (Rif^R) у туляремийного микроба формируется с помощью одноступенчатой мутации. В частности, бактерии, способные расти на среде с содержанием антибиотика, незначительно превышающего МПК, приобретают устойчивость к высоким концентрациям рифампицина (≥ 500 мкг/мл). Поклоновый анализ выявил однородность популяции по этому признаку. Частота спонтанных мутаций для штамма subsp. *holarctica* составляла 10^{-6} , а для subsp. *tularensis* – 10^{-7} .

В противоположность этому, устойчивость к левофлоксацину (Lev^R), достигается только с помощью многоступенчатых пересевов культур на средах, содержащих возрастающие концентрации антибиотика. Обращает на себя внимание тот факт, что индукция антибиотикорезистентности зависела от подвида микроба. Так, наиболее быстро высокий уровень устойчивости (МПК ≥ 50 мкг/мл) формировался у штаммов голарктического подвида, тогда как у штаммов subsp. *tularensis* этот процесс протекал более медленно. Популяционный анализ измененных вариантов показал, что субкультуры характеризовались разным уровнем резистентности к левофлоксацину.

Полученные антибиотикорезистентные формы по своим культурально-морфологическим и биохимическим свойствам не отличались от родительских антибиотикочувствительных штаммов.

Одной из важных характеристик измененных вариантов бактерий является сохранение/утрата ими патогенности для чувствительных хозяев. В этой связи проведена оценка вирулентности штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503 исходный, Lev^R и Rif^R и *F. tularensis* subsp. *tularensis* Schu исх. и Lev^R- мутантов на модели чувствительных лабораторных животных (белые мыши). Как установлено, все полученные из вирулентного штамма 503 АВ^R - варианты вызывали летальную инфекцию у белых мышей (DCL ≤ 10 м.кл.), однако средняя продолжительность жизни животных несколько удлинялась по сравнению с родительским штаммом (на 2-3 суток). Изолированные от павших животных культуры стабильно сохраняли маркеры устойчивости к антибиотикам. В то же время варианты штамма Schu, резистентные к левофлоксацину, утратили вирулентность для мышей даже при дозе заражения 10^6 м.кл./мышь. Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов, которые показали резкое снижение вирулентности у ципрофлоксацинустойчивых мутантов штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* [8, 9]. Нельзя исключить, что различия в биологических свойствах у вариантов туляремийного микроба разной подвидовой принадлежности обусловлены мутациями в

различных участках генов гиразы (*gyrA* или *gyrB*), ответственных за формирование устойчивости бактерий к фторхинолонам. При этом в зависимости от участка повреждения они могут сохранять или изменять патогенность для чувствительных хозяев.

Анализ изучаемых штаммов с помощью ПЦР с авторскими праймерами к гену *gyrA* в формате реального времени с последующим плавлением ампликонов выявил, что культура голярктического штамма, резистентная к фторхинолону, отличается на 1,5° С по температуре плавления от исходной родительской культуры. У мутанта штамма Schu также зарегистрирована разница между исходным и устойчивым вариантами на 0,6° С. Это может свидетельствовать в пользу наличия у антибиотикорезистентных форм *F. tularensis* точечных мутаций в гене *gyrA*.

Таким образом, показана возможность получения в лабораторных условиях спонтанных одномолекулярных антибиотикоустойчивых мутантов возбудителя туляремии. Можно предположить, что подобные варианты при широком использовании фторхинолонов в последние годы могут появиться и в природных условиях. Полученные нами измененные вирулентные варианты туляремийного микроба могут быть использованы в качестве модельных с целью разработки адекватных схем лечения инфекции, обусловленной фторхинолонрезистентными штаммами.

Список использованной литературы:

- 1 Brooks, B.D. Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance / B.D. Brooks, A.E. Brooks // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2014. – Vol. 78. – P. 14–27.
- 2 Brown, E.D. Antibacterial drug discovery in the resistance era / E.D. Brown, G.D. Wright // *Nature*. – 2016. – Vol. 529. – P. 336–343.
- 3 Олсуфьев, Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии / Н.Г.Олсуфьев // М.: Медицина, 1975. – 200 с.
- 4 Павлович, Н.В. Биологические свойства и факторы патогенности *Francisellatularensis*: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. - Саратов, 1993. – 37 с.
- 5 Sutura, V. A new dye uptake assay to test the activity of antibiotics against intracellular *Francisella tularensis* / V. Sutura, Y. Caspar, S. Boisset, M. Maurin // *Front. Cell Infect. Microbiol.* – 2014. – Vol. 4, № 36. – P. 1–7.
- 6 McLendon, M.K. *Francisella tularensis* Taxonomy, Genetics and Immunopathogenesis of Potential Agent of Biowarfare / M.K. McLendon, M.A. Apicella, L.-A.H. Allen // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2006. – Vol. 60. – P. 167–185.
- 7 World Health Organization. WHO Guidelines on Tularemia. – Switzerland. – 2007. – 125 p.
- 8 Bozue, J. A ciprofloxacin resistant strain of *Francisella tularensis* is highly attenuated in murine models of tularemia / J. Bozue, T. Kijek, R. Toothman et al. // *Abstr. 8th Int. Conf. on Tularemia*. – Opatija, Croatia. – 2015. – P. 66.
- 9 Maurin, M. Antibiotic resistance in *Francisella tularensis*: *in vitro* and *in vivo* evaluation / M. Maurin, Y. Caspar, V. Sutura et al. // *Abstr. 8th Int. Conf. on Tularemia*. – Opatija, Croatia. – 2015. – P. 98.

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ

Погожова М. П., Гаевская Н. Е., Водопьянов А. С., Писанов Р. В., Тюрина А. В., Романова Л. В.,
Кочеткова А. О.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
г. Ростов-на-Дону, Россия

В современной медицине по-прежнему актуальными остаются кишечные инфекции, особенно вызываемые холерным вибрионом. Холера существует как приоритетная проблема мирового здравоохранения в связи с эпидемиями на различных континентах, выявлением вибрионов с измененным геномом и повышением уровня антибиотикорезистентности холерных вибрионов [1].

Исследования по изучению бактериофагов, выполненные за последние 50-60 лет, позволили широко использовать их для решения многих задач в микробиологии, вирусологии и медицине. Поэтому учение о фагах, развивающееся вначале как узкая область медицинской микробиологии, в настоящее время приобрела общебиологическое значение. Интерес к холерным фагам у многих исследователей связан с возникновением устойчивых к антибиотикам штаммов вибрионов. Кроме того, в настоящее время в результате молекулярно-генетических исследований была выявлена связь генома патогенности бактерий с профагом и отмечена возможность генетического обмена не только между бактериями и фагами, но и между фагами и эукариотами [2].

На данный момент современные технологии позволяют в автоматическом режиме накапливать данные об особенностях генетической организации бактериофагов, сравнивать между собой их гены. Такая информация становится очень полезной. При ее систематизации можно разобраться в механизмах, определяющих регуляцию численности бактерий в природной среде обитания, а также обеспечить целенаправленное использование бактериофагов при создании генетически паспортизированных биопрепаратов для борьбы с патогенными микроорганизмами. Одним из передовых методов по исследованию геномной последовательности бактериофагов является расшифровка генов при помощи полногеномного секвенирования.

Анализ генома холерных бактериофагов позволяет обнаружить либо доказать отсутствие каких-либо генов патогенности [3]. Эти знания нужны при определении пригодности вирусов для создания фаговых препаратов, эффективных в отношении возбудителя инфекции и безопасных для окружающей среды. Важность анализа геномов холерных бактериофагов заключается в понимании молекулярных механизмов трансдукции вирусами ДНК в бактериальную клетку [4].

Цель нашего исследования – анализ геномов холерных бактериофагов при помощи полногеномного секвенирования.

В исследовании использованы бактериофаги Rostov-1 и Rostov-6. Количество и качество выделенной ДНК контролировали электрофоретически в 0,8 % агарозном геле или в 5 %-ном полиакриламидном геле. Качество полученных препаратов фаговой ДНК также исследовали, подвергая их гидролизу эндонуклеазами рестрикции, а также в ПЦР. Отсутствие генетического материала бактерий-хозяев подтверждали методом ПЦР с использованием ген-специфичных или универсальных праймеров. [5] Раствор фаговой ДНК хранили при температуре -20°C.

Для получения полногеномных нуклеотидных последовательностей бактериофагов использовали один из методов высокопроизводительного секвенирования (high-throughput sequencing). ДНК фагов была секвенирована с помощью полногеномного секвенатора Miseq (Illumina).

В ходе биоинформационного анализа проводили анализ качества прочтений секвенированных нуклеотидных последовательностей, исправляли ошибки и выравнивали короткие фрагменты чтения (риды). Для сборки фаговых геномов de-novo использовали риды с качеством прочтения нуклеотидов не ниже Q20 и длиной не менее 50 оснований.

Сборку геномов осуществляли с использованием специализированного программного обеспечения (ассемблеров), позволяющего объединять риды в продолжительные последовательности (контиги). Сравнение собранных геномов бактериофагов с аннотированными геномами известных бактериофагов проводили при помощи алгоритма blastn и доступных баз данных нуклеотидных последовательностей фагов.

Анализ последовательностей геномов холерных экспериментальных бактериофагов показал, что размер их геномов не превышает 40 т.п.н, посторонних последовательностей других фагов не выявлено.

Таким образом, с помощью биоинформационного анализа нуклеиновых кислот последовательностей в их составе выявлены гены характерные для головчатых фагов *Vibrio cholerae*. Исследуемые фаги имеют 83-99% гомологии с геномами фагов представленных в базе данных Genbank (NCBI). Однако, идентичных не было обнаружено, что указывает на их уникальность. Аннотированные последовательности фагов Rostov-1 и Rostov-6 зарегистрированы в международной базе Genbank (NCBI) под номерами MG957431 и MH105773 соответственно.

Список использованной литературы:

1. Титова С. В. Современные подходы к мониторингу холеры / С. В. Титова, Э. А. Москвина, Е. В. Монахова и др. // Холера и патогенные для человека вибрионы. Ростов-на-Дону, - 2015; 28: 10-16.
 2. Крылов В. Н. Роль горизонтального переноса генов бактериофагами в возникновении патогенных бактерий. // Генетика, том №5, 2003, с. 595-620.
 3. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук - Пер. с англ. - М., 1984. - 458 с.
 4. Каттер Э. Бактериофаги: Биология и практическое применение / Под ред. Элизабет Каттер, Александра Сулаквелидзе // Пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. А. В. Летаров. – М.: Научный мир, 2012. – 640 с.: ил.
- Габрилович, И.М. Практическое пособие по бактериофагии / И.М. Габрилович. – Минск, 1968. – С.10.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В ИЗУЧЕНИИ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ НАУКИ

Растатурина Л.Н.

ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, кафедра
общей гигиены с курсом радиационной гигиены г. Казань, Россия

Гигиеническая наука, как раздел медицинской науки, изучает факторы окружающей среды, их воздействие на здоровье человека. Для проведения правильной и обоснованной диагностики заболеваний, назначения грамотного патогенетического лечения необходимо знать комплексное воздействие факторов внешней среды, оказывающих воздействие на организм человека. Очень важно своевременно разрабатывать и проводить профилактические и противоэпидемиологические мероприятия, формировать мотивацию, направленную на сохранение здоровья. Дисциплину «Гигиена» на кафедре общей гигиены с курсом радиационной гигиены студенты лечебного и педиатрического факультетов изучают на 2-3 курсах (4-5 семестр). Для освоения гигиены необходимы знания, полученные на таких дисциплинах, как биология, паразитология, фармакология, анатомия человека, медицинская и биологическая химия, микробиология с иммунологией и вирусологией и ряда других.

Особое место в данном случае занимает микробиология. Студенты должны научиться давать гигиеническую и эпидемиологическую оценку объектам окружающей среды по микробиологическим показателям, определять соответствие микрофлоры факторов внешней среды гигиеническим требованиям, разрабатывать рекомендации по оздоровлению этих объектов путем воздействия на микрофлору и оценивать эффективность проводимых мероприятий. Среди разделов, входящих в программу изучения гигиены эпидемиологический анализ состояния окружающей среды и здоровья человека, гигиенические аспекты профилактики внутрибольничных инфекций, пищевые отравления микробной этиологии, инфекционные заболевания, передающиеся через воду и др. Данные разделы необходимо изучать имея базовые знания по общей и частной микробиологии.

На практических занятиях студенты оценивают безопасность питьевой воды централизованного и местного (децентрализованного водоснабжения) в эпидемическом отношении по следующим показателям: термотолератные колиформные бактерии, общие колиформные бактерии, общее микробное число, колифаги, споры сульфитредуцирующих клостридий, цисты лямблий. Т.к. питьевая вода может быть фактором возникновения и распространения различных инфекционных заболеваний. Таких как холера, брюшной тиф, паратифы, дизентерия, вирусный гепатит, гельминтозы, зоонозы и др., соответствие выше указанных показателей нормативным документам гарантирует эпидемиологическую безопасность воды.

Студенты дают оценку по микробиологическим показателям других факторов окружающей среды: воздуха, почвы, продуктов питания, оборудования и др. Знания по

микробиологии помогают грамотно разобраться с микробными пищевыми отравлениями, паразитарными и инфекционными заболеваниями, путем передачи которых являются продукты питания, разработать профилактические мероприятия.

Владение навыками определять санитарно-показательные микроорганизмы, их индикацию, период выживания, устойчивость во внешней среде позволяют предупредить возникновение и распространение в стационарах болезней, связанных с оказанием медицинской помощи. В случае возникновения внутрибольничных инфекций предложить комплекс санитарно-гигиенических мероприятий по их ликвидации.

В настоящее время микробиология на лечебном и педиатрическом факультетах изучается параллельно с гигиенической наукой, что затрудняет ее освоение студентами.

Таким образом, необходимо дисциплину «Гигиена» изучать после получения студентами знаний по микробиологической науке и перенести обучение гигиены на лечебном и педиатрическом факультетах на более старшие курсы.

ФИЛОТИПИРОВАНИЕ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С КОЛОНОКАРЦИНОМОЙ

*Ржанова И.В.¹, Вафин Р.Р.^{1,2}, Нгуен Т.Н.³, Колтаков А.И.¹, Гатауллин И.Г.^{4,5}, Тюлькин С.В.⁶,
Синягина М.Н.¹, Григорьева Т.В.¹, Ильинская О.Н.¹*

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

²ФГБУН ФИЦ «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия

³Ханойский медицинский университет, Ханой, Вьетнам

⁴ГАОУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ РТ, Казань, Россия

⁵ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» МЗ РФ, Казань, Россия

⁶ФГБУ Татарская межрегиональная ветеринарная лаборатория Россельхознадзора РФ, Казань, Россия.

На сегодняшний день выявлено, что колонизирующие эпителий толстого кишечника бактерии могут являться причиной возникновения и развития колоректального рака, при котором канцерогенное действие связан генотоксическим действием ряда продуцируемых ими токсинов, таких как колибактин, цитотоксический некротизирующий фактор 1 (cytotoxicnecrotizingfactor 1 – CNF1) и др. [1, 2, 3].

Основная часть выявленных цикломодулин-позитивных *E. coli*, полученных с онкотрансформированного эпителия прямой кишки, принадлежит филогруппе В2, в связи с этим филоктипирование изолятов *E. coli* может стать диагностически полезным анализом при онкоскрининге [1, 2, 4].

Предложенная стратегия определения и сегрегации филогрупп по комплексу генов позволяет эффективно идентифицировать 7 известных филогрупп [5]. Подобный анализ филоктипирования *E. coli* совместно с их генотипированием по локусу *fimH*-гена имеет важное значение в молекулярной эпидемиологии инфекций, в том числе ассоциированных с онкологией.

Известно, что адгезия *E. coli* к эпителиальным клеткам посредством фимбрий, несущими специфический белок адгезин *FimH*, отвечающий за тканевой тропизм вплоть до выхода за пределы первичной экологической ниши, влияющий на рост патогенного потенциала бактерий [6].

Основная задача данной работы заключалась в филоктипировании изолятов *E. coli*, полученных из онкотрансформированного и здорового эпителия слизистой оболочки прямой кишки пациентов с колонокарциномой, определении и сегрегации филогрупп по комплексу генов, а также их генотипирование по локусу *fimH*-гена идентификацией *fimH*-типов.

Материалы и методы. Отбор биоптатов осуществлен в соответствии с Разрешением этического комитета Казанской государственной медицинской академии (протокол № 4 от «7» мая 2009 г.). Отобранные биоптаты были инкубированы в течение 1 часа в 1 мл стерильного физраствора при 37 °С с последующим высеванием 100 мкл раствора на мясопептонный агар и

выращиванием до появления колоний. Из 6 образцов микробных культур, выделенных на мясопептонном агаре от трех больных колоректальным раком, попарно, как из злокачественной опухоли слизистой оболочки прямой кишки (образцы Tru26o, Shi1o, Ef15o), так и из нормальной слизистой (образцы Tru26n, Shi1n, Ef15n) экстрагировалась геномная ДНК для последующих молекулярно-генетических исследований. Полимеразная цепная реакция проведена на амплификаторе MJ Mini Gradient Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Детекция результатов ПЦР осуществлена методом горизонтального электрофореза в 2,5% агарозном геле в буфере TBE (pH 8,0), содержащем этидий бромид (0,5 мкг/мл) с последующей визуализацией электрофореграммы в ультрафиолетовом трансиллюминаторе ($\lambda = 310$ нм). Размеры амплифицированных продуктов оценены в сравнении со стандартными ДНК маркерами. Секвенирование амплифицированных продуктов локусов генов *clb* и *cnf1*, а также рибосомной ДНК (16SrDNA), кодирующей 16SrRNA, выполнено на генетическом анализаторе «ABI PRISM 3100» (Applied Biosystems, США). Секвенированные последовательности были выравнены в соответствии с опубликованными в GenBank нуклеотидными последовательностями ряда референтных штаммов микроорганизмов, используя программы BLAST и CLUSTALW (v. 1.83).

Выводы:

1. Процедурой филоктипирования *E. coli* установлена принадлежность образцов Shi1o и Shi1n филогруппе B2, а образцов Tru26o, Tru26n, Ef15o и Ef15n – филогруппе A, что подтверждает эпидемиологическую связь идентифицированных изолятов с возникновением колоректального рака в совокупном объеме исследований.

2. Процедурой генотипирования *E. coli* по локусу *fimH*-гена установлена принадлежность изолята *E. coli* образца Tru26n седьмому типу (f-7), Shi1o и Shi1n – третьему типу (f-3), а Ef15o – четвертому типу (f-4), соответственно.

3. Усовершенствованная стратегия идентификации *fimH*-типов при генотипировании *E. coli* по локусу *fimH*-гена предусматривает наличие 52 *fimH*-типов, три из которых (f-50, f-51 и f-52) обоснованы нами в настоящей работе.

Благодарности

Работа выполнена в соответствии с Программой повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета с использованием оборудования МЦКП КФУ (ID RFMEFI59414X0003) и поддержана грантом РФФИ №17-00-00060.

Список цитированной литературы:

1. Gao R. Gut microbiota and colorectal cancer / R. Gao, Z. Gao L. Huang, H. Qin // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2017. – 36 (5). – P. 757-769.
2. Buc E. High prevalence of mucosa-associated *E. coli* producing cyclomodulin and genotoxin in colon cancer / E. Buc, D. Dubois, P. Sauvanet, J. Raisch, J. Delmas, A. Darfeuille-Michaud et al. // PLoS One – 2013. 8 (2).
3. Gagnière J. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. / J. Gagnière, J. Raisch, J. Veziant, N. Barnich, R. Bonnet, E. Buc et al. // World Journal of Gastroenterology. – 2016. - 22 (2). – P. 501-518.
4. Raisch J. Colon cancer-associated B2 *Escherichia coli* colonize gut mucosa and promote cell proliferation. / J. Raisch, E. Buc, M. Bonnet, P. Sauvanet, E. Vazeille, A. de Vallee et al // World J. Gastroenterol. – 2014. – 20 (21). – P. 6560-6572.
5. Clermont O. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. / O. Clermont, J.K. Christenson, E. Denamur, D.M. Gordon // Environ. Microbiol. Rep. – 2013. – 5 (1). – P. 58–65.
6. Abdallah K.S. Epidemiologic Investigation of Extra-intestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) based on PCR phylogenetic group and *fimH* single nucleotide polymorphisms (SNPs) in China / K.S. Abdallah, Y. Cao, D.J. Wei // Int. J. Mol. Epidemiol. Genet. – 2011. – 2 (4). – P. 339-353.

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА (RAPD-АНАЛИЗ) ДНК СПОНТАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ВАРИАНТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ

Романова Л.В., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В.

Туляремия – зоонозная природно-очаговая инфекция остается актуальной проблемой в инфекционной патологии человека. Это обусловлено широким распространением на территории страны очагов, которые вследствие высокой экологической пластичности возбудителя представляют собой устойчивые паразитарные системы. Циркулируя в природных очагах, туляремиальный микроб может вызывать значительные вспышки заболевания среди широкого круга хозяев, включая человека, что представляет серьезную проблему для практического здравоохранения. Существование в естественных биоценозах стойких природных очагов туляремии и заметная тенденция к появлению новых, объясняет необходимость проведения постоянного мониторинга за состоянием этих эндемичных очагов с использованием комплекса бактериологических, серологических и молекулярно-генетических методов исследования. Кроме того, возбудитель туляремии входит в перечень патогенных биологических агентов, которые могут быть использованы в качестве биологического оружия. Такого рода агенты должны отвечать комплексу критериев, учитывающих их биологические параметры в сочетании с взаимоотношением с организмом человека, средой обитания, а также технологическими, техническими и экономическими показателями. Поэтому нельзя исключить вероятность применения антибиотикорезистентных вариантов возбудителя, лечение которых будет сопряжено с существенными трудностями.

В последние годы проблема антибиотикорезистентности патогенных бактерий приобретает все большую актуальность в связи постоянно возрастающим количеством возбудителей, характеризующихся устойчивостью к антибактериальным препаратам. Причиной этого явления являются как неконтролируемое использование антибиотиков, так и дефицит новых антибактериальных средств для этиотропного лечения с новым механизмом антимикробного действия. Возбудитель туляремии характеризуется природной устойчивостью к β -лактамам (пенициллины и цефалоспорины), макролидам, клиндомицину и полимиксину. Вместе с тем анализ литературных данных показывает, что имеются единичные работы, посвященные изучению антибиотикорезистентных мутантов возбудителя туляремии, полученных в лабораторных условиях, что определяет актуальность более углубленного и детального исследования антибиотикоустойчивости туляремиального микроба.

Использование в эпидемиологии рутинных методов диагностики и типирования возбудителей, основанных на выявлении фенотипических признаков, часто бывает неэффективным. Тогда как молекулярно-биологические методики позволяют надежно устанавливать степень гомологии или, наоборот, расхождения между отдельными микроорганизмами. Открытие ПЦР, ее внедрение в практику микробиологических и особенно эпидемиологических исследований внесли огромный вклад информации в этой области. Обычно классический метод ПЦР предусматривает амплификацию ДНК с использованием 2 специфических олигонуклеотидных праймеров. Однако существует и другой способ амплификации ДНК в ПЦР, это так называемая однопраймерная ПЦР (ОП-ПЦР) с использованием универсальных, или случайных (random), праймеров [1, 2, 3, 4]. В зарубежной литературе этот способ амплификации обозначают - RAPD (random amplified polymorphic DNA). Каждые из выбранных праймеров или их комбинация дают возможность обнаружить специфические микролокусы в геноме изолята, которым свойственна различная степень нуклеотидной изменчивости на внутри- и межвидовом уровне.

Материалы и методы. Хромосомную ДНК бактерий выделяли из агаровой культуры с протеиназой К (Serva, ФРГ) по общепринятой методике. Качество нативной ДНК и результаты ПЦР контролировали электрофорезом в 5 %-ном полиакриламидном геле в аппарате для электрофореза типа «Midget» (Hoefer Scientific Instrument, США) в присутствии маркеров, представляющих собой смесь MspI-гидролизата плазмидной ДНК pUC19 и BglII-гидролизатов ДНК фага λ .

Амплификацию проводили на амплификаторе «Терцик» производства «ДНК-Технология» (Москва) в следующем режиме: 940С (денатурация) - 15 сек; 420С (отжиг) – 20 сек; 720С (синтез) – 15 сек (всего 40 циклов). Инкубационная смесь (15мкл) для ПЦР содержала 20 mM трис-HCl, pH 8,6; 7mM MgCl₂; 10 mM (NH₄)₂SO₄; 0,5mM EDTA; 100 мкг/мл бычьего сывороточного альбумина, по 250 мкМ каждого из дезоксинуклеозидтрифосфатов (Serva), 0,1-1,0 мкМ соответствующего праймера, 2 ед. Taq-полимеразы и 1-10 нг ДНК исследуемого штамма.

В своих исследованиях по генотипированию возбудителей особо опасных заболеваний мы использовали однопраймерный вариант ПЦР и набор универсальных праймеров (17 вариантов). RAPD-анализ предусматривает использование праймеров с вырожденной последовательностью нуклеотидов на их 3' - конце, определение каждой позиции которой (снятие вырожденности), дает в результате олигонуклеотид, праймирующий иной локус ДНК. Можно использовать разные системы олигонуклеотидов и при этом получать качественно разные паттерны ПЦР, но для каждого праймера они стабильны в пределах вида и биотипа.

Результаты исследований. В лабораторных условиях на основе вирулентных штаммов туляремиального микроба трех основных подвидов (subsp. *tularensis*, subsp. *mediasiatica* и subsp. *holarctica*) были получены одномолекулярные спонтанные мутанты, устойчивые к рифампицину (МПК \geq 500 мкг/мл) или левофлоксацину (МПК - 25-50 мкг/мл) и варианты вакцинного штамма с устойчивостью к доксициклину (МПК - 100 мкг/мл) и гентамицину (МПК - 100 мкг/мл). Проведенный популяционный анализ мутантных штаммов (изучено по 10 клонов) показал их однородность по анализируемым признакам. Мутанты и их родительские штаммы были исследованы в RAPD-анализе с универсальными праймерами. Используемые праймеры (17 вариантов) оказались способны амплифицировать последовательности хромосомной ДНК исследуемых штаммов и образовывать ПЦР - профили в виде фрагментов ДНК количеством от 15 до 2 и размером от 9550 до 170 п.н. С помощью RAPD-анализа удалось выявить различия в геномной организации мутантов по сравнению с родительскими штаммами, что выражалось в изменении картины распределения ДНК ампликонов и яркости их свечения. Для дальнейшей работы выбраны наиболее информативные и перспективные праймеры для каждого подвида.

Заключение. Таким образом, исследование показало возможность применения RAPD-анализа для изучения ДНК мутантов туляремиального микроба. Проведена генотипическая характеристика каждого из полученных антибиотикорезистентных мутантов возбудителя туляремии в сравнении с родительскими штаммами. Выявлены различия на видовом и внутривидовом уровнях, которые проявляются в иной картине распределения ПЦР ампликонов ДНК. Дальнейшие исследования по генотипической характеристике с использованием праймеров различной длины и в разных сочетаниях будут способствовать подбору оптимальных композиций для проведения углубленного анализа на межвидовом и внутривидовом уровнях.

Списокиспользованнойлитературы:

1. Williams, J.G.K. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / J.G.K. Williams, A.R. Kubelik, K.J. Livak et al. // Nucl. Acids Res. - 1990. - Vol.18. - P. 6531-6535.
2. Романова, Л.В. Полимеразная цепная реакция: генотипический скрининг штаммов *Francisella tularensis* с использованием неспецифических праймеров /Л.В. Романова, Б.Н. Мишанькин, И.Ю. Сучков // Биотехнология, 1993, № 6, С. 8-9.
3. Савостина, Е.П. Анализ геномного полиморфизма типовых и атипичных штаммов возбудителя чумы с использованием полимеразной цепной реакции с универсальными праймерами / Е.П. Савостина, Ю.А. Попов, Т.Н. Каштанова, Ю.И. Ящечкин // Мол. генет., микробиол. и вирусол. - 2004. - №1. - С. 22-26.
4. Викторov, Д.В. Молекулярное типирование штаммов *Burkholderia pseudomallei* с различной чувствительностью к антибиотикам / Д.В. Викторov, И.Б. Захарова, Л.К. Меринова, В.В. Алексеев // Мол. генет., микробиол. и вирусол. - 2006. -№1. - С. 7-11.

МОНИТОРИНГ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ КАРБАПЕНЕМАЗЫ

Основными средствами лечения бактериальных инфекций являются антибиотики и химиопрепараты. Карбапенемы (имипенем, эртапенем, меропенем) являются бета-лактамными антибиотиками широкого спектра действия. Эти препараты используют для лечения нозокомиальных инфекционных заболеваний, вызванных грамотрицательными бактериями семейства *Enterobacteriaceae*, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes* и *Proteus mirabilis*, устойчивых к другим антимикробным препаратам.

Серьезной проблемой антибиотикотерапии является развитие бактериями устойчивости к антимикробным препаратам. Одним из механизмов приобретенной устойчивости является продукция ферментов, разрушающих молекулы антибиотиков. В начале 80-ых годов были обнаружены штаммы бактерий, вырабатывающих бета-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС), инактивирующие бета-лактамные антибиотики.

Наибольшую опасность из бета-лактамаз представляют карбапенемазы, разрушающие большинство бета-лактамных антибиотиков (пенициллины, цефалоспорины и в той или иной степени карбапенемы и монобактамы). Карбапенемазы устойчивы к ингибиторам бета-лактамаз, используемым при антибиотикотерапии. Гены, кодирующие продукцию карбапенемаз, находятся в мобильных интегронах, передающихся между бактериальными клетками плазмидами и транспозонами, что приводит к появлению полирезистентных штаммов бактерий, вызывающих трудноизлечимые инфекционные заболевания.

Карбапенемазы были выявлены в нескольких странах Европы в конце прошлого века среди штаммов *P. aeruginosa*, затем штаммов *K. pneumoniae*.

Затем в 2009 году в Нью-Дели был выделен ген *bla_{NDM1}*, кодирующий продукцию карбапенемаз, выделенный из штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*, циркулирующих в Индии и странах Ближнего Востока, в 2010 году этот ген был зарегистрирован в США и в европейских странах. В настоящее время подобные гены обнаружены в 40 странах мира, включая Россию.

Опасность заключается в том, инфекционные заболевания, вызванные энтеробактериями, продуцирующими карбапенемазы, характеризуются высоким уровнем летальности (50-90%), поскольку эти штаммы часто проявляют устойчивость к широкому спектру антимикробных препаратов.

Таким образом мониторинг циркуляции карбапенемаз- продуцирующих энтеробактерий у госпитализированных пациентов является актуальной задачей медицины. Важной целью является изучение механизмов развития устойчивости бактерий к антимикробным препаратам.

Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) разработал руководство по выявлению механизмов резистентности микробов, в котором представлены рекомендуемые методы выявления карбапенемаз у *Enterobacteriaceae*.

1. Скрининговые методы предназначены для обнаружения продукции карбапенемаз по значению минимальной подавляющей концентрации (МПК) энтеробактерий ниже установленных пограничных значений по рекомендациям EUCAST. Для определения чувствительности следует использовать меропенем.

2. Методы подтверждения продукции карбапенемаз.

При обнаружении сниженной чувствительности штамма к карбапенемам с помощью стандартных методов, следует использовать фенотипические методы выявления карбапенемаз.

Рекомендовано использовать метод комбинированных дисков или таблеток, (компания MAST в Великобритании и Rosco в Дании) содержащих меропенем и комбинации меропенема с различными ингибиторами карбапенемаз классов А и В.

К недостаткам данных методов относится продолжительность исследования (около 18 часов).

3. В настоящее время разработаны ускоренные методы выявления карбапенемаз.

Матрично-ассоциированная лазерная десорбционно-ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS) позволяет выявить разрушение карбапенемов через несколько часов.

Экспресс-методом является также Carba NP тест, позволяющий выявить гидролиз карбапенема с помощью индикатора, меняющего цвет при изменении pH среды.

Однако, эффективность метода отмечена только для Carba NP теста, но не для всех штаммов энтеробактерий.

Разработаны методы выявления генов, кодирующих карбапенемазы групп KPC, OXA-48/162, VIM, IMP, NDM, OXA-51, OXA40/24, OXA-23 и OXA-58 с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Ограничениями данных методов является высокая стоимость исследований, а также невозможность определения новых вариантов бета-лактамаз.

Генотипические методы выявления устойчивости не являются обязательными для эпидемиологического мониторинга, но рекомендованы к использованию в лабораториях.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Савинова А.Н.

ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, кафедра микробиологии г. Казань, Россия

Clostridium difficile является возбудителем антибиотико-ассоциированной диареи (ААД), псевдомембранозного колита, а также внутрибольничных инфекций.

Clostridium difficile – грамположительные подвижные палочки, образующие субтерминальные споры. Облигатно-анаэробные бактерии, при температуре 35-37 °С на плотных средах проявляют рост в виде круглых, выпуклых колоний, на жидких средах растут с образованием осадка. На кровяных средах гемолиз не вызывают.

Основным фактором патогенности *C. difficile* являются экзотоксины: токсин А (TcdA) и токсин В (TcdB).

Токсин А – энтеротоксин, вызывающий симптомы диареи и летальный исход, токсин В – цитотоксин, ингибирующий синтез белка, нарушающий функции мембран, приводящий к летальному исходу чаще, чем токсин А. Различают нетоксигенные и токсигенные штаммы. Токсигенные штаммы вызывают клинические симптомы заболевания.

Обнаружены также гипервирулентные штаммы, вызывающие заболевания у молодых пациентов.

C. difficile является представителем нормальной микрофлоры кишечника человека. По некоторым данным, встречается у 2% взрослых здоровых людей и примерно у 50% детей младшего возраста. *C. difficile* был выделен также из почвы, сена, фекалий различных домашних животных и грызунов. Механизм передачи бактерий – фекально-оральный. Вспышки заболеваний, вызванных *C. difficile*, отмечают в стационарах среди лиц пожилого возраста, у людей с иммунодефицитами, после операционного вмешательства и на фоне антибиотикотерапии.

При лечении бактериальных заболеваний антибиотиками у пациентов возможно развитие энтероколитов. Первые симптомы развиваются примерно через 4-10 дней после начала лечения антибиотиками, иногда (у 25% больных) – через 4 недели после отмены антибиотика. В очень редких случаях диарея развивается в течение нескольких часов после приема антибиотика.

Основными препаратами, применение которых способствует развитию заболеваний, вызванных *C. difficile*, являются аминогликозиды, цефалоспорины, ампициллин и клиндамицин.

Другие антибиотики также могут привести к ААД, за исключением ванкомицина, к которому штаммы *C. difficile* проявляют чувствительность.

Клинические проявления псевдомембранозного колита разнообразны. Основным симптомом является диарея. Испражнения обычно бывают водянистыми, обильными и не содержат большого количества крови и слизи, у большинства больных в брюшной полости

выявляют болезненные участки, у некоторых больных диарея может быть слабовыраженной, у других (примерно в 3% случаев) выражена системная интоксикация, повышается температура тела, определяется лейкоцитоз, что может привести к летальному исходу. Иногда может произойти токсическое расширение и перфорация толстого кишечника. В некоторых случаях отмечены рецидивы заболевания (у 20-25% пациентов).

Микробиологическую диагностику заболевания проводят с использованием бактериологического метода с целью выделения *C.difficile* из кала пациента. Разработан метод количественного определения бактерий в кале грудных детей. Обнаружение *C.difficile* в количестве более 10^3 - 10^4 КОЕ/г свидетельствует о дисмикробиоценозе.

Наиболее важным тестом для установления этиологической роли *C.difficile* является выявление экзотоксинов (токсина А и токсина В) в кале больных с диареей.

Для этой цели используют несколько методов.

Серологический метод позволяет определить экзотоксины бактерий в кале с помощью иммунохроматографического экспресс-теста.

Выявление токсинов А и В в кале проводят методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Разработан цитотоксический тест на культурах клеток для выявления экзотоксинов А и В с помощью диагностических иммунных сывороток.

Антигенный латексный экспресс-тест позволяет обнаружить токсин А с помощью латексных частиц и специфических антисывороток.

Молекулярно-биологический метод применяют для обнаружения генов токсигенности с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЛЕПТОСПИРОЗА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Савицкая Т.А.¹, Трифонов В.А.^{1,3}, Исаева Г.Ш.^{1,2}, Решетникова И.Д.¹

¹ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии",
г. Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

³Казанская государственная медицинская академия - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО
Минздрава России, г. Казань, Россия

Заболеваемость лептоспирозом в Республике Татарстан регистрируется с 1957 года. Показатель заболеваемости за все годы регистрации колебался от 0,03 до 4,1 на 100 тыс. населения. В основном выявлялись единичные случаи лептоспироза и лишь в отдельные годы регистрировались групповые заболевания, чаще всего связанные с купанием в малопроточных водоёмах.

Среднемноголетняя заболеваемость лептоспирозом за последние 20 лет в республике составила 0,2 на 100 тыс. населения, тогда как по Российской Федерации этот показатель составляет 0,5 на 100 тыс. населения. Эпидемические подъемы заболеваемости были отмечены в 2001 году – 58 случаев и в 2004 году – 26 случаев. В 2001 году была зарегистрирована вспышка заболеваний лептоспирозом в Верхне-Услонском районе Татарстана, с количеством заболевших 53 человека, связанная с купанием в озере.

В последующие годы число заболевших лептоспирозом резко снизилось, выявлялись лишь единичные случаи в 2005, 2008, 2010 годах (по одному случаю) и в 2017 году – 4 случая.

В Республике Татарстан ежегодно проводится мониторинг за природными очагами лептоспироза, осуществляются выезды в административные районы республики, ежегодно обследуются от 10 до 16 районов, отбирается материал для лабораторных исследований – мелкие млекопитающие, вода и т.п.

Сообщество мелких млекопитающих на территории природных очагов лептоспироза в республике состоит из рыжей и обыкновенной полёвки, полевой и желтогорлой мыши, малой

лесной мыши, бурозубки. Преобладает в данном сообществе рыжая полёвка, средний индекс доминирования составляет 66,7%. Однако её доминирование отмечается в лесокустарниковых и околородных стациях: 66,0% и 35,0% соответственно. Тогда как в луго-полевых стациях чаще встречается полевая мышь (49,0%).

Всего за период 2013-2017гг было лабораторно исследовано на лептоспироз 1255 особей грызунов, положительный результат на наличие антител к возбудителю лептоспироза составил 4% от числа исследованных проб. Из воды и других субстанций положительных результатов не было.

Наиболее высокий уровень инфицированности грызунов лептоспирами был отмечен в 2017 году. В 16 районах Татарстана было отловлено для исследований 325 особей грызунов, из них положительный результат был выявлен в 43 пробах (13,2%).

Данные эпизоотологического мониторинга указывают на скрыто протекающий эпизоотический процесс в сообществе мышевидных грызунов. В связи с этим, в целях недопущения заболеваний лептоспирозом среди людей, мониторинг состояния природных очагов лептоспироза в республике должен быть продолжен.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БОРРЕЛИОЗУ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Савицкая Т.А.¹, Трифонов В.А.^{1,3}, Тюрин Ю.А.¹, Агафонова Е.В.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}, Решетникова И.Д.¹

¹ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии",
г.Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

³Казанская государственная медицинская академия - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава
России, г.Казань, Россия

Болезнь Лайма занимает одно из ведущих мест в Российской Федерации среди трансмиссивных инфекционных заболеваний передающихся клещами. Высокий уровень заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ) отмечается в Ленинградской, Томской, Тверской, Ярославской, Костромской, Калининградской, Пермской и Тюменской областях, а также в Уральском, Западносибирском и Дальневосточном регионах. Эпидемиологическая ситуация по боррелиозу в Российской Федерации за последние 20 лет остаётся стабильной, среднемноголетний показатель составляет 5,3 на 100 тыс. населения.

В Приволжском федеральном округе по уровню заболеваемости ИКБ занимает второе место после ГЛПС среди остальных природно-очаговых инфекций. При этом отмечается тенденция к росту заболеваемости ИКБ. Наиболее высокий уровень заболеваемости среди регионов ПФО в Кировской области, Пермском крае, Республиках Удмуртия и Марий Эл.

Годовая динамика заболеваемости ИКБ характеризуется выраженной сезонностью, связанной с периодом активности переносчиков – клещей *I.persulcatus*, *I.ricinus*, *D.reticulatus*. Заболевания людей регистрируются со 2-3 декады апреля. Максимальная заболеваемость отмечается в Европейской части страны в мае, в Предуралье, на Урале и Западной Сибири – в мае-июне, на Дальнем Востоке – в мае-июле. Таким образом, для заболеваний ИКБ характерна весенне-летняя сезонность, которая обусловлена периодом активности клещей, связанная с региональными природно-географическими, погодными условиями и видами переносчика.

В Республике Татарстан среднемноголетний показатель заболеваемости за последние 20 лет составил 1,6 на 100 тыс. населения. В 2017 году в республике было зарегистрировано 28 случаев ИКБ (0,7 на 100 тыс. населения). При мониторинге инфицированности клещей возбудителями боррелиоза за период 2012-2017гг было установлено, что из 5540 исследованных особей клещей 734 (13,2%) оказались инфицированными боррелиями. Серологический мониторинг напряженности иммунитета к возбудителям боррелиоза свидетельствует о высоком уровне антител к боррелиозу среди лиц, ранее не болевших ИКБ. Так за период 2012-2017гг было исследовано 2144 сыворотки, из них сероположительными были 106 (4,9%). Полученные данные

свидетельствуют о широкой циркуляции возбудителей боррелиоза в природных очагах этой инфекции. При этом, возможно, что данные официальной статистики заболеваемости ИКБ не отражают в полной мере картину эпидемиологического процесса, протекающего на территории Республики Татарстан. В связи с этим необходимо продолжать проведение мониторинга инфицированности переносчиков и напряженности иммунитета к возбудителям ИКБ, усилить меры профилактики среди лиц, посещающих природные очаги ИКБ, расположенные на территории республики.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОНКОЛИТИЧЕСКИХ ВИРУСОВ, ИХ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ

Спиридонова Е.И., Шакурова И.И.

ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Введение. Вирусы всем известны в качестве возбудителей болезней растений, животных и человека, поэтому движущей целью их изучения являлась потребность разработки средств борьбы с вирусными заболеваниями. Однако вслед за открытием вирусом появились наблюдения, указывающие на их склонность размножаться в клетках злокачественных опухолей и вызывать вирусный онколиз.

В 1904 г. с одной итальянской женщиной случились два опасных для жизни инцидента: у нее диагностировали рак шейки матки, а чуть позже ее укусила собака. После введения обычной вакцины против бешенства опухоль исчезла. Вскоре аналогичную вакцину на основе ослабленного вируса бешенства ввели еще нескольким пациенткам с таким же диагнозом. У некоторых из них опухоль уменьшилась в размерах — по-видимому, вирус каким-то образом уничтожал раковые клетки. Начиная с 1990-х гг. стали раскрываться основные детали воздействия вирусных частиц на раковые клетки.

Актуальность нашей работы заключается в следующем: проблема лечения рака до сих пор является одной из самых актуальных тем, и вирусный онколиз можно выдвигать в качестве перспективного подхода к терапии злокачественных заболеваний. Такой метод в комбинации с уже разработанными и применяемыми химио- и радиолучевой терапией откроет принципиально новые возможности в онкологии.

Основная цель: выяснить действие вирусов на раковые клетки и понять эффективность противораковой терапии.

В соответствии с целью мы выделили следующие задачи:

1. Понять механизм действия онколитических вирусов.
2. Изучить научные исследования в области вириотерапии и выявить проблемы, с которыми сталкиваются ученые в применении этого метода.
3. Выделить достоинства и недостатки использования онколитических вирусов.

Известно, что опухолевые клетки возникают в организме достаточно часто, и если они иммуногенны, то легко элиминируются иммунной системой. В случае достижения клинических размеров опухолям удаётся ускользнуть от иммунного надзора, как правило, вследствие малой иммуногенности составляющих их клеток. Это связано с тем, что плотность антигенов на поверхности мембраны опухолевых клеток ниже, поэтому такие клетки перестают казаться чужеродными и не уничтожаются иммунной системой. Суть опухолевой вакцинации заключается в активации иммунной системы путем индуцирования глубокой перестройки антигенного потенциала.

При виротерапии опухолевых заболеваний большое внимание уделяется устранению побочных эффектов, так как иммунитет таких пациентов ослаблен. Введение вируса в ослабленный организм может привести к развитию вирусной инфекции и, в конечном итоге, к летальному исходу. Существует два наиболее распространенных способа избежать развития побочных эффектов при виротерапии опухолевых заболеваний: использование вирусов, не

патогенных для человека (например, вирус Ньюкасла), и искусственное изменение свойств человеческого вируса с целью снижения вирулентных и усиления противоопухолевых свойств.

Для повышения эффективности доставки вирусов их модифицируют. Это необходимо при системном введении вирусных частиц в кровоток. Попадая в ток крови, вирусные частицы быстро опсонизируются антителами, компонентами системы комплемента и факторами коагуляции, что приводит к «узнаванию» вируса макрофагами и незамедлительной инактивации вируса. Для увеличения времени свободного нахождения вируса в кровотоке и повышения вероятности попадания его в опухолевую ткань применяют методы химической модификации поверхности вирусных частиц с помощью биосовместимых полимеров, таких как полиэтиленгликоль и гидроксипропилметаакриламид. Было отмечено, что частицы аденовируса, покрытые ПЭГ, выводятся из кровотока в четыре раза медленнее по сравнению с непокрытыми частицами.

Генетические модификации вирусов направлены на усиление проникновения частиц онколитического вируса в опухолевую ткань. Известно, что кровеносные сосуды в ткани опухоли значительно отличаются от нормальных сосудов, в их эндотелии присутствуют межклеточные «бреши» размером 200-900 нм, в то время как размер аналогичных «брешей» в эндотелии «нормальных» кровеносных сосудов составляет всего 2-6 нм. Было показано, что рекомбинантный вирус кори обладает повышенным сродством к клеткам эндотелия внутриопухолевых кровеносных сосудов по сравнению с немодифицированным вирусом кори, что усиливает его проникновение в ткань опухоли через стенку кровеносных сосудов.

Наиболее часто для усиления иммуногенных свойств опухолевых клеток и приготовления онколизатов используются вирусы, созревающие на клеточных мембранах путем почкования (со-, мик-, ретровирусы и др.) и включающие в оболочку антигены опухолевой клетки, в том числе и опухолеассоциированные. Из других семейств интерес представляют поксвирусы, в частности вирус оспы, индуцирующие глубокую перестройку антигенного потенциала опухолевой клетки и представляющие сложную антигенную структуру. В клинической практике онколизаты применяются после хирургического вмешательства для профилактики рецидивов и метастазов.

В течение последних десятилетий многие страны работают над исследованием данного метода противораковой терапии. Так, в 2015 г. получил разрешение на проведение III фазы клинических испытаний препарат на основе рекомбинантного штамма вируса осповакцины Пекса-Век (Реха-Vec, JX-594) для лечения гепатоцеллюлярной карциномы.

Реха-Vec является ослабленным вирусом коровьей оспы, спроектированным для стимуляции противоопухолевого иммунитета и лизиса опухолевых клеток. Этот препарат был получен из штамма вируса осповакцины Wyeth, у которого для уменьшения побочных реакций удалили ген тимидинкиназы и добавили ген гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующего фактора человека. Препарат сейчас интенсивно исследуют на добровольцах. Результаты независимых клинических испытаний I и II фазы положительны.

В России также ведутся подобные разработки. В 2010 г. Новосибирский государственный университет получил мегагрант, руководителем которого стал известный российский молекулярный биолог П. М. Чумаков.

Мышам были привиты клетки карциномы человека. Лечение производилось путем введения в опухоль аттенуированного рекомбинантного вируса осповакцины с делециями двух генов вирулентности – вирусного ростового фактора и тимидинкиназы. Через 20 суток после инъекции наблюдалась полная деструкция метастаза, что доказывает антиметастатическое действие вируса.

Вывод. Изучив метод противоопухолевой вакцинации, можно выделить следующие недостатки:

1. вирусы не изменяют геном опухолевых клеток, а компенсируют последствия мутаций, а значит, это не исключает вероятности возвращения рака;
2. вирусы, используемые для онколиза, при определённых условиях, могут вызвать развитие манифестной инфекции;
3. зачастую использование вакцинотерапии не эффективно в связи с чрезвычайно слабой иммунной системой человека;
4. короткий срок жизни вирусов;

5. дорогостоящая терапия.

Но все недостатки свидетельствуют о том, что данный метод не полностью изучен. Поскольку его главные достоинства заключаются в следующем:

1. действие рекомбинантных вирусов только на опухолевые клетки;
2. относительно низкая токсичность вводимых препаратов;
3. способность вирусов проникать в труднодоступные опухоли;
4. продление жизни пациентов и возможное выздоровление.

Таким образом, возникает интересный вопрос. Может быть, роль вирусов, по крайней мере некоторых из них, как раз и состоит в защите от раковых клеток?..

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНОЙ ФИТАЗЫ AGPPPANTOEASP. 3.5.1, ЭКСПРЕССИРУЕМОЙ ДРОЖЖАМИ *YARROWIA LIPOLYTICA*

Трошагина Д.С., Сулейманова А.Д.

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

За последние несколько лет было показано, что отдельные мио-инозитол фосфаты выполняют важные функции в организме человека, а также обладают фармакологическими свойствами – уменьшение интенсивности симптомов сердечно-сосудистых заболеваний за счет контроля гиперхолестеринемии и атеросклероза [2], профилактика образования камней в почках [1], а также защита от рака толстой кишки [4]. Так же специфические инозитол трифосфаты были предложены для предупреждения и лечения заболеваний, связанных с аномальным уровнем нейрпептида Y (NPY). Эти заболевания включают в себя такие воспалительные заболевания, как артрит и астма. Специфичные инозитол фосфаты могут быть использованы в качестве болеутоляющих средств. Так же показано, что эфиры инозитол трифосфатов оказывают существенный ингибиторный эффект против ретровирусных инфекций, включая ВИЧ [3]. Однако практическая недоступность отдельных мио-инозитол фосфатов исключает их проверку на метаболическую активность.

Различные фитазы ведут гидролиз фитата разными путями, приводя к накоплению многообразия интермедиатов (миоинозитол фосфатов). В процессе микробной деструкции фитата остатки фосфорной кислоты высвобождаются в разной последовательности и с различной скоростью. Знания об абсолютной стереохимической специфичности фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1 позволяют использовать этот фермент для получения желаемых изомеров мио-инозитол фосфатов. Генерация данных соединений в промышленных масштабах возможна с помощью эффективной системы экспрессии фитазы для получения препаративных количеств фермента. Диморфные дрожжи *Yarrowia lipolytica* на протяжении нескольких лет находят применение в качестве экспрессионных систем. Такие системы характеризуются высоким выходом гетерологичного белка, меньшей степенью гликозилирования продуктов и неприхотливостью к условиям культивирования.

Цель данной работы – изучение свойств рекомбинантной бактериальной фитазы *AgpP Pantoea* sp. 3.5.1, экспрессируемой дрожжами *Yarrowia lipolytica*.

На предыдущем этапе работы нами был получен рекомбинантный штамм *Yarrowia lipolytica* pINA1296/agpP, в геном которых интегрирован ген бактериальной фитазы *agpP*. Результаты вестерн-блоттинга и определения фитазной активности показали, что бактериальная фитаза экспрессируется и секретируется в культуральную жидкость рекомбинантными дрожжами. Для работы использовали очищенный на колонке Ni-NTA гомогенный препарат фитазы. Важнейшим фактором, влияющим на активность фермента, является pH раствора. Определяли pH-оптимум рекомбинантной фитазы *AgpP* в интервале значений pH от 1.0 до 9.0: фермент был стабилен в диапазоне pH 3.0-6.0 и сохранял свою активность (30% и более) при щелочных значениях pH, максимум фитазной активности приходился на значение pH 3.0. Показано повышение термостабильности рекомбинантной фитазы *AgpP* по сравнению с нативной *Pantoeasp.* 3.5.1: фермент сохранял свою активность при температуре от 4°C до 60°C,

температурный оптимум соответствовал 45°C (вместо 37°C у природного фермента). Ранее было показано, что ионы металлов могут ингибировать активность фитазы. В связи с этим изучили влияние ионов двухвалентных металлов на активность рекомбинантной фитазы: ионы Ca^{2+} , Mg^{2+} и Mn^{2+} повышали активность рекомбинантного фермента более чем в два раза, ионы Co^{2+} не влияли на активность фитазы, тогда как ионы Zn^{2+} , Cu^{2+} и Fe^{2+} ингибировали ее активность.

Таким образом, мы изучили свойства рекомбинантной фитазы AgpP, экспрессируемой дрожжами *Yarrowia lipolytica*. Полученные нами данные позволяют оптимизировать процессы иммобилизации рекомбинантной фитазы для эффективной продукции изомеров инозитол-фосфатов.

Список использованной литературы:

1. Grases, F. Variation of InsP(4), InsP(5) and InsP(6) levels in tissues and biological fluids depending on dietary phytate/ F. Grases, B.M. Simonet, R.M. Prieto, J.G. March// J Nutr Biochem. – 2001. - V.12. - N10. P.595-601.
2. Jariwalla, R.J. Rice-bran products: phytonutrients with potential applications in preventive and clinical medicine/ R.J. Jariwalla// Ggg Drugs Exp Clin Res. – 2001. – V.27. - №1. P.17-26.
3. Shamsuddin, M. IP6 and Inositol in cancer prevention and therapy / M. Shamsuddin, I. Vucenik // Current Cancer Therapy Reviews. - 2005. - V.1. - P.259-269.
4. Vucenik, I. Cancer inhibition by inositol hexaphosphate (IP6) and inositol: from laboratory to clinic/ I. Vucenik, A.M. Shamsuddin// J Nutr. – 2003. - V.133. - N11. - P.3778-3784.

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ В ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ХОЛЕРЫ

Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погужова М.П., Кочеткова А.О.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
г. Ростов-на-Дону, Россия

С начала XX в., еще до открытия и широкого применения антибактериальных препаратов, бактериофаги активно использовались в отношении возбудителей большого ряда инфекционных болезней [1].

Что касается холерного бактериофага, историю его изучения можно подразделить на два этапа: первый с 1917 по 1972 гг., когда их использовали с целью терапии и профилактики холеры, и второй – с 1955 г по настоящее время.

В 1896 г. английский бактериолог Э.Х. Хэнкин заметил в пробе воды из реки Ганг значительное уменьшение числа бактерий *V. cholerae* [2].

Впервые холерный бактериофаг был обнаружен в 1921 г. Феликсом Д'Эреллем в испражнениях больного в стадии выздоровления от холеры [3]. Увлеченность Д'Эрелля гипотезой о роли бактериофага при холере привлекла внимание многих исследователей.

Среди образцов холерных фагов различного происхождения, выделенных из испражнений больных холерой, из лизогенных штаммов холерных вибрионов и водоисточников наблюдалось значительное разнообразие. Холерные фаги отличались между собой по морфологии негативных колоний, типам чувствительности к ним различных штаммов холерных вибрионов и другим свойствам. Потребовалась систематика и классификация холерных фагов. По серологическим свойствам выделенные в очагах холеры в Индии холерные фаги были подразделены на 14 типов [4].

Величайшая заслуга Ф. Д'Эрелля состояла в том, что он выдвинул идею использования бактериофагов для лечения бактериальных инфекций. И уже в 1931 г. Ф. Д'Эрелль и Г.Г. Элиава впервые предприняли совместные попытки применения бактериофагов для профилактики и лечения холеры [1].

В 30-е годы в Индии под руководством Ф. Д'Эрелля были организованы клинические испытания холерного бактериофага с терапевтической и профилактической целью, которые показали перспективу его использования [4].

В Советском Союзе одним из самых масштабных примеров профилактического применения холерных фагов является использование комплексного препарата бактериофагов в Сталинграде во время Великой Отечественной войны. Производство холерного фага было налажено в самом Сталинграде, для терапии и профилактики холеры препарат ежедневно принимали около 50 тысяч человек. З.В. Ермольева разработала препарата, в Ташкенском институте вакцин и сывороток, содержащий 19 видов бактериофагов, в том числе холерный. После войны приготовление лечебно-профилактического препарата холерного фага осуществлялось в противочумных институтах [5].

Начало нового этапа интенсивных исследований по фаготерапии и фагодиагностики холеры начал А.Г. Никонов 1959 г. в Ростовском противочумном институте [4]. Никонов А.Г. разработал препарат бактериофагов, литическая активность которого повысилась, благодаря пассажирам холерных вибрионов и холерных бактериофагов в организме животных. Возможность апробации этого препарата была представлена в 1958 г. в Восточном Пакистане, результаты фаготерапии были оценены положительно. Затем препарат использовали для фагопрофилактики населения кишлаков в Афганистане, который обеспечил полную ликвидацию вспышки холеры [4].

Однако в 1964 г. О.М. Петрунина, Н.В. Полякова, Н.М. Остроумова и Л.В. Макаридзе установили, что пассажами бактериофага на холерных вибрионов в крови человека удается получить бактериофаг, обладающий более выраженной активностью, чем препарат, приготовленный по методу А.Г. Никонова [4].

В 1969 г. клинические испытания провела группа русских ученых в Бангладеш (Марчук Л.М., Никифоров В.Н., Щербак Ю.Ф., Левитов Т.А., Котлярова Р.И., Наумшина М.С., Давыдов С.У.). В эксперименте использовали два препарата поливалентных холерных бактериофагов, приготовленных в институте «Микроб» Министерства Здравоохранения СССР с учетом двух биоваров возбудителя холеры. Терапию проводили на фоне регидратационной терапии. В результате данного опыта установлено отсутствие клинического эффекта на течение холеры у больных получавших бактериофаг [4].

Также, Марчук Л.М. и Монсур К.А. в 1974 г высказали сомнение в целесообразности в дальнейших попытках использования бактериофага для лечения больных с тяжелой формой холеры [6]. Из-за противоречивых результатов, большинство исследований в этой области прекратилось.

В 2000 гг. в Ростовском-на-Дону противочумном институте исследования в этом вопросе возобновились благодаря Кудряковой Т.А. Разработка и использование холерного поливалентного бактериофага, который был активен в отношении холерных классических вибрионов и состоял из четырех фагов трех серотипов (III, IV, VI). В связи со сменой биовара возбудителя во время VII пандемии пришлось изменить типовой состав лечебно-профилактического препарата фага, сохранив фаги Д (76%), А (37%), включив в его состав фаги В (0,1%) и биотипа Эль Тор – XII (0,03%) и ПМ (9,3%). Препарат состоял из фагов 5 серотипов (III, V, VI, VII, IX). При этом количественный компонент эльторовских фагов был незначительный [7].

Исследования по подбору *in vitro* и применению *in vivo* композиций холерных фагов продолжила в 2004 г. Гаевская Н.Е. с соавторами. Поставленные опыты показали перспективность дальнейших исследований и дальнейшего поиска фагов, наиболее эффективных для лечения и профилактики экспериментальной холеры [8].

Кроме того, Т.А. Кудряковой с соавторами (2005 г.) проводились испытания антибактериальной активности музейных рас холерных бактериофагов и ее изменение при пассажах *in vivo*. Полученные результаты позволили заключить, что экспериментальные расы холерных фагов K1 Вир. и 3900ж обладали большим, чем исходные фаги, диапазоном действия и были отобраны как наиболее перспективные для конструирования бивалентного препарата фага [9].

На данный момент исследования холерных бактериофагов продолжаются в Ростовском-на-Дону противочумном институте под руководством Гаевской Н.Е. Результаты работ *in vitro* и *in vivo* показывают перспективность изучения и использования разработанных фаговых композиций в отношении холерных вибрионов [10].

Список использованной литературы:

1. Алешкин, А.В. Бактериофаги в инфекционной патологии. Часть 1: История исследований до широкого применения антибиотиков / А.В. Алешкин, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, Х.М. Галимзянов, О.В. Рубальский // Научные обзоры. – 2016. – С. 10-13.
2. Георгадзе, И.А. / И.А. Георгадзе, Е. Г. Макашвили // Грузинская советская энциклопедия: в 12 т. – Тбилиси: Комбинат печати Государственного Комитета Совета Министров Грузинской ССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли, 1979. – Т. 4. – С. 125.
3. Кажал, Н. Из истории борьбы против микробов и вирусов / Н. Кажал, Р. Ифтимович. – Бухарест: Научное издательство, - 1968. – 404 с.
4. Ломов, Ю.М. Холерные фаги / Ю.М. Ломов, А.Г. Сомова, Т.А. Кудрякова. // Ростовский государственный научно-исследовательский противочумный институт МЗ СССР. - Ростов-на-Дону, 1990. – 159 с.
5. Доскин, В.А. Необыкновенные факты из биографии З.В. Ермольевой / В.А. Доскин, И. Власова // Науч.-практич. журн. «Врач». -2012. - № 6. – С. 86-87.
6. Monsur KA, Marchuk L.M. Therapeutik and propylactic value jf cholera phage. Cholerae / Ed: D. Barua, W. Burrows, - Philadelphia, London, Toronto, 1974. - P.273-280.
7. Кудрякова, Т.А. Применение бактериофага при лечении экспериментальной холеры / Т.А. Кудрякова, Ю.М. Ломов, Б.Н. Мишанькин, Н.А. Дудина, А.А. Алиева, И.В. Рыжко, Г.В. Качкина, Л.Д. Македонова, Н.Е. Гаевская // Матер. VII Росс. науч.-практ. конф. по пробл. «Холера». – Ростов-на-Дону, 2003. – С. 216-219.
8. Гаевская, Н.Е. Применение бивалентной смеси холерных фагов при экспериментальной холере, вызванной *V. cholerae cholerae*/ Н.Е. Гаевская, Т.А. Кудрякова, Л.Д. Македонова, Г.В. Качкина, А.А. Алиева, С.Р. Саямов // Сб. мат. проблем. комис. Научн. совета по сан.-эпид. охр. террит. РФ. Холера и патогенные для человека вибрионы. Ростов-на-Дону. – 2004. Вып.-17. – С. 112-114.
9. Кудрякова, Т.А. Испытание антибактериальной активности музейных рас холерных бактериофагов и ее изменение при пассажах *in vivo* / Т.А. Кудрякова, Л.Д. Македонова, Г.В. Качкина, Е.Н. Гаевская, С.Р. Саямов // Сб. мат. проблем. комис. Научн. совета по сан.-эпид. охр. террит. РФ. Холера и патогенные для человека вибрионы. Ростов-на-Дону. – 2003. Вып.- 18. – С. 147-150.
10. Тюрина, А.В. Экспериментальная модель этиотропной терапии в отношении генерализованной инфекции у белых мышей / А.В. Тюрина, Н.Е. Гаевская, Н.А. Селянская, Л.А. Егизарян, М.П. Погожова // Холера и патоген. Для человека вибрионы: Сб. статей Пробл. Комиссии. – Ростов-на-Дону. -2017. – Вып. 30. – С. 169-172.

СИСТЕМА «ЭНДОТОКСИН-АНТИЭНДОТОКСИНОВАЯ ЗАЩИТА» ПРИ ЧАСТО РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ФОРМЕ РОЖИ

Фазылов В. Х.

ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

В группе стрептококковых инфекций взрослых сохраняется актуальность рож, особенностью которой является формирование рецидивов болезни, по частоте достигающих 50%. В основе формирования рецидивирующих форм рож лежат практически необратимые нарушения на уровне сосудов микроциркуляции при повреждении эндотелия токсинами стрептококка вплоть до развития диссеминированного микротромбоза, а также в иммунной системе как вторичный приобретённый иммунодефицит. Особый интерес представляет участие в патогенезе вышеуказанных процессов при рож эндотоксин грамотрицательных и грамположительных бактерий (в т. ч. стрептококков), активирующих при рецидивирующих формах болезни как эндогенная условно-патогенная флора (УПФ) на фоне недостаточно адекватного иммунного ответа.

Целью данного исследования явилось выяснение роли плазменного эндотоксина, антиэндотоксиновых антител и специфических антител к наиболее распространенной УПФ при часто рецидивирующей роже (ЧРР) в динамике инфекционного процесса.

Под наблюдением находилось 238 пациентов, в т. ч.: 53 – ЧРР и для сравнительной характеристики 90 – с первичной (ПР) и 95 – с редко рецидивирующей (РРР) формами рожи в возрасте от 41 до 65 лет (женщин – 79,1% и мужчин – 20,9%). Диагноз основывался на клинико-анамнестических и объективных данных с выделением ведущих клинических синдромов интоксикации и локальных поражений, а также кратности болезни и оценки тяжести течения.

Плазменный эндотоксин (пг/мл) определяли в ЛАЛ-тесте (Lymulus-amoebocytely-sate-test) по I. Levin et al. (1964), антиэндотоксиновые антитела к гликолипиду (ед./л) в ИФА и специфических антител к УПФ (антигенам стрептококка, стафилококка, кишечной палочки и протей) в тонкослойном иммунном анализе (ТИА) по H. Elving et al. (1989).

Мониторинг лабораторных показателей проводился трижды: в острой фазе (2-14 день болезни), периодах ранней (1-3 месяц диспансерного наблюдения) и поздней (6-12 месяцы диспансерного наблюдения) реконвалесценции. Контрольную группу (n=50) составили здоровые доноры в возрасте от 41 до 65 лет.

Результаты исследования показали, что при среднетяжелой ЧРР в острой фазе заболевания регистрировалось достоверное ($p<0,001$) повышение уровня плазменного ЭТ в 6,4 раза при снижении титра АЭАт, специфических антител к протей – в 1,6 раза, к пиогенному стрептококку – 1,7 раза, к золотистому стафилококку – в 2 раза, к кишечной палочке – в 1,2 раза. В периоде ранней реконвалесценции у 89,3% пациентов сохранялся повышенный уровень плазменного ЭТ в 5,3 раза ($p<0,001$), титра специфических антител к антигенам УПФ соответственно в 1,2-1,9-2,2-2,6 раза. Уровень АЭАт повысился на 20,0% ($p<0,05$). В периоде поздней реконвалесценции у 71,4% пациентов сохранялся достоверно ($p<0,01$) повышенный уровень плазменного ЭТ в 3,6 раза, АЭАт – в 2,5 раза, специфических антител к соответствующим антигенам УПФ в 1,5-2,0-2,3-2,8 раза.

При тяжелой форме ЧРР в острой фазе заболевания регистрировалось достоверное ($p<0,001$) повышение уровня плазменного ЭТ в 14,2 раза при сниженном титре АЭАт в 1,3 раза ($p<0,05$) на фоне достоверного повышения ($p<0,01$) титра специфических антител к антигенам УПФ соответственно в 2,1-2,4-3,0-1,5 раза. В периоде ранней реконвалесценции у 80,5% пациентов сохранялся высокий уровень плазменного ЭТ – в 10,4 раза ($p<0,001$), тогда как титр АЭАт отмечался на уровне здоровых лиц. Уровень специфических антител к антигенам УПФ сохранялся достоверно ($p<0,01$) повышенным соответственно в 1,8-2,6-2,4-3,2 раза. В периоде поздней реконвалесценции у 82% пациентов уровень плазменного ЭТ достоверно ($p<0,001$) снижался по сравнению с показателями предыдущего периода, но сохранялся достоверно повышенным по сравнению с уровнем здоровых лиц – в 5,5 раза; титр АЭАТ сохранялся достоверно ($p<0,01$) повышенным в 2 раза, а специфических антител к антигенам УПФ оставался на том же уровне (1,8-2,3-2,5-2,4).

При сравнительной характеристике у 80,6% пациентов среднетяжелой формой ПР и РРР исходно высокий также уровень плазменного ЭТ в периоде ранней реконвалесценции достигал уровня здоровых лиц при нарастании титра АЭАт в 3-4 раза ($p<0,001$) и специфических антител к пиогенному стрептококку ($p<0,05$). У тяжелых пациентов ПР и РРР исходно высокий уровень плазменного ЭТ ($p<0,001$) в динамике снижался на соответствующих сроках умеренно, оставаясь достоверно ($p<0,01$) повышенным до периода поздней реконвалесценции. Уровень АЭАт у 70% пациентов повышался в 2 раза ($p<0,01$) к периоду поздней реконвалесценции, а динамика специфических антител к антигенам УПФ характеризовалась торпидностью и монотонным нарастанием титра на всех сроках мониторинга.

Таким образом, динамика показателей «эндотоксин-антиэндотоксиновой» системы при часто рецидивирующей роже указывает на выраженность активации эндогенной условно-патогенной флоры с их транслокацией в сосудистое русло, что сопровождается нарастанием уровня плазменного эндотоксина при слабом иммунном ответе с торпидной выработкой антиэндотоксиновых и специфических антител к антигенам бактерий, усугубляющих патологический процесс.

КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫЕ БИОПЛЁНКИ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ СИСТЕМ

Хабинова Н.Н.¹, Валеева Л.Р.¹, Кузнецова С.В.², Гимадеев З.Г.³, Шарипова М.Р.¹

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

² Университетская клиника ФГАОУ ВО К(П)ФУ, г. Казань, Россия

³ Междисциплинарный центр «Аналитическая микроскопия», Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Огромную актуальность на сегодняшний день принимает проблема роста катетер-ассоциированных инфекций. Прежде всего, в связи с высоким риском генерализации, или перехода инфекции в хроническое бактерионосительство с периодическими острыми рецидивами. Все это на фоне растущей проблемы антибиотикорезистентности делает изучение бактериальных биопленок важной задачей. На сегодняшний день, все большую значимость приобретают инфекции мочевыводящих путей. Важными факторами риска в этих случаях являются ослабленность организма приемом антибиотиков в послеоперационный период, длительность катетеризации и сопутствующие заболевания в анамнезе.

На сегодняшний день существует множество способов защиты катетеров от образования биопленок – однако эффективность их стремительно снижается в связи с развитыми защитными и адаптационными механизмами самих микроорганизмов, в частности растущая проблема антибиотикорезистентности, обусловленная передачей генов устойчивости среди бактериальных популяций. В связи с этим особенно остро встает проблема поиска новых эффективных средств для борьбы с биопленкообразованием.

Цель работы – провести анализ бактериальных биопленок, ассоциированных с катетерами мочевыводящих путей.

Для исследования были использованы образцы катетеров пациентов с заболеваниями мочеполовой системы, предоставленные урологическим отделением университетской клиники. Для оценки показателей плотности бактериальных биопленок на поверхности катетеров, использовали метод окраски кристаллическим фиолетовым. Наличие биопленок было показано для 75% исследованных образцов катетеров. Оценку относительных показателей плотности биоплёнки на поверхности катетеров проводили с помощью метода окрашивания красителем кристаллическим фиолетовым. Морфологию бактериальных биопленок и ассоциированных бактерий на поверхности катетеров изучали с помощью сканирующей микроскопии. С поверхности катетеров были выделены штаммы бактерий, относящиеся к условно-патогенным: *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Enterobacter cloacae*. Определили высокую резистентность выделенных штаммов к антибиотикам разных групп. Показали способность выделенных штаммов образовывать моновидовые биопленки *in vitro*. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение генетических и молекулярных механизмов образования биопленок, ассоциированных с инфекциями мочевыводящих систем, что позволит разработать новые эффективные подходы в антимикробной терапии.

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО И ПОЧВЕННОГО ИЗОЛЯТОВ *SERRATIA MARCESCENS*

Хабинова Н.Н., Николаева А.Е., Шарипова М.Р.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

В последние десятилетия серьезный характер приобрели инфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, которые чаще всего возникают в лечебно-профилактических

учреждениях. *S. marcescens* является частым возбудителем оппортунистических заболеваний и могут вызывать инфекции дыхательных и мочевыводящих путей, пневмонию, конъюнктивиты, эндокардит и другие. *Serratia marcescens* тносятся к семейству *Enterobacteriaceae*, это грамотрицательные палочки, способные свободно и спонтанно передвигаться, выделяют в среду пигмент, являются факультативными анаэробами. *S. marcescens* является широко распространенной бактерией, обитающая в почве, воде, воздухе, на растениях, животных или продуктах питания. Тенденцию увеличения частоты выделения условно-патогенных грамотрицательных бактерий при инфекциях различной локализации связывают с наличием у этих бактерий ряда факторов, определяющих их адгезивную, колонизирующую, цитотоксическую и энтеротоксическую активности. Это определяет актуальность исследований, направленных на изучение факторов патогенности, связанных с этиологической значимостью выделяемых штаммов. У бактерий *S. marcescens* описаны различные факторы вирулентности: синтез различных ферментов и гемолизина, способность к инвазии и образованию биопленок и др. В работе проводили сравнительное исследование клинического и почвенного изолятов *S. marcescens*. Изучали морфологические характеристики колоний и клеток исследуемых штаммов. По форме колонии были круглыми, гладкими и блестящими, с круглыми цельными краями. Штамм *S. marcescens*Sm6 (почвенный изолят)обладал способностью продуцировать красный пигмент. Непигментированные колонии штаммов *S. marcescens*SR41 (клинический изолят) имели беловато-сероватую окраску. Клетки изолятов представляли собой грамотрицательные мелкие палочки при выращивании на твердой среде и увеличивались в длину при росте на жидкой среде. Как и некоторые другие члены энтеробактерий, они могут иметь биполярный внешний вид, или "булавку" при окрашивании по Граму, где концы клеток окрашиваются темнее, чем в середине (Машлен). Исследовали способность изолятов к разложению сахаров на среде Гисса: штаммы способны к ферментации глюкозы, сахарозы, маннита и мальтозы, о чем свидетельствует изменение цвета среды при культивировании по сравнению с контролем. Лактозу ферментируют медленно. Учитывая, что гемолизины относят к факторам патогенности, и они могут быть использованы в качестве маркеров при оценке этиологической значимости выделенных культур, нами изучена гемолитическая и активность у штаммов *S. marcescens*. Наличие гемолизина исследовали на эритроцитах крови человека. Результаты проведенных исследований показали, что зону лизиса на среде Blood agar (Difco и Oxoid) давали оба штамма: Sm6 и SR4, причем наибольшей активностью обладал дикий почвенный изолят.

Изучали рост бактерий на среде *LB* при различных температурах: при 30° стационарная фаза роста штаммов пролонгировалась, а при 37° после 20 час наступала фаза отмирания. Изучали динамику роста и накопления гидролитической активности штаммов *S. marcescens*Sm6и SR41.Полученные результаты показывают, что наибольшая протеолитическая активность была отмечена у почвенного изолята *S. marcescens*Sm6, который на 15-16 часы культивирования показал высокую активность протеаз на протяжении 36 часов культивирования. Штамм *S. marcescens*SR41показал протеолитическую активность в 2,5 раза ниже. Изучение влияния различных ингибиторов на активность протеиназы показало, что фермент не ингибируется PMSF, но практически полностью ингибируется 1,10-фенантролином, что указывает на принадлежность фермента к классу металлопротеиназ.

Нуклеаза *S. marcescens*является неспецифической эндонуклеазой, которая расщепляет молекулы РНК и ДНК. Нуклеазная активность у обоих изолятов обнаружена в культуральной жидкости в стационарной фазе роста с двумя пиками максимумов накопления фермента: на 8 - 10 часы и 24 – 26 часы культивирования. Причем у беспигментного штамма *S. marcescens*SR41 нуклеазная активность существенно выше, чем у пигментированного штамма *S. marcescens*Sm6.

Окислительный стресс оказывал негативное влияние на рост бактерий. Микроорганизмы обладают механизмами защиты от активных форм кислорода O₂ и перекиси водорода. Чувствительность бактерий *S. marcescens*Sm6 к различным концентрациям перекиси водорода изучали по ингибированию роста на среде *LB* и показали, что присутствие перекиси водорода в культуральной среде приводило к пролонгированию lag-фазы культуры. Ингибирующий эффект зависел от концентрации перекиси водорода. Наибольшая разница в динамике роста *S.*

*marcescens*Sm6 на контрольной среде и среде с 10 мМ перекисью водорода наблюдалась на 3-4 часы культивирования. С течением времени происходила инактивация реактивных форм кислорода в среде и штамм восстанавливал жизнеспособность. Перекись водорода в концентрации 10 мМ приводила к снижению оптической плотности культуры на 3 час роста на 50% и на 4 час - 40% от контроля, что связано с исчезновением перекиси водорода из среды в результате разложения этого короткоживущего соединения.

В медицинской практике всё чаще сталкиваются с распространением биопленок, которые способствуют развитию устойчивости к антибиотикам. Выраженную способность к образованию биопленок на среде LB показал почвенный изолят *S. marcescens*Sm6. Оптимальной температурой для образования биопленок штаммами *S. marcescens*Sm6 и *S. marcescens*SR-41 является 28 °С. Движение по типу роения у всех штаммов характеризовалось низкой скоростью, тем не менее, почвенный изолят роился быстрее в отличие от клинического. Максимальной жгутиковой подвижностью по типу плавания обладал дикий штамм *S. marcescens*SR41.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ И СУСТАВОВ

Хабирова Г.З., Мамедова С.Н., Сангаджиев М.С., Шакиров И.А.

ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Актуальность. Гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей и суставов – одна из наиболее острых проблем клинической хирургии. В связи с активным внедрением в практику антимикробных препаратов, увеличением числа инвазивных вмешательств и развитием крупных многопрофильных стационаров состав и свойства патогенной флоры претерпевают существенные изменения. Оценка видового разнообразия и чувствительности возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний имеет большую практическую ценность, позволяя прогнозировать и корректировать назначаемую терапию с учетом возможной резистентности микроорганизмов, повышая эффективность лечения.

Цель исследования. Проанализировать микробный пейзаж при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей и суставов, пользуясь данными опубликованных исследований. Провести выделение и идентификацию микроорганизмов из гнойного отделяемого, полученного от пациентов, находящихся на излечении в отделении гнойной хирургии республиканской клинической больницы. Исследовать чувствительность выделенных штаммов к антибактериальным препаратам. Сравнить полученные экспериментальные данные с опубликованными.

Материалы и методы. Для анализа состава микрофлоры при гнойно-воспалительных процессах различной локализации использованы данные научно-исследовательских работ, опубликованных в период с 2008 по 2014 гг.

Экспериментальная часть. Сбор гнойного раневого отделяемого осуществлялся с помощью стерильного тампона движениями от центра к периферии. Тампоны помещались в стерильные пробирки с жидкой питательной средой и доставлялись на исследование. У пациентов с гнойным артритом производилась пункция суставной полости и аспирация содержимого стерильным шприцем с дальнейшим переносом полученной жидкости в пробирку с питательной средой. Идентификация микроорганизмов основывалась на совокупности морфологических, культуральных и биохимических признаков. Чувствительность к антибактериальным препаратам исследовалась согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (2015 г.).

Результаты. Согласно данным, опубликованным в научных периодических изданиях за период 2008 – 2014 гг., ведущими патогенами при гнойно-воспалительных заболеваниях

являются: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, формирующие микробиоценоз отделения гнойной хирургии многопрофильного ЛПУ регионального уровня. Несмотря на сохранение в целом доминирующей роли *S. aureus*, в последнее время проявляется отчетливая тенденция к уменьшению доли грамположительных кокков за счёт снижения количества стрептококков и стафилококков и усилению роли энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий. [3] Авторами отмечается повышение частоты встречаемости штаммов *P. aeruginosa*, устойчивых к цефалоспорином III и IV поколения, карбапенемам. [2] Значительно возросла этиологическая роль бактерий рода *Klebsiella*, в том числе полирезистентных штаммов. [1, 2]

От вовлеченных в исследование пациентов были выявлено 13 штаммов следующих этиологически значимых микроорганизмов: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *K. ozenae*, *E. faecalis*. В двух случаях наблюдалась микробная ассоциация: 1) *S. epidermidis* и *P. aeruginosa*; 2) *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*. Обращает внимание степень чувствительности выделенных штаммов к антимикробным лекарственным средствам: так, штаммы *E. cloacae* и *Enterobacter agglomerans* оказались устойчивыми к подавляющему большинству исследованных препаратов (ампициллину, цефалоспорином III и IV поколения, карбапенемам, азтреонаму, ципрофлоксацину, норфлоксацину, амикацину). Аналогичный спектр устойчивости, в т.ч. к фосфомицину, демонстрировал штамм *K. ozenae*. В 1 случае инфекционный процесс был вызван метициллинрезистентным золотистым стафилококком (MRSA), в 2 случаях – метициллинрезистентными коагулазонегативными стафилококками (MRCNS). Среди выделенных штаммов *P. aeruginosa* наблюдалось снижение чувствительности к цефотаксиму, цефоперазону, амикацину, азтреонаму.

Выводы. Результаты проведенного анализа соотносятся с данными, приведенными в исследовательских работах прошлых лет:

1. прослеживается четкое увеличение роли энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий в структуре этиологических причин гнойно-воспалительных заболеваний, наблюдается рост разнообразия микробной флоры;

2. среди возбудителей гнойно-воспалительных процессов растет число агрессивных полирезистентных штаммов различных групп: грамположительных кокков, энтеробактерий, синегнойной палочки и др., при этом особого внимания заслуживает снижение чувствительности бактерий к антибиотикам резерва (карбапенемы, монобактамы);

3. вышеуказанные факты позволяют предположить рост циркуляции госпитальных штаммов в условиях хирургических стационаров, что требует принятия соответствующих мер.

Список использованной литературы:

1. Жилина С.В., Миронов А.Ю., Поликарпова С.В. Энтеробактерии при гнойно-воспалительных заболеваниях кожи и мягких тканей // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2008. №1 С. 58–63.

2. Маркелова Н.Н., Семенова Е.Ф., Шпичка А.И., Моисеева И.Я., Родина О.П. Мониторинг чувствительности некоторых возбудителей оппортунистических инфекций к современным препаратам антибиотиков различного происхождения // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. 2014. №23 (194). С. 105–111.

3. Миронов А.Ю., Жилина С.В., Дмитренко О.А., Авилова Н.Д. Микробиоценоз отделения гнойной хирургии городской клинической больницы // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2012. №3. С. 57–64.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ЗА 2017г.

Хакимзянова М.В.¹, Карпова И.А.¹, Сафина Р.Ф.¹, Нестерова Ю.Н.², Хабирова Г.З.³

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Республике Татарстан (Татарстан)», г. Казань, Россия

В последние годы в мире отмечен значительный рост случаев инфекционных заболеваний, вызванных неполиомиелитными энтеровирусами. Актуальность энтеровирусной инфекции (ЭВИ) определяется широким распространением, полиморфизмом клинических проявлений данного заболевания, бессимптомным вирусоносительством, большим разнообразием возбудителей, а также устойчивостью энтеровирусов во внешней среде.

Постоянно регистрируемые подъёмы заболеваемости и вспышки в разных странах говорят об активизации ЭВИ в мире, особенно в странах Азиатско-Тихоокеанского региона.

В Республике Татарстан в 2017г. зарегистрировано 685 случаев энтеровирусной инфекции, показатель заболеваемости составил 17,81 на 100тыс. населения, что выше показателей 2016г. (14,2 на 100тыс. населения). Такой высокий уровень заболеваемости зарегистрирован впервые с момента введения учета ЭВИ в Республике Татарстан.

В 2017 г. случаи заболевания выявлены в 16 районах Республики Татарстан. Распределение заболеваний по территории было неравномерным, при этом значительный рост показателей заболеваемости ЭВИ отмечен в Бавлинском, Зеленодольском районах и в г.Казани.

Динамика ежемесячных показателей заболеваемости ЭВИ характеризуется ярко выраженной сезонностью. Сезонный подъем в 2017г. начался в июле и длился 4 месяца. На период сезонного подъема пришлось 87,7% всех случаев заболеваний.

В возрастной структуре заболевших ЭВИ, как правило, преобладают дети до 17 лет, в 2017 г. их доля составила 95,9%. На взрослое население пришлось 4%, а основную заболеваемость формировали дети 1-2 лет (42,2 %), дети 3-6 лет (27%), дети до 1 года (14,45%).

Структура клинических форм ЭВИ в 2017г. незначительно изменилась по сравнению с прошлыми годами: вирусная эритема - 40,1%, герпангина – 25,8%, стоматит – 14,7%, ОРВИ – 11,4%, кишечные инфекции – 4,7%, ЭВ менингит – 3,3%.

За 2017г. на ЭВИ методом ПЦР было обследовано 365 контактных лиц из очагов. В результате проведенных исследований выявлена РНК ЭВИ в 116 пробах, что составило 31,7%, что говорит об активности эпидемиологического процесса, распространённости носительства и высокой контагиозности.

В 2017г. с целью мониторинга за ЭВИ в Республике Татарстан было отобрано 497 проб из объектов окружающей среды, в том числе вода открытых водоемов -156 проб, сточная вода – 253 пробы, водопроводная вода – 86 проб, вода бассейна – 2 пробы. В результате 42 пробы оказались положительными. РНК ЭВИ выявлены в 6 пробах воды открытых водоемов и в 36 пробах сточной воды.

В 2017 г. ЭВИ в Республике Татарстан характеризовалась значительным эпидемическим подъемом заболеваемости, преобладанием доли детей в структуре заболевших. Проведенные лабораторные исследования объектов внешней среды и материала от контактных лиц из очагов свидетельствуют о значительном носительстве среди здоровых лиц и высокой контагиозности энтеровирусов.

МИКОТИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ И ДЕМОДЕКОЗ ПРИ АКНЕ

Халдеева Е.В.¹, Лисовская С.А.^{1,2}, Глушко Н.И.¹, Агафонова Е.В.¹, Хайдарова Г.Г.¹, Хисматулина И.М.², Файзуллина Е.В.², Абдрахманов Р.М.²

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

²ФГБОУВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Акне – хроническое мультифакториальное заболевание сальных желез и волосяных фолликулов. Это один из самых распространенных дерматозов. По данным J. Leyden им страдают 85% лиц в возрасте 12 - 24 лет, 8% лиц 25 – 34 лет, 3% лиц 35 – 44 лет. К факторам,

способствующим возникновению акне относят наследственную предрасположенность, гормональные дисфункции, нарушения работы ЖКТ, паразитарные инфекции, неправильное питание, стресс, заболевания нервной и эндокринной системы, гинекологические заболевания. В то же время, отмечается, что тяжелые формы акне ассоциированы с высокой степенью микробной обсемененности кожи, а также, нередко, усугубляются микотическими осложнениями и демодекозом.

Демодекоз представляет собой заболевание кожи с хроническим течением, для которого характерно обострение в весенне-осенний период времени, чаще всего возникающее на фоне снижения иммунитета. Его возбудителем является клещ рода *Demodex* (*Demodex folliculorum* или *Demodex brevis*), который обычно паразитирует на коже лица, в волосяных фолликулах и сальных железах. Клещ рода *Demodex* является представителем нормальной микрофлоры человека и может встретиться практически у любого человека вне зависимости от возраста, пола, расы и социального статуса. У здорового человека пребывание клеща рода *Demodex* на коже протекает бессимптомно, не вызывая при этом каких-либо проявлений. Однако в некоторых случаях демодекоз может привести к развитию розацеа (розовые угри), а также осложнить течение других кожных заболеваний, в том числе, акне, что требует применения дополнительных терапевтических средств.

Целью исследования явился анализ состава микробиоты кожи лица при акне в зависимости от наличия демодекоза.

Материалы и методы. Обследовано 44 пациента с акне средней и тяжелой степени, из них 68,2% женщин (n=30) и 31,8% мужчин (n=14). Возраст пациентов составил от 18 до 30 лет, медиана возраста 25 лет. У всех пациентов заболевание длилось не менее 1 года (от 1,5 до 2 лет). Критерием исключения были проявления розацеа.

Всем пациентам проводилось обследование на демодекоз, микробиологическое и микологическое исследование кожи лица. Биоматериал отбирали методом мазков и соскобов.

Результаты исследования и их обсуждение.

Основной формой акне при средней степени поражения была папулопустулезная – 68,2% (n=15), при тяжелой степени - узловато-кистозная форма – 31,8% (n=7). Папулопустулезная форма характеризовалась наличием значительного количества (от 10-18 элементов) воспалительных полушаровидных фолликулярных папул и пустул. При узловато-кистозной форме к имеющимся папулам и пустулам присоединялись глубокие шаровидные узловато-кистозные элементы.

По результатам исследования на наличие клеща рода *Demodex*, пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили пациенты (n=22) со средней и тяжелой степенью акне, у которых было отмечено присутствие особей и яиц *Demodex*. Во вторую группу вошли пациенты (n=22) у которых присутствие особей и яиц *Demodex* выявлено не было.

Микробиом кожи больных средне-тяжелыми и тяжелыми формами акне пациентов первой группы был представлен следующей флорой. Рост *Propionibacterium acnes* обнаруживался у 90% (n=20) пациентов. У всех 100% больных (n=22) присутствовала кокковая флора: *Staphylococcus epidermidis* – в 95,5% (n=21), *Staphylococcus aureus* - в 9% (n=2) случаях.

Присутствие грибов было выявлено у 54,5% (n=12) пациентов первой группы. При этом, отмечали присутствие грибковых ассоциаций, включающих в себя грибы 2-3 видов. Дрожжеподобные грибы в составе грибковых ассоциаций были обнаружены в 31,8% случаях (n=7), в том числе *Candida albicans*(n=7), *Rhodotorula mucilaginosa*(n=2), *Candida parapsilosis* (n=1). В остальных случаях отмечали присутствие плесневых грибов (*Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium spp.*, *Rhizopus nigricans*). При выделении плесневых грибов в анамнезе отмечалось обильное использование пациентом косметических средств (особенно тональных кремов и косметических масок).

Анализ состава микробиоты кожи лица у пациентов второй группы (в отсутствие демодекоза) выявил присутствие *Propionibacterium acnes* у 95,5% (n=21) пациентов, кокковой флоры у 81,8% (n=18), в том числе, *Staphylococcus epidermidis* – в 81,8% (n=18), *Staphylococcus aureus* - в 4,5% (n=1) случаях.

Также у пациентов второй группы в 40,9% (n=9) случаев отмечали присутствие грибов. В 3 случаях грибы были выявлены в монокультуре, в 6 – в составе грибковых ассоциаций.

Дрожжеподобные грибы выявлены в 27,3% (n=6) случаев, в том числе *Candida albicans* (n=5), *Rhodotorula mucilaginosa* (n=3), *Candida parapsilosis* (n=1). В одном случае (4,5%) отмечено присутствие на коже лица дерматомицета *Trichophyton mentagrophytes*. Плесневые грибы встречались в 27,3% (n=6) случаев, обычно в составе ассоциаций с дрожжеподобными грибами. При выявлении в посевах дерматомицетов и дрожжеподобных грибов, пациентам рекомендовалось обследовать ногтевые пластины и кожу кистей. В результате этих исследований, у всех обследованных пациентов (n=7) было выявлено присутствие грибов на ногтевых пластинах.

Выводы. Присутствие грибов при акне можно рассматривать как вторичную инфекцию, фактором риска которой является наличие у пациента сопутствующего онихомикоза кистей, а также использование зараженных спорами грибов косметических средств, спонжей и кисточек.

Сравнение результатов, полученных для двух групп пациентов, не позволяет сделать однозначный вывод о наличии либо отсутствии влияния демодекоза на состав микробиоты и частоту микотического поражения кожи лица при акне, хотя несколько более высокая частота встречаемости грибов в присутствии демодекоза указывает на необходимость учета этого фактора при назначении исследований.

При средне-тяжелых и тяжелых акне отмечается смешанный состав микробиоты, что следует учитывать при назначении наружной терапии этого заболевания. Проведение комплексного исследования микробиоты кожи лица при акне является весьма желательным, поскольку позволяет назначить адекватную терапию в зависимости от результата. Помимо этого, необходимо уделить внимание лечению сопутствующих инфекционных дерматозов, а также контролю за использованием косметических средств. Применение такого подхода дает возможность добиться большего прогресса в терапии акне, способствуя повышению качества жизни пациента.

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ В Г. КАЗАНИ ЗА 2012 – 2015 ГГ.

Шайдуллина Э.Р., Марданова А.М.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются одной из серьезных проблем общественного здравоохранения и распространены как среди амбулаторных, так и госпитальных инфекций. ИМП имеют бактериальное происхождение и вызываются как грамотрицательными, так и грамположительными микроорганизмами, чаще всего *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* и другими [1].

ИМП считаются одними из самых распространенных инфекций во всем мире. Например, в США по результатам национального исследования выявлено, что почти 7 млн. амбулаторных посещений и 1 млн. случаев обращения в отделения неотложной помощи связаны с эпизодами ИМП [2]. Заболеванию подвержены люди любого возраста, однако для женщин высока доля заболеваемости в возрасте 20-40 лет и старше 60 лет [3], среди мужчин ИМП достаточно редки и чаще болеют мальчики первого года жизни [4].

Настоящая работа посвящена ретроспективному анализу структуры возбудителей ИМП в г. Казани. В исследовании оценивались данные бактериологических анализов мочи, проведенные на базе лечебно-диагностического центра «Биомед» г. Казани за период с января 2012 по декабрь 2015 года.

Всего за 2012-2015 гг. в лаборатории проанализировано 19928 образцов мочи, из которых положительных на наличие бактериальной инфекции было 32.9% (6555 образцов). Основная доля ИМП приходилась на долю женщин – 86.8% (5690/6555). Анализ распределения случаев ИМП по годам показывает, что доля ИМП у женщин возрастает с 85.4% в 2012 г. до 91.2% в 2015 г.

Анализ числа случаев ИМП, вызванных одним возбудителем (моноинфекции) или двумя и более (смешанная инфекция) показывает, что количество случаев смешанных инфекций ИМП значительно возрастает с 5.5% в 2012 г до 17.4% в 2015 г.

Сравнение в группах мужчин и женщин показывает, что в группе женщин за период с 2012 по 2015 гг. число случаев ИМП возрастает как в случае моноинфекций (с 83.1% до 90.9% от всех случаев моноинфекций), так и в случае смешанных инфекций (с 72.7% до 88.6% от всех случаев смешанных инфекций). В группе же мужчин – значительно снижается с 16.9% до 9.1% в случае моноинфекций и с 27.3% до 11.4% в случае смешанных инфекций.

Сравнительный анализ случаев ИМП по возрастному критерию показывает, что распределение случаев ИМП по возрасту в целом не меняется - основная доля ИМП приходится на долю взрослых пациентов (20-40 лет) в каждом году за указанный период. Однако доля случаев, приходящихся на пациентов 20-30 лет, значительно возрастает с 29.5% до 43.8% за 4 года наблюдения. Эта же тенденция наблюдается в группе пациентов 30-40 лет (с 16.9% до 23.4%) и в группе детей до 1 года (с 7.6% до 10.8%). В группах старшего возраста наблюдается обратная тенденция – доля случаев ИМП снижается в два раза в группах пациентов 50-60 лет, 60-70 лет и в группе пациентов старше 70 лет – с 7-7.7% до 3.4-3.5%.

При анализе структуры возбудителей ИМП выявлено, что основными являются *Escherichiacoli* (средняя доля за 4 года составляет 43.5%), *Enterococcusfaecalis* (28.5%), *Klebsiellapneumoniae* (12%) и *Streptococcus* группы В (7.1%). Причем доля грамотрицательных возбудителей в структуре снижается (для *E.coli* с 48.5 до 39.1%), а доля грамположительных повышается: для *E. faecalis* – с 23.9 до 35.3%, для *Streptococcus* гр. В – с 5.3 до 8%.

Сравнительный анализ этиологической структуры ИМП в случае моноинфекций и смешанных инфекций показал, что основным возбудителем моноинфекций ИМП является *E. coli* (42.8-51.3%), тогда как смешанных инфекций ИМП – *E. faecalis* (30.4-40.8%).

Таким образом, этиологическая структура ИМП в г. Казани за период с 2012 по 2015 гг. значительно отличается от структуры возбудителей ИМП в российских [5] и международных [6, 7] исследованиях. В г. Казани наблюдается значительное снижение доли *E.coli*, как основного возбудителя ИМП, за счет увеличения доли *E. faecalis* в этиологической структуре ИМП.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Flires-Mireles A.L. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options / A.L. Flires-Mireles, J.N. Walker, M. Caparon, S.J. Hultgen // Nat Rev Microbiol. – 2015. – V.13. – P.269-284.

Foxman B. Epidemiology of urinary tract infection: incidence, morbidity, and economic costs / B. Foxman // Dis Mon. – 2003. – V.49. – P.53-70.

Morris V. Recurrent urinary tract infections // BJFM. – 2015. – URL: <https://www.bjfm.co.uk/recurrent-urinary-tract-infections> (Датадоступа: 19.06.2018).

Kunin C.M. Urinary tract infection. Detection, prevention, and management. – Baltimore: Williams & Wilkins, 1997. – 419 pp.

Палагин И.С. Современное состояние антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевыводящих путей в России: результаты исследования «ДАРМИС» (2010-2011) / И.С. Палагин, М.В. Сухорукова, А.В. Дехнич, М.В. Эйдельштейн, А.Н. Шевелев, А.В. Гринев, Т.С. Перепанова, Р.С. Козлов, исследовательская группа «ДАРМИС» // КМАХ. – 2012. – Т.14. – С. 280-302.

Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project / G. Kahlmeter // J Antimicrob Chemother. – 2003. – T.53. – P.69-76.

Schito G. C. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections / G.C. Schito, K.G. Naber, H. Botto, J. Palou, L. Gualco, A. Marchese // Int J Antimicrob Agents. – 2009. – T.35(5). – P.407-413.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОСТ-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

Шайдуллов И.Ф., Новоселова В.А., Александрова А.Ю., Яруллина Д.Р., Ситдикова Г.Ф.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

Синдром раздраженного кишечника (СРК) – функциональное желудочно-кишечное расстройство, обычно возникающее из-за дисфункции кишечника, и определяется как переменная комбинация хронических или рецидивирующих желудочно-кишечных симптомов, необъясняемых никакими структурными или биохимическими аномалиями [Romano C. *et al.* 2013]. Несмотря на высокую распространенность, этиология и патофизиология СРК остаются плохо понятными и часто упоминаются как многофакторное заболевание. СРК характеризуется хронической гиперчувствительностью кишечника и висцеральной болью, определяемой как неприятное ощущение, которое в отличие от соматической боли является диффузной и трудно локализованной [Robinson, Gebhart, 2008]. При СРК происходят изменения в составе кишечной микробиоты [Simrén *et al.*, 2013], хотя не известно, являются ли они причиной или следствием СРК [Theodorou *et al.*, 2014]. Известно, что нарушения кишечной микрофлоры могут влиять на двигательную активность кишечника, целостность интестинального барьера, местные иммунные реакции, нервную регуляцию. Было показано, что при СРК в микробном сообществе происходит снижение биоразнообразия и изменение содержания отдельных групп микроорганизмов. Например, отмечено снижение численности лактобацилл и бифидобактерий и увеличение численности *Streptococcus* и *Ruminococcus*, а также возростание числа *Firmicutes* по отношению *Bacteroidetes* [Distrutti *et al.*, 2016; Bhattarai *et al.*, 2016].

Целью работы является разработка экспериментальной модели пост-воспалительного синдрома раздраженного кишечника у мышей и оценка ее эффективности по гиперчувствительности кишечника и составу кишечной микробиоты.

Материалы и методы. В работе использовали половозрелых белых мышей-самцов массой 15-20 г, которых содержали в виварии КФУ в условиях, регламентированных ГОСТ Р 50258-92. Исследование выполнено в соответствии с разрешением Локального этического комитета КФУ (протокол №8 от 05.05.2016). Для разработки экспериментальной модели пост-воспалительного СРК животных опытной группы (n=10) в течение 21 дня ежедневно подвергали неонатальной сенсibilизации путем внутриректального введения разбавленного 1% раствора уксусной кислоты. Мыши контрольной группы получали одинаковый объем физиологического раствора. На 45 день после прекращения протокола раздражения во всех группах оценивали гиперчувствительность толстой кишки путем измерения пороговой интенсивности брюшного сгибательного рефлекса (БСР), возникающего в ответ на колоректальное растяжение. Ректальное растяжение проводили с использованием артериального эмболизмического катетера (4-Fr, Edwards Lifesciences LLC, США), который вводили внутриректально минимально инвазивным образом на расстоянии 2 см от анального края анестезированных мышей (2% изофлурана, Abbott, Великобритания). После 30 минут адаптации животного проводили измерение БСР, для чего визуально наблюдали реакции на быстрое фазное растяжение баллона в течение 20 секунд в порядке возрастания (0.1, 0.25, 0.35, 0.5 и 0.65 мл). Каждый уровень растяжения повторяли три раза с интервалом в 30 с. Реакцию животного оценивали по балльной шкале БСР: 0, отсутствие поведенческого ответа на колоректальное растяжение; 1, короткое движение головы, за которым следует неподвижность; 2, сокращение мышц живота; 3, подъем живота; 4, выгибание тела и подъем тазовой части [Al-Chaer *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2015].

На 45 день эксперимента исследовали изменение состава кишечной микрофлоры при пост-воспалительном СРК методами классической микробиологии с помощью сред специального назначения, оценивая общую обсемененность фекалий мышей аэробными и факультативно анаэробными бактериями на БТН-агаре («Биотехновация», Россия), энтеробактериями на среде Эндо (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), в том числе *Salmonella* spp. и *Shigella* spp. на

бактоагаре Плоскирева (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), молочнокислыми бактериями (МКБ) на среде для выделения молочнокислых бактерий с мелом [Нетрусов с соавт., 2005], в том числе *Lactobacillus* spp. на среде MRS [De Man *et al.*, 1960].

Результаты и обсуждение. Оценка висцеральной чувствительности у мышей контрольной и экспериментальной групп показала появление висцеральной гиперчувствительности в модели пост-воспалительного СРК. В ответ на растяжение толстого кишечника объемами 0.1 и 0.25 мл отличий в реакции животных не наблюдалось ($n=17$, $p>0.05$). При растяжении объемом 0.35 мл в контроле значение БСР составило 1.54 ± 0.16 ($n=10$) в контроле и 2.29 ± 0.19 в группе СРК ($n=17$, $p<0.05$). При объеме 0.5 мл показатели БСР в опытной группе (3.23 ± 0.18) были значительно выше, чем в контрольной группе (2.63 ± 0.19 , $p<0.05$). Однако при растяжении объемом 0.65 мл существенных различий во всех группах не наблюдалось ($p>0.05$), что может быть связано с высоким уровнем стимуляции и увеличению интенсивности ответа на раздражение.

Животные опытной группы, у которых был сформирован пост-воспалительный СРК, как и животные контрольной группы, характеризовались высокой общей обсемененностью образцов – $10^{14.5}$ КОЕ/г фекалий и $10^{14.8}$ КОЕ/г фекалий, соответственно. Моделирование СРК не приводило к достоверному снижению молочнокислых бактерий, в том числе лактобацилл, в фекалиях по сравнению с животными, не имевшими СРК. Развитие пост-воспалительного СРК оказывало существенное влияние на содержание представителей семейства *Enterobacteriaceae* в кишечнике мышей. Так, у животных контрольной группы в фекалиях лактозоположительные и лактозоотрицательные бактерии присутствовали в равном соотношении и не высевались сальмонеллы и шигеллы. У мышей с пост-воспалительным СРК в кишечнике практически полностью исчезали лактозоположительные энтеробактерии и оставались только лактозоотрицательные *Salmonella* spp. и *Shigella* spp., что свидетельствует о неблагоприятных изменениях в кишечной микробиоте при СРК.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-415-160005 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ.

Список использованной литературы:

1. Romano C. *et al.* Partially hydrolyzed guar gum in pediatric functional abdominal pain / Romano, C., Comito, D., Famiani, A., Calamarà, S., Loddo, I. //World Journal of Gastroenterology: WJG. – 2013. – V. 19. – №. 2. – P. 235.
2. Robinson D. R., Gebhart G. F. Inside information–The unique features of visceral sensation //Molecular Interventions. – 2008. – V. 8. – №. 5. – P. 242.
3. Simrén M. *et al.* Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report / Simrén, M., Barbara, G., Flint, H. J., Spiegel, B. M., Spiller, R. C., Vanner, S., Zoetendal, E. G. //Gut. – 2012. – P. gutjnl-2012-302167.
4. Theodorou V. *et al.* Effect of commensals and probiotics on visceral sensitivity and pain in irritable bowel syndrome / Theodorou, V., Ait-Belgnaoui, A., Agostini, S., & Eutamene, H. //Gut microbes. – 2014. – V. 5. – №. 3. – P. 430-629.
5. Distrutti E. *et al.* Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies / Distrutti, E., Monaldi, L., Ricci, P., & Fiorucci, S. //World journal of gastroenterology. – 2016. – V. 22. – №. 7. – P. 2219.
6. Bhattarai Y. *et al.* Irritable bowel syndrome: a gut microbiota-related disorder? / Bhattarai, Y., Muniz Pedrego, D. A., & Kashyap, P. C. //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2016. – V. 312. – №. 1. – P. G52-G62.
7. Al-Chaer E. *et al.* A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development / Al-Chaer, E. D., Kawasaki, M., & Pasricha, P. J. //Gastroenterology. – 2000. – V. 119. – №. 5. – P. 1276-1285.
8. Yang B. *et al.* Changes of cytokine levels in a mouse model of post-infectious irritable bowel syndrome / Yang B., Zhou X., Lan C. //BMC gastroenterology. – 2015. – V. 15. – №. 1. – P. 43.
9. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии [Текст] / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук // Москва. – 2005. – 608 с.
10. De Man J. *et al.* A medium for the cultivation of lactobacilli / De Man J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. //Journal of Applied Microbiology. – 1960. – V. 23. – №. 1. – P. 130-135.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА *THYMUS CAPITATUS* L.

Шарифуллина Э.С.¹, Хассан Г. О. О¹, Хабибрахманова В.Р², Карамова Н.С¹

¹ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

²ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань, Россия

Лекарственные растения привлекают большое внимание исследователей как источник новых антимикробных препаратов, сравнительно безопасных как для организма человека, так и для окружающей среды.

Тимьян головчатый, *Thymus capitatus* L. издавна используется в народной медицине при лечении разных заболеваний, и входят в фармакопеи многих стран. Эфирное масло растения применяют в терапии лёгочных заболеваний, жидкий экстракт и отвар из листьев - в качестве отхаркивающего средства. Эти факты свидетельствуют о перспективности использования этого растения для создания новых эффективных лекарственных средств и биологически активных добавок [Chedia *et al.*, 2013].

Целью данной работы явилась оценка антимикробного потенциала этанольного экстракта *Thymus capitatus* L. в отношении микроорганизмов, ассоциированных с респираторными инфекциями.

Материалы и методы. Антимикробная активность этанольного экстракта *Thymus capitatus* исследовалась в отношении 5 видов грамотрицательных, 3 видов грамположительных бактерий и дрожжеподобных грибов *Candida tropicalis*, выделенных из клинического материала пациентов с респираторными заболеваниями в клиниках Каср-Эль-Айни, Эль-Рахма и Маср-Эль-Гедида, Египет. В качестве растительного материала использовали наземные части растений тимуса головчатого *Thymus capitatus* L. Оценка антимикробного потенциала этанольного экстракта *Thymus capitatus* L. проводили с использованием диско-диффузионного метода (ДДМ).

Результаты. Установлено, что этанольный экстракт *Thymus capitatus* вызывает ингибирование роста большинства тестированных микроорганизмов. В последующих экспериментах проверялась антимикробная активность водной, этилацетатной, гексановой, хлороформной фракций этанольного экстракта *Thymus capitatus*. Согласно полученным результатам, среди всех исследованных образцов, наивысшую антимикробную активность демонстрирует гексановая фракция, особенно в отношении *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*. Среди грамотрицательных бактерий наиболее чувствительными к действию гексановой фракции были *Acinetobacter baumannii* и *Enterobacter cloacae*.

Заключение. Таким образом, результаты данной работы свидетельствует о том, что гексановая фракция этанольного экстракта растений *Thymus capitatus* L. aminaseae может быть использована как потенциальный источник новых природных антимикробных агентов.

Список использованной литературы:

1. Comparison of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Thymus capitatus* L. essential oils from two Tunisian localities (Sousse and Bizerte) /A. Chedia *et al.* // Agronomy and Plant Production. 2013.V. 4 (8), P.1772-1781

CASE-CONTROL STUDY OF GASTRIC CARCINOMA PATIENTS AND A CONTROL GROUP IN BULGARIA

Mladenova I.¹, Grekova O.¹, Kirova D.³, Petrov D.²

¹Trakia University, Medical Faculty,

Dept. of Epidemiology and Infectious Diseases, Stara Zagora, Bulgaria,

²Trakia University, Medical Faculty, Dept. of Social Medicine, Stara Zagora, Bulgaria,

The causal association between *H.pylori* infection and gastric carcinoma is proved. In 1994, on the basis of epidemiological studies, the International Agency for Research on Cancer identified *H.pylori* as a “Group 1 carcinogen“. *Helicobacter pylori* is strongly associated with gastric carcinoma and MALT-lymphoma. Currently, the gastric cancer is the fourth most common cancer worldwide. More than 700,000 people die each year- the second leading cause of death associated with cancer. Risk of non-cardia gastric cancer is six times higher for *H. pylori*- infected people than for uninfected people.

In Bulgaria, stomach cancer is the sixth most common cancer in men (5.6%) and the eighth – in women (3.8%). It accounts for 4.7 % of all cancer cases, for 2013. In the same year, there were 1 555 new cancer cases, of which 62.8% were in men. The crude incidence rates were 27.6 per 100 000 men and 15.5 per 100 000 women. Morbidity and mortality from gastric cancer in men in Bulgaria is higher than the average for Europe. In 2013, there were 1 258 stomach cancer deaths, of which 62.0% were in men. The crude mortality rates were 22.1 per 100 000 men and 12.8 per 100 000 women. 77.6% of the new cases were morphologically confirmed and in the majority of them the diagnosis was adenocarcinoma. More than half of the patients (53.2%) were diagnosed in the late stages of the disease (stages 3 and 4); 23.7% at stages 1 and 2, and in almost 25% - stages are not identified.

Aim of the study was to compare the prevalence and the risk factors for *H.pylori* infection in patients with gastric carcinoma, and their first-degree relatives, and in a control group in Stara Zagora, Bulgaria.

Materials and methods. We investigated 31 families with a gastric cancer patient, their first-degree relatives (total 75 people) and a control group (total 98 people). The patients were tested by “DIAQUICK” *H.pylori* Stool Cassette- a rapid test for qualitative detection of *H.pylori* antigen in faeces. A questionnaire (38 questions) for lifestyle and sociodemographic possible risk factors for acquisition of infection was completed by 173 people. The data was analyzed by Chi-square test, Fisher’s exact test. Binary logistics regression was applied for the univariate analysis using IBM SPSS Statistics 24.

Results and Discussion. The mean age of the members of families of gastric cancer patients is 63 (19-82), and the mean age of the controls is 20 (5-72). Fisher’s Test shows that level of education ($\chi^2=26,159$; $p<0,0001$; Cramer’s $V=0,393$), diet ($\chi^2=10,387$; $p=0,049$; Cramer’s $V=0,249$), consumption of uncooked milk ($\chi^2=6,535$; $p=0,034$; Cramer’s $V=0,195$), consumption of uncooked vegetables ($\chi^2=9,337$; $p=0,009$; Cramer’s $V=0,227$), rats near the home ($\chi^2=8,804$; $p=0,004$; Cramer’s $V=0,226$), are significantly associated with the acquisition of infection in both groups.

This is the first study of the families of gastric cancer patients and a control group in Bulgaria. We explained to all the relatives for the higher risk for developing of gastric cancer. They were directed to a gastroenterologist for clinical examinations and treatment of *H.pylori* infection. Unfortunately, many of the first degree relatives of the cancer patients do not turn to a gastroenterologist, neglecting the high risk of developing the disease. Some of them even refuse to give a fecal sample.

The study makes it possible to recommend the active detection and treatment of infected children, which should lead to specific and effective eradication of *H. pylori*, a reduction in the likelihood of infection transmission and, lead to a decrease in the incidence of gastric cancer in adults, as a rule.