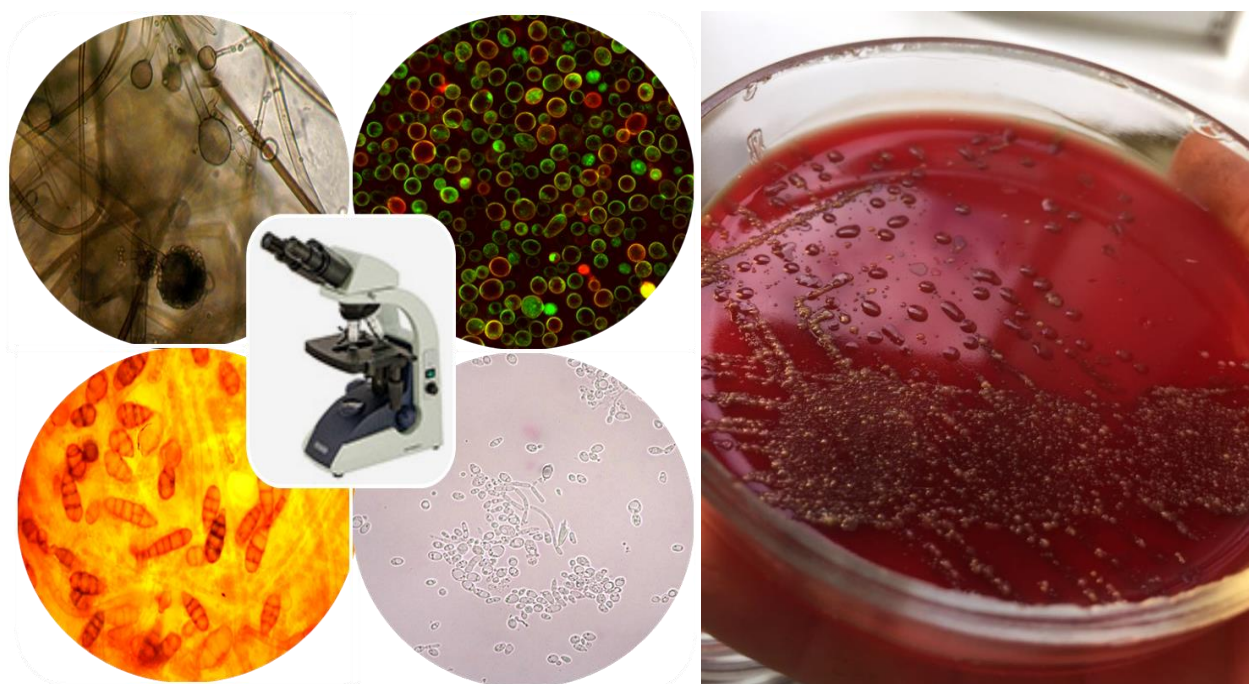




Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский Государственный Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Материалы Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием
«Микробиология в современной медицине»
(Казань, 23 июня 2017г.)**



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

Казань, 23 июня 2017 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, кафедра микробиологии:

Г.Ш. Исаева - д.м.н., исполняющая обязанности заведующего кафедрой микробиологии Казанского государственного медицинского университета

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

Г.З. Хабирова - к.м.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета Лисовская С.А. – к.б.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

Л.Т. Баязитова - к.м.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

С.А. Лисовская - к.б.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

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

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Авраменко А.А., Короленко Р.Н.</i> ВЛИЯНИЕ ДИСКИНЕЗИИ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ НА ТОПОГРАФИЮ РАСПРОСТРАНЕНИЯ НА СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА АКТИВНОЙ И НЕАКТИВНОЙ ФОРМ <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	7
<i>Агафонова Е. В., Гатина Г.Ч., Сырых Э.В., Исаева Г.Ш.</i> ЛЯМБЛИОЗ-НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ОПТИМИЗАЦИИ ДИАГНОСТИКИ	8
<i>Агафонова Е.В., Велижнинская Т.А.</i> НАРУШЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С СИНДРОМОМ НАРУШЕНИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ И ГРИБАМИ РОДА КАНДИДА	10
<i>Агафонова Е.В., Крестникова Л.В., Сырых Э.В., Исаева Г.Ш.</i> НЕКОТОРЫЕ ТРИГГЕРНЫЕ ФАКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ IG E ПРИ АТОПИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С МИКСТ- ИНФЕКЦИЕЙ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> И ПАРАЗИТАРНЫМИ ИНВАЗИЯМИ И ГЕЛЬМИНТОЗАМИ	12
<i>Акберова Г.Э., Хаертынова Е.М., Чернакова Г.М.</i> ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ТЕРАПИИ СИНДРОМА СУХОГО ГЛАЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИИ	13
<i>Акберова Г.Э., Хаертынова Е.М., Лазаренко О.Г.</i> СОСТОЯНИЕ СЛЕЗОПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИЕЙ НА ФОНЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ.	14
<i>Алексейчик И.О., Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Бородай Н.В.</i> ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА	15
<i>Анисимова Е.А., Исмаилова Р.К., Яруллина Д.Р.</i> ОЦЕНКА ВКЛАДА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ В РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА	16
<i>Арзамасцева А.А., Волкова А.С., Зиганишина Э.Э., Григорьева Т.В., Сакулин К.А., Карпухин О.Ю., Яруллина Д.Р.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ КОЛОСТАЗОМ	18
<i>Бадамшина Г.Г., Зиатдинов В.Б., Ставропольская Л.В., Исаева Г.Ш.</i> РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ В ВОЗДУХЕ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА <i>MICROSOCCASAEAE</i> И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ	20
<i>Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ КОНЪЮНКТИВАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЛАЗ	21
<i>Баязитова А.А., Лисовская С.А., Халдеева Е.В.</i> МИКРОМИЦЕТЫ ПРИ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ	22
<i>Бруслик Н.Л., Ахатова Д.Р., Яруллина Д.Р.</i> АНАЛИЗ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ РОДА <i>LACTOBACILLUS</i>	23
<i>Вафин Р.Р., Ильинская О.Н., Ржанова И.В., Нгуен Н.Т., Колпаков А.И., Гатауллин И.Г., Тюлькин С.В., Синягина М.Н., Григорьева Т.В.</i> МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ ТОКСИГЕННОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ	25
<i>Волкова Ю.В.</i> ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВСПЫШЕК БОТУЛИЗМА В УКРАИНЕ	26
<i>Гуляев П.Е.</i> МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАЦИИ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> ПРИ	28

НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ	
<i>Замальдинова А.Э., Гарипов М.Р., Штырлин Н.В., Каюмов А.Р.</i>	28
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА	
<i>Кабанов Д.А., Гимадеев З.Г., Марданова А.М.</i>	29
ХАРАКТЕРИСТИКА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ	
<i>Калашиникова В.А.</i>	32
РОЛЬ СТАФИЛОКОККОВ В РАЗВИТИИ ПНЕВМОНИЙ У ОБЕЗЬЯН, СОДЕРЖАЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ.	
<i>Карпова И.А., Хакимзянова М.В., Янтыкова Ю.Н., Хабирова Г.З.</i>	34
АНАЛИЗ ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ИКСОДОВОМУ КЛЕЩЕВОМУ БОРРЕЛИОЗУ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ЗА 2016 ГОД	
<i>Кашапова Г.Л., Светлакова Т.Н.</i>	34
ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОРТАТИВНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ Endosafe PTS	
<i>Кашапова Г.Л., Светлакова Т.Н.</i>	37
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ В РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ	
<i>Крестникова Л.В., Сырых Э.В., Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш.</i>	38
АНАЛИЗ УРОВНЯ АНТИТЕЛ К HELICOBACTER PYLORI У НАСЕЛЕНИЯ Г.КАЗАНИ В РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ	
<i>Куцак А.В.</i>	39
КОНТРОЛЬ ДОЗОВОЙ НАГРУЗКИ НА ПАЦИЕНТОВ ЗА СЧЕТ РЕНТГЕНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУР	
<i>Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Измайлова Г.Р., Мухамеджанова Л.Р.</i>	40
ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ К ФОРМИРОВАНИЮ БИОПЛЕНОК ДРОЖЖЕВЫМИ ГРИБАМИ CANDIDA НА РАЗЛИЧНЫХ ПОВЕРХНОСТЯХ	
<i>Мамлеев Р.Н.</i>	43
ПРИЧИНЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ГОСПИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ПЕДИАТРИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ	
<i>Морозова Л.Г., Файзуллина Р.А., Казакова М.А.</i>	45
ОЦЕНКА ХАРАКТЕРА МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ БИОПТАТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ И ПОРЦИЙ ЖЕЛЧИ У ДЕТЕЙ С СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ И ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМ	
<i>Новикова В.В., Zubov П.В.</i>	46
АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ CANDIDA ALBICANS К ФЛУКОНАЗОЛУ	
<i>Павлова А.С., Шарафутдинов И.С., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р.</i>	47
ЭФФЕКТ ПРОИЗВОДНОГО 2(5H)-ФУРАНОНА В ОТНОШЕНИИ BACILLUS CEREUS	
<i>Панов Г.В., Цветков А.И., Черняев И.А., Якушкина А.Ю.</i>	50
ОБНАРУЖЕНИЕ ДНК M.TUBERCULOSIS В КРОВИ КАК ФАКТОР РИСКА РАСПРОСТРАНЕНИЯ ШТАММОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ У ЛИЦ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В СТАДИИ СПИД	
<i>Панов Г.В., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Ларионова Е.Е., Цветков А.И., Черноусова Л.Н.</i>	51
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И КЛОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ ШТАММОВ M.TUBERCULOSIS, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ВИЧ-НЕГАТИВНЫХ И ВИЧ-ПОЗИТИВНЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ	
<i>Растатурина Л.Н.</i>	53
МИКРОБИОЛОГИЯ ОДНА ИЗ ДИСЦИПЛИН ФОРМИРУЮЩАЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ МЫШЛЕНИЯ У СТУДЕНТОВ	
<i>Рыжикова М.Н, Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Чернова Л.С., Каюмов А.Р.</i>	54

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ	
<i>Савинова А.Н.</i>	55
ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА	
<i>Савинова А.Н.</i>	56
ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ В РОССИИ	
<i>Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Хакимзянова М.В., Волостнова Е.С., Гайнуллин А.А., Сайфуллина Г.Ш.</i>	57
СОВРЕМЕННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
<i>Садыкова Д.А., Кипенская Л.В.</i>	59
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗА ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ОТ БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ.	
<i>Семенова Д.Р., Николаева И.В., Фиалкина С.В., Валиуллина И.Р., Шайхиева Г.С., Павлова Т.Ю.</i>	60
ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОВ ГИПЕРВИРУЛЕНТНОСТИ У ШТАММОВ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКУСОВ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА.	
<i>Токарчук Е. В., Курсанова Е. В.</i>	61
РОЛЬ КОНТАМИНАЦИИ МИКРООРГАНИЗМАМИ РУК МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА В РАСПРОСТРАНЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	
<i>Тошева З.С., Марданова А.М.</i>	63
АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА И ПОДВИЖНОСТЬ <i>MORGANELLA MORGANII</i>	
<i>Тюменев Р. С., Бадрутдинов О. Р., Хабирова Г. З.</i>	65
АНТРОПОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ДИНАМИКУ БАКТЕРИАЛЬНОГО СОСТАВА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД	
<i>Хабирова Н.Н., Валеева Л.Р., Ногманова С.Р., Гимадеев З.Г., Шарипова М.Р.</i>	67
КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫЕ БИОПЛЁНКИ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ СИСТЕМ	
<i>Хайруллин Р.З., Тюрин Ю.А., Куликов С.Н.</i>	68
АНТИСТАФИЛОКОККОВАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ ЛИЗОСТАФИНА И ХИТОЗАНА	
<i>Чернова Л.С., Павлова А.С., Рыжикова М.Н., Каюмов А.Р.</i>	69
ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕАЗЫ <i>HTA</i> ПОВЫШАЕТ ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК <i>BACILLUS SUBTILIS</i> В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И СПОСОБСТВУЕТ ОБРАЗОВАНИЮ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОПЛЕНКИ	
<i>Шайхиева Г.С., Николаева И.В., Шарафутдинов И.Х., Шибалова О.Н., Скворцова Н.Н.</i>	70
ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ КОЖИ НОВОРОЖДЕННЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА РОДОРАЗРЕШЕНИЯ	
<i>Шаравара Л.П., Иванова А.А.</i>	71
ОЦЕНКА МИКРОБНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА КРУПНОГО ПРОМЫШЛЕННОГО ЦЕНТРА	

ВЛИЯНИЕ ДИСКИНЕЗИИ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ НА ТОПОГРАФИЮ РАСПРОСТРАНЕНИЯ НА СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА АКТИВНОЙ И НЕАКТИВНОЙ ФОРМ *HELICOBACTER PYLORI*

Авраменко А.А.¹, Короленко Р.Н.²

¹Проблемная лаборатория по вопросам хронического хеликобактериоза Черноморского национального университета имени Петра Могилы, г. Николаев, Украина

² Отделение функциональной диагностики 4-ой горбольницы, г. Николаев, Украина

В мировой гастроэнтерологии для тестирования хеликобактерной инфекции (НР) широкое применение получили два метода – дыхательный тест и стул-тест, однако эти методы тестирования зависят от наличия и концентрации на слизистой желудка активной (вегетативной) формы НР. У больных хроническим неатрофическим гастритом очень часто выявляется дискинезия желчевыводящих путей, которая сопровождается дуоденогастральным рефлюксом. Данных о влиянии дискинезии желчевыводящих путей на наличие и концентрацию как активной, так и неактивной (кокковой) формы НР на слизистой желудка, что определяет достоверность дыхательного теста и стул-теста у больных хроническим неатрофическим гастритом, в доступной нам литературе выявлено не было, что и стало поводом для наших исследований.

Цель исследования. Определить уровень обсеменения слизистой желудка активными и неактивными формами НР-инфекции по топографическим зонам желудка у больных хроническим неатрофическим гастритом при наличии у них дискинезии желчевыводящих путей.

Материалы и методы. Были проанализированы результаты комплексного обследования 28 больных хроническим неатрофическим гастритом, у которых при проведении УЗИ - диагностики было выявлено дискинезия желчевыводящих путей по гипотоническому гипокинетическому типу и на которых в течение 3-х месяцев не действовали факторы, влияющие на активные формы НР-инфекции: применение антибиотиков, препаратов висмута, сукральфата, ингибиторов протонной помпы, препаратов, содержащих ферменты поджелудочной железы, рвота, наличие внутриклеточных «депо» НР-инфекции. Возраст пациентов колебался от 18 до 41-го года (средний возраст составил $27,3 \pm 1,62$ года); лиц мужского пола было 16 (57,1%), женского - 12 (42,9 %).

Комплексное обследование включало: пошаговую внутрижелудочную рН – метрию по методике Чернобрового В.Н.; эзофагогастродуоденоскопию (ЭГДС) по общепринятой методике; двойное тестирование на НР: тест на уреазную активность и микроскопирование окрашенных по Гимза мазков-отпечатков, материал для которых брался во время проведения эндоскопии из 4-х топографических зон: из средней трети антрального отдела и тела желудка по большой и малой кривизне по разработанной нами методике, а также гистологические исследования слизистой желудка, материал для которых брался из тех же зон, по общепринятой методике с учётом последних классификаций.

Последовательность обследования: после определения наличия у пациентов дискинезии желчевыводящих путей при проведении УЗИ органов брюшной полости с пищевой нагрузкой по общепринятой методике сначала больным проводилась рН-метрия, а после – ЭГДС с забором биопсийного материала для проведения тестирования на НР и гистологических исследований слизистой желудка. Исследование проводилось утром, натощак, через 12-14 часов после последнего приёма пищи. Полученные данные были обработаны статистически с помощью t - критерия Стьюдента с вычислением средних величин (M) и оценкой вероятности отклонений (m). Изменения считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Статистические расчёты выполнялись с помощью электронных таблиц Excel для Microsoft Office.

Обсуждение результатов исследований. При проведении рН-метрии были выявлены все уровни кислотности, кроме анацидности: гиперацидность выраженная – у 1-го (3,6 %),

гиперацидность умеренная – у 1-го (3,6 %), нормаацидность – у 6-ти (21,4%), гипоацидность умеренная – у 11-ти (39,3%), гипоацидность выраженная – у 9-ти (32,1%).

При проведении ЭГДС у 17-ти (60,7%) больных было подтверждено наличие дуоденогастрального рефлюкса с наличием в полости желудка от 20 до 100 мл желчи. При анализе эндоскопической картины у 6-ти (21,4%) пациентов имелись проявления перенесенных в прошлом язв в виде рубцовой деформации разной степени выраженности. При анализе данных гистологических исследований слизистой желудка у всех больных в 100% случаев было подтверждено наличие хронического гастрита как в активной, так и в неактивной стадии разной степени выраженности.

При тестировании на НР двойным тестом хеликобактерная инфекция была выявлена в 100% случаев при степени обсеменения от (+) до (+ + +). При определении степени обсеменения слизистой желудка разными формами НР-инфекции по топографическим зонам желудка у больных хроническим неатрофическим гастритом были получены следующие данные: на слизистой антрального отдела желудка в средней трети по большой кривизне степень обсеменения активной формой НР составила $0,68 \pm 0,32$ (+), неактивной формой - $0,66 \pm 0,32$ (+); в средней трети по малой кривизне степень обсеменения активной формой НР составила $0,95 \pm 0,32$ (+), неактивной формой - $1,03 \pm 0,32$ (+). На слизистой тела желудка в средней трети по большой кривизне степень обсеменения активной формой НР составила $0,98 \pm 0,32$ (+), неактивной формой - $2,12 \pm 0,32$ (+); в средней трети по малой кривизне степень обсеменения активной формой НР составила $2,13 \pm 0,32$ (+), неактивной формой - $0,91 \pm 0,32$ (+).

При сравнительном анализе данных по частоте выявления и средней степени обсеменения НР-инфекцией слизистой желудка по топографическим зонам можно отметить достоверно ($p < 0,05$) более высокий уровень обсеменения слизистой активными формами НР-инфекции в теле желудка по малой кривизне по сравнению с степенью обсеменения в антральном отделе желудка по большой и по малой кривизне, а также слизистой в теле желудка по большой кривизне, в то время как степень обсеменения неактивными формами НР-инфекции достоверно ($p < 0,05$) более высокая на слизистой в теле желудка по большой кривизне, чем в других 3-х зонах желудка.

Полученные данные можно трактовать с позиции действия на активную форму НР-инфекции дуоденогастрального рефлюкса, который часто формируется при дискинезии желчевыводящих путей. При контакте с желчью и панкреатическим соком, который содержит ферменты поджелудочной железы, НР-инфекция большей частью переходит из активной формы в защитную неактивную форму, у которой либо отсутствует уреазная активность, либо резко снижена, что влияет на скорость разложения мочевины. Этот факт, а также ограниченность по времени проведения теста (между первичным выдохом (без мочевины) и вторичным (после приёма мочевины) проходит 45 минут) снижает достоверность дыхательного теста, а также стул-теста, так как неактивные формы НР-инфекции обладают низкой антигенностью. В этой ситуации более достоверным является определение наличия активных и неактивных форм НР двойным тестированием - уреазным тестом, который считывается в течение 24 часов, и микроскопированием мазков-отпечатков по 4-м топографическим зонам желудка.

Выводы. Наличие у больных хроническим неатрофическим гастритом дискинезии желчевыводящих путей по гипотоническому гипокинетическому типу может снижать достоверность дыхательного теста и стул-теста из-за образования неактивных форм НР-инфекции

1. Данные результаты обязуют проводить при отрицательных результатах дыхательного теста и стул-теста у этих пациентов дополнительно двойное тестирование на НР-инфекцию (уреазный тест и микроскопирование окрашенных мазков-отпечатков) из 4-х топографических зон желудка для получения более достоверных данных.

ЛЯМБЛИОЗ-НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ОПТИМИЗАЦИИ ДИАГНОСТИКИ

Агафонова Е. В.¹, Гатина Г.Ч.¹, Сырых Э.В.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}

¹ФГУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора (директор – д.м.н. Исаева Г.Ш.) г. Казань, Россия

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

Актуальность лямблиоза как в детской, так и взрослой клинике обусловлена тем, что его клинические проявления часто маскируются различными вариантами гастроэнтерологической патологии, включая функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта, синдромы нарушения микробиоценоза кишечника, мальабсорбции, поливитаминовой недостаточности, а также, различными вариантами атопической патологии - рецидивирующей крапивницей, атопическим дерматитом, гастроинтестинальной формой пищевой аллергии. Клиницисту часто приходится встречаться с бессимптомным и латентным течением лямблиоза, что при неспецифичности симптомов создает трудности в диагностике. В современных условиях диагностическая чувствительность прямых копроскопических методов не всегда удовлетворяет специалистов лабораторной диагностики, что может быть связано с характерным «феноменом прерывистого цистовыделения», отсутствием настойчивости в поиске паразитов. Крайне важное значение в гиподиагностике протозоозов могут иметь низкие степени инвазии и выделение небольшого количества цист. Исследование нативного мазка без использования консерванта в условиях современной поликлиники и амбулаторного обследования больного также не имеет практического значения из-за необходимости доставки материала в лабораторию в течение короткого времени и невозможность того, чтобы пациент опорожнял кишечник по требованию в определенное время. В клинической практике отсутствие удовлетворенности результатами паразитологического и серологического обследования пациентов на протозоозы требуют оптимизации методов, в первую очередь прямого копроскопического обследования. Вместе с тем необходимо отметить, что несмотря на обнадеживающие результаты использования комплексных «Диагностических систем» таких как КТ-МФЭО-МЦН (Консервант Турдыева_метод формалин эфирного обогащения-модификация Циля- Нильсена) представленных в некоторых исследованиях [Торопова Н.А. и соавт., 2008 г.], в арсенале современной паразитологической лаборатории они практически не используются.

Цель исследования - оптимизация диагностики протозоозов, в том числе лямблиозной инвазии с использованием прямых копроскопических методов

Материалы и методы. Для оптимизации диагностики протозойных инвазий и нивелирования недостатков монокомпонентных методов диагностики была разработана комплексная система (КС) диагностики. В основе КС лежит оптимальная комбинация методов - забор кала из консерванта Турдыева, метод влажного мазка из консерванта, комбинированный гельминтоовоскопический метод (КГМ). КГМ включенный в КС объединяет монометоды флотации и седиментации, при этом используется оригинальная флотационная система, в состав которой вошли 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 условиях консультативно-диагностической поликлиники ФБУН КНИИЭМ была проведена широкая апробация КС для диагностики протозоозов.

Результаты и их обсуждение. Показано на большом количестве обследованных (>500 обследованных), что при диагностике протозоозов (цисты лямблий, изоспоры) КГМ имеет преимущество по сравнению с методами PARASEPT, формалин (уксусно-эфирной) седиментации, нативного мазка с физиологическим раствором и раствором Люголя (выявляет большее количество цист, что ценно при низкой степени инвазии). Монометоды- нативный мазок с физиологическим раствором и раствором Люголя, формалин (уксусно) -эфирной седиментации, PARASEPT для диагностики протозоозов являются сопоставимыми-выявляют инвазии преимущественно средней и высокой интенсивности. Недостаточная диагностическая ценность данных методов для диагностики низкой степени инвазий при протозоозах определяется более выраженной загрязненностью поля просмотра детритом, по сравнению с КГМ, что затрудняет поиск паразитов, а также отсутствием концентрирования цист при использовании нативного мазка с физиологическим раствором и раствором Люголя, что на практике определяет его малую эффективность при выделении малых количеств цистных форм паразитов.

В разработанной КС обследование на протозоозы дублируется за счет использования КГМ и влажного мазка из консерванта с физиологическим раствором и раствором Люголя. КС для диагностики протозоозов была апробирована в сопоставлении с методами -“PARASEP”, методом формалин-эфирной седиментации, нативным мазком без использования консерванта, влажным маком из консерванта. Для более полной оценки сопоставимости и диагностической эффективности методов эмпирическим путем (оценка результатов ИФА, данные клинического обследования) были выработаны критерии оценки степени инвазии. В методах концентрирования цист (“PARASEP”, метод формалин-эфирной седиментации, КС) были введены параметры - низкая – 1-2 цисты в 3-5 полях зрения, средняя - 2-3 цисты в 3-5 полях зрения, высокая - более 4-5 цист в 3-5 полях зрения. Для методов использующих нативный мазок были разработаны параметры: низкая – 0-1 цисты в 3-5 полях зрения, средняя- 1-2 цисты в 3-5 полях зрения, высокая - более 2-3 цист в 3-5 полях зрения. Диагностическая ценность КС при инвазиях высокой степени интенсивности была сопоставима с “PARASEP”, формалин-эфирной седиментацией, влажным мазком из консерванта. Нативный мазок без использования консерванта демонстрировал минимальную диагностическую ценность. При инвазиях средней степени интенсивности диагностическая ценность КС была сопоставима с методами “PARASEP”, формалин-эфирной седиментации. Методы- нативный мазок и влажный мзок из консерванта демонстрировали меньшую диагностическую ценность. При инвазиях низкой степени интенсивности КС имела наиболее высокую диагностическую ценность, при этом методы “PARASEP”, формалин-эфирной седиментации имели более низкую чувствительность, что определялось более выраженной загрязненностью полей просмотра детритом и затрудняло поиск паразитов. Таким образом, КС использующая комбинацию методов- консервант Турдыева, метод влажного мазка из консерванта и комбинированный гельминтоовоскопический метод с оптимальной флотационной системой позволяет оптимизировать копроскопическую диагностику протозоозов, преимущественно при инвазиях низкой степени интенсивности

НАРУШЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С СИНДРОМОМ НАРУШЕНИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ И ГРИБАМИ РОДА КАНДИДА

Агафонова Е.В.^{1,2}, Велижнская Т.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

²ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

В современных условиях экологического прессинга отмечается существенное снижение общего иммунобиологического потенциала детского населения, о чем свидетельствует увеличение частоты хронической патологии у детей, изменение тяжести соматических заболеваний, рост хронических заболеваний, вызванных условно патогенной и оппортунистической флорой. Длительное персистирование патогенов определяет формирование нарушений иммунологической реактивности и развитие иммунологической недостаточности. В последние годы отмечается тенденция к увеличению в популяции числа детей с клиническими проявлениями иммунопатологических синдромов- синдромом нарушения противоинфекционной защиты, аллергическим, аутоиммунным, иммунопролиферативным (В.А. Черешнев, 2012; А.В. Караулов, 2013). Все большую значимость в патогенезе клинических синдромов, ассоциированных с иммунологической недостаточностью у детей, приобретает персистенция оппортунистических патогенов, и в частности грибов рода кандиды. Важнейшими иммуносупрессивными механизмами является воздействие на показатели иммунологической реактивности компонентов грибов, из которых важнейшим является компоненты клеточной стенки, и в частности, маннанопротеиновые антигены. Маннанопротеиновый антиген *Candida albicans* обладает способностью стимулировать синтез противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10, вызывает

повышение выработки ИЛ -10 и выживание клеток CD4+CD25+ (Т регуляторных, обладающий супрессорной активностью). Маннан подавляет активность фагоцитоза с помощью индукции выработки ИЛ 4, описываются механизмы лимитирования выброса фагоцитами токсичных для гриба и для макроорганизма производных кислорода и азота через влияние на рецепторы нейтрофилов моноцитов и макрофагов. Влияние компонентов гриба на показатели иммунитета, несмотря на давнюю историю вопроса, в основном касаются экспериментальных и клинических исследований у взрослых. Этиопатогенетические аспекты влияния ГРС на механизмы формирования иммунологической недостаточности у детей являются мало изученными.

Исходя из вышеизложенного **цель** исследования-изучение показателей иммунологической реактивности у детей с синдромом нарушения против инфекционной защиты, ассоциированным с грибами рода кандиды.

Материалы и методы. В исследование включались дети с хроническими соматическими заболеваниями с непрерывно-рецидивирующим течением и клиническими маркерами иммунологической недостаточности (рецидивирующие заболевания органов дыхания, ЛОР, кожи, персистирующая герпетическая инфекция). Обследованы дети с хроническими пиелонефритами (N=39) и хроническими заболеваниями верхних отделов ЖКТ-хроническими гастродуоденитами и язвенной болезнью, ассоциированные с *Helicobacter pylori* и осложненные формированием кандидозной инфекции (N=57).. Формирование микотического поражения подтверждали культуральными микологическими исследованиями (биоптаты со слизистой оболочки желудка. посевы мочи, микологическая лаборатория ФБУН КНИИЭМ) и определением уровня циркулирующего маннаново антигена *C. albicans* (микологическая лаборатория ФБУН КНИИЭМ). Методом проточной цитофлуориметрии изучали популяции и субпопуляции иммунокомпетентных клеток - CD3+CD19-(Т-лимфоциты), CD3+CD4+(Т-хелперы), CD3+CD8+(Т-цитотоксические), CD3-CD19+(В-лимфоциты), CD3+CD16/56-(NK), CD16/56+CD3+(субпопуляция -NKT лимфоциты), CD3+CD4-CD8-,CD4+CD8+-(минорные субпопуляции Т-лимфоцитов), CD4+CD25+Hi (Т регуляторные клетки), CD4+62L-(Т-эффекторы), CD4+62L+(субпопуляция -неактивированные Т-хелперы). Оценивали экспрессию маркеров активации, при этом выделяли субпопуляции CD3+HLADR+,CD8+HLADR+, CD3+95+. В контроле обследована группа здоровых доноров (N=21). Статистическая обработка материала проводилась методами вариационной статистики с расчетом среднего арифметического (M), доверительного интервала (m) для $p<0,05$, t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. В условиях антигенемии циркулирующего маннанового антигена *C. albicans* у детей с хроническими соматическими заболеваниями, ассоциированными с бактериальными патогенами и грибами *C. albicans* выявлены разнонаправленные изменения субпопуляционного профиля и фенотипических характеристик лимфоцитов. Имело место снижение содержания зрелых Т клеток (49,6%; $0,87 \times 10^9$; $p<0,05$, $p<0,05$), Т хелперов (25,9%; $0,42 \times 10^9$; $p<0,05$, $p<0,05$), Т-цитотоксических (CD16/56+CD3-) лимфоцитов (19,8%; $0,35 \times 10^9$; $p<0,05$, $p<0,05$)- как в относительных, так и абсолютных значениях. По сравнению с контрольной группой, содержание минорной субпопуляции - NKT (18,0%;2,4%-соответственно в контроле - $p<0,05$,) увеличивалось. Повышение уровня NKT отражает появление клеток с супрессорной активностью, так как известно, что, CD16/56+CD3+ клетки, специфически распознающие антигены в контексте CD1 молекул продуцируют ИЛ -4 и IFN γ ., взаимодействующие цитокины. Большинство исследователей считают популяцию NKT ответственной за реализацию цитокинового взрыва, в том числе, включающего повышенную выработку интерлейкинов Th2 профиля в ответ на антигенную стимуляцию. Выявлено достоверное повышение популяции Т-рег.-6,56%; 1,55% в контроле соответственно, $p<0,001$) клеток. Данная популяция продуцируется тимусом как функционально зрелая и осуществляет супрессорную функцию при выраженной антигенной стимуляции. По видимому, повышение уровня Т рег определяется “наведенной иммунологической недостаточностью” клеточного типа, связанной с длительной персистенцией патогенов и антигенемией *C. albicans*. При хронических соматических заболеваниях у детей выявлено повышение содержания минорных популяций Т-лимфоцитов CD4+CD8+, CD3-CD4-CD8-(6,7; 8,8 %% соответственно сравнению с группой контроля- $p<0,05$; $p<0,05$). В литературе имеются сообщения о выбросе из тимуса клеток с

фенотипом кортикальных тимоцитов при иммунодефицитных состояниях, по некоторым данным, функционально данные субпопуляции клеток являются функционально неактивными. К минорным субпопуляциям, вызывающим активный интерес исследователей в последние годы, относится CD4+62L-высокодифференцированные эффекторы, характеризующиеся высокой способностью к продукции IG γ , что ассоциируется с Th1 девиацией иммунного ответа. Выявлено достоверное снижение данной субпопуляции в группе больных детей (10,7%;17,5%-соответственно в контроле, p<0,05). Выявлено повышение субпопуляции CD4+62L+(78,8%;62,71%-соответственно в контроле, p<0,05), популяция CD4+62L+-CD4+ экспрессирующие рецепторы хомминга- неактивированные Т-хелперы, по некоторым данным, популяция “наивных” лимфоцитов. Взмещение баланса субпопуляций CD4+62L-/CD4+62L+ в сторону нарастания CD4+62L+(p<0,05).ассоциируется с неэффективностью иммунного ответа на антигены ГРС и развитием Т-клеточной анергии.

При изучении маркеров активации иммунокомпетентных клеток отмечено достоверное снижение количества CD3+HLADR+(3,5%;5,8%-соответственно в контроле, p<0,05, p<0,05) и CD8+HLADR+ (7,8%;3,5% -соответственно в контроле; p<0,05, p<0,05). Молекулам HLADR отводится ключевая роль в регуляции всех типов антигенпредставляющих клеток, они ассоциируются с Т- клеточной активацией и выполняют функцию презентации антигенов CD4+ клеткам. Снижение экспрессии HLADR антигенов сопровождает большинство иммунодефицитных состояний, а также выявляется при хронических инфекциях. Популяции CD3+HLADR+отражает функциональную активность Th1 профиля иммунного ответа. Выявлено достоверное повышение содержания CD3+95+. что характеризует повышенную готовность клеток к апоптозу и отражает негативную активацию лимфоцитов (15,8%;2,5%- соответственно в контроле, p<0,05).

Таким образом, кандидозная инвазия вызывает модуляции в иммунной системе, связанные со снижением популяций Т-лимфоцитов (CD3+19-,CD3+CD4+), изменением их функциональной активности за счет инверсии активационных маркеров (HLADR) в сторону негативной активации. Дифференцированные изменения в структуре регуляторных субпопуляций характеризуются нарастанием клеток с иммуносупрессорной активностью (CD4+CD25+hi, CD3+CD16/56+,CD3-CD8+,CD3+4-8-). Маннановый антиген *S. albicans*, индуцируя повышение содержания минорных субпопуляций лимфоцитов с супрессорной активностью способствует угнетению Th1 (вызывает угнетение выработки IFN-гамма) и активации Th2 профиля иммунного ответа, индуцируя повышение синтеза ИЛ-4.

НЕКОТОРЫЕ ТРИГГЕРНЫЕ ФАКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ Ig E ПРИ АТОПИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С МИКСТ-ИНФЕКЦИЕЙ *HELICOBACTER PYLORI* И ПАРАЗИТАРНЫМИ ИНВАЗИЯМИ И ГЕЛЬМИНТОЗАМИ

Агафонова Е.В.^{1,3}, Крестникова Л.В.^{1,2}, Сырых Э.В.^{1,2}, Исаева Г.Ш.^{1,3}

¹ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», г. Казань, Россия

³ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

Развитие многих atopических заболеваний протекает на фоне патологии ЖКТ и изменения состава нормальной микробиоты кишечника, часто ассоциированными с *Helicobacter pylori*, протозойными инвазиями и гельминтозами. Формирование гипериммуноглобулинЕемии - ключевой патогенетический механизм atopических заболеваний и паразитарных инвазий. Данные о соотношении Ig E при инфекции *H. pylori* и atopических заболеваниях малоизученны и

противоречивы. В задачи исследования входила оценка влияния антител (АТ) к некоторым патогенам на уровень IgE у больных с atopическими заболеваниями.

Материалы и методы. В исследование были включены больные atopическими заболеваниями с повышенным уровнем IgE (в 1,5 раза от нормы - для детей >70МЕ/мл, для взрослых >150МЕ/мл). Всем больным было проведено комплексное обследование (ИФА): АТ к антигену *Sag*АНР (АНР), суммарные и IgMA к антигенами лямблий (ААЛ), суммарные АТ к антигенам аскарид, анизакид, описторхисов, токсокар, трихинелл, эхиннококков (АГ) (“Вектор-Бест”, Новосибирск). Было сформировано 7 групп обследованных: гр.1- данные серологического обследования на патогены отрицательные (N=22), гр. 2 - АНР+ (N=12), гр. 3 - ААЛ+ (N=13), гр. 4 - АГ+ (N=22), гр. 5 - АГ+ ААЛ+ (N=14), гр. 6 - АГ+ АНР+ (N=13), гр. 7 -АНР+ ААЛ+ (N=12), гр. 8 - АНР+ ААЛ+ АГ (N=12).

Результаты. Выявлены различия между уровнем IgE в группах 1 и 2 (212,0-249,0; $p<0,05$), 1 и 4 групп (212,0-253,0; $p<0,05$), в данных группах отмечены взаимосвязи между IgE, уровнем АТ к *H. pylori* ($r=0,48$ $p<0,05$), уровнем АТ к АГ (токсокар - $r=0,78$ $p<0,05$; аскарида - $r=0,78$ $p<0,05$; анизакида - $r=0,38$ $p<0,05$). При микст-ассоциациях (группы 5,6,7,8) выявлены различия между группой 2 и 6 (249,4-350,8; $p<0,05$), 2 и 7 (250,4-400,8. $p<0,05$), 2 и 8 (250,4-597,1; $p<0,05$). В данных группах выявлены взаимосвязи между уровнем АТ к *H. pylori* и IgE ($r=0,67; 0,65; 0,76$. $p<0,05$). Выявлены различия между уровнем IgE в группах 3 и 5 (220,0-300,9. $p<0,05$) 3 и 7 (220,0-400,9. $p<0,05$); 3 и 8 (300,6-597,7. $p<0,05$). В данных группах выявлены взаимосвязи между уровнем IgE и АТ к ААЛ и ($r=0,4$; $p<0,05$).

Выводы. Таким образом, нами выявлены различные типы влияния триггерных факторов на уровень IgE при atopических заболеваниях. Присутствие АТ к антигенам гельминтов и *H. pylori* коррелируют с гипериммуноглобулинемией, как в условиях моно- так и микст-воздействий. АТ к прозоонозам оказывают влияние на формирование гипериммуноглобулинемии в условиях нарастания инфекционной нагрузки при микст-инфицировании.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ТЕРАПИИ СИНДРОМА СУХОГО ГЛАЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НСВ-ИНФЕКЦИИ

Акберова Г.Э.¹, Хаертынова Е.М.¹, Чернакова Г.М.²

¹КГМА ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Казань, Россия

²ГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Москва, Россия

Актуальность. Связь патологии печени с патологией глаз была отмечена еще в конце 19 века, а работы современных исследователей лишь подтверждают это положение. Хронический вирусный гепатит С (ХГС) является одной из важнейших медико-социальных проблем во всем мире, поскольку по данным ВОЗ вирусом гепатита С (ВГС) инфицировано около 3% населения Земли, что составляет примерно 180 млн человек. ХГС – это длительно текущее (годами) системное заболевание, характеризующееся как специфическим процессом в клетках печени, так и широким спектром внепеченочных проявлений. Ткани глаза при этом не являются исключением, частота их вовлечения составляет до 20% случаев. Одним из распространенных видов офтальмопатологии при ХГС является роговично-конъюнктивальный кератит (РКК). Согласно современным представлениям при ХГС имеются два основных патогенетических механизма его развития. Первый связан с синтезом патологических белков (криоглобулинов) под воздействием хронической персистенции ВГС в организме и отложением этих иммунных комплексов в ткани слезной железы. Второй механизм обусловлен биологическими свойствами ВГС, а именно - способностью проникать в клетки секреторных желез (слезных и слюнных), а также эпителиев конъюнктивы и роговицы с нарушением их метаболизма.

Известно, что на фоне проведения противовирусной терапии ХГС, в тканях глаза могут развиваться новые и усиливаться имеющиеся патологические изменения, как со стороны переднего, так и заднего сегмента глаза. В доступной отечественной литературе мы нашли единичные публикации, посвященные данной проблематике. Отсутствие системных

представлений о взаимосвязи длительности течения, активности ХГВС с его внепеченочными проявлениями со стороны переднего сегмента глаза, а также тактики слезозаместительной терапии в этих ситуациях и определили цель настоящего исследования.

Цель: изучить особенности клинического течения роговично-конъюнктивального ксероза (РКК) или синдром сухого глаза (ССГ) у больных хронической HCV-инфекцией (ХГС) и эффективность применения слезозаместительной терапии при этом состоянии.

Материал и методы: ретроспективное исследование у больных (70 глаз) с ХГС и РКК (группа А) определены особенности течения РКК до и во время проведения противовирусной терапии (ПВТ). Проспективное исследование составили 20 пациентов (40 глаз) с ХВГС и РКК (группа Б), которым до и во время проведения противовирусной терапии по поводу основного заболевания назначалась слезозаместительная терапия (ПВТ). Диагноз хронического гепатита С (ХГС) устанавливали на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных данных и подтверждали выявлением РНК вируса гепатита С (ВГС) в биологических жидкостях, с определением генотипа вируса методом полимеразной цепной реакции. Стандартное офтальмологическое обследование проводилось в динамике наблюдения на фоне ПВТ: до начала ПВТ и на фоне ПВТ, дополнительно исследовали суммарную слезопroduкцию. Результаты: у подавляющего количества обследованных обеих групп выявлен РКК. Лечебная тактика у больных группы Б при РКК включала назначение слезозаместительной и репаративной терапии в динамике по отношению к периоду проведения системной ПВТ: до начала ПВТ (обычный режим инстилляций), на фоне ПВТ (до 3-х месяцев, усиленный режим терапии) и возвращение к обычному режиму кратности по окончании ПВТ. Применение вышеуказанной схемы терапии явлений РКК при ХГС оказывало положительный эффект без значительного усиления интенсивности симптомов РКК на фоне ПВТ в отличие от пациентов группы А, где наблюдали усугубление признаков заболевания. Выводы: РКК при ХГС требует пролонгированного назначения комплексной слезозаместительной терапии, снижающей интенсивность жалоб и признаков РКК.

СОСТОЯНИЕ СЛЕЗОПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИЕЙ НА ФОНЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ.

Акберова Г.Э., Хаертынова Е.М., Лазаренко О.Г.

КГМА ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Казань, Россия

Целью настоящего исследования явилось изучение слезопroduкции у больных хронической HCV-инфекцией на фоне противовирусной терапии.

Всего обследовано 35 больных ХГС (в возрасте $40,4 \pm 16,7$ лет), получавших противовирусную терапию (ПВТ) пегилированными интерферонами (ПЭГ-ИФН) в комбинации с рибовирином, курс лечения составил 24 недели при 2/3 генотипе и 48 недель при 1-ом генотипе. Определение уровня общей секреции слезной жидкости проводили с помощью пробы Ширмера.

Результаты исследования показали, что на состояние слезопroduкции в группах больных хронической HCV-инфекцией влияет ПВТ и зависит от сроков проведения ПВТ. Так, на 12/24 неделе ПВТ большая часть (37,14%) пациентов 1-ой группы имела нормальные показатели слезопroduкции. В конце терапии и через 6 месяцев после окончания ПВТ количество больных с нормальной слезопroduкцией достоверно повышалось (42,86% и 48,57% соответственно). Однако 34,3% у больных хронической HCV-инфекцией сохранялись снижение слезопroduкции. Показатель суммарной секреции слезной жидкости до ПВТ составил $9,65 \pm 0,55$ мм, на фоне ПВТ $15,5 \pm 3,3$ мм ($p < 0,001$), в конце и через 6 месяцев после ПВТ составил $14,5 \pm 3,35$ мм и $13,0 \pm 6,5$ мм ($p < 0,001$).

Таким образом, у больных хронической HCV-инфекцией на фоне противовирусной терапии происходит нормализация слезопroduкции, что свидетельствует о роли HCV в изменениях состояния слезопroduкции у пациентов ХГС.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

Алексейчик И.О., Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Бородай Н.В.

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, Волгоград, Россия

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) – природно-очаговая арбовирусная инфекция, вызываемая нейротропным флавивирусом, который циркулирует в энзоотическом цикле между птицами и комарами. Люди, лошади и другие млекопитающие могут заразиться в результате укусов инфицированных комаров. В большинстве случаев инфекция среди людей протекает бессимптомно, однако у 20-40 % заболевших могут развиваться симптомы различной степени тяжести – от лихорадки до тяжелой (нейроинвазивной) формы болезни, характеризующейся поражением центральной нервной системы.

Геном вируса Западного Нила (ВЗН) представлен одноцепочечной РНК, кодирующей 3 структурных белка – белок капсида (С), предмембранный (preM) и оболочечный (Е) белки, а также 7 неструктурных белков (NS) - NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5, которые в инфицированной клетке выполняют различные функции, необходимые для процесса репликации и сборки вирусной частицы. Кроме того, белок NS1 является единственным белком, который в больших количествах обнаруживается в сыворотке больных пациентов, а также непосредственно коррелирует с тяжестью заболевания.

По данным отечественных и зарубежных авторов патогенетический механизм характеризуется следующими процессами. После проникновения ВЗН в резидентные дендритные клетки кожи, кератиноциты, в их цитоплазме инициируется репликация вирусных частиц, после чего вирус мигрирует в клетки лимфоидной ткани, аккумулируется, а затем поступает в кровяное русло. На 3-4 день развивается виремия, которая способствует раннему распространению вируса и приводит к инфицированию органов, таких как селезенка, печень и почки. К концу первой недели ВЗН исчезает из кровяного русла и органов, и при достаточной периферической репликации возможно проникновение вирусных частиц в центральную нервную систему (ЦНС). ВЗН попадает в ЦНС путем сочетания механизмов, включающих непосредственное повреждение гематоэнцефалического барьера. Белки хозяина, такие как Drak2, ICAM-1, фактор ингибирования миграции макрофагов и матриксная металлопротеиназа 9 способствуют повреждению проницаемости гематоэнцефалического барьера. Молекулы врожденного иммунитета TLR3 могут способствовать инвазии вируса в ЦНС путем опосредованного повышения TNF- α в результате чего повышается проницаемость капилляров гематоэнцефалического барьера. ВЗН может также проникать в ЦНС без повреждения гематоэнцефалического барьера. Это происходит, когда инфицированные эндотелиальные клетки микрососудов мозга способствуют проникновению свободных вирусных частиц, не задействуя гематоэнцефалический барьер. ВЗН также распространяется по обонятельным нейронам и обонятельным луковицам. Вирус образует двунаправленное распространение в нейронах и аксонах, что облегчает проникновение вируса в ЦНС. Инфицирование вирусом нейронов ЦНС приводит к потере структуры, дегенерации и гибели клеток с последующей инфильтрацией мононуклеарными клетками на более поздних стадиях.

Репликация в цитоплазме делает вирус уязвимым для распознавания защитными механизмами клетки-хозяина. Тем не менее, с помощью различных механизмов ВЗН эволюционно приспособился избегать или активно подавлять иммунный ответ хозяина - многие из вышеупомянутых неструктурных белков принимают участие не только в репликации и сборке вирусных частиц, но также играют важную роль в механизмах уклонения от врожденного иммунитета.

Исходя из генетических различий, штаммы вируса Западного Нила разделяются, по меньшей мере, на 7 генетических линий (генотипов), при этом штаммы, относящиеся к 1 и 2

генотипам, являются наиболее распространенными и эпидемически значимыми. Генотип 1 включает в себя множество изолятов, ответственных за вспышки заболеваемости в Африке, Европе, России, на Ближнем Востоке, Азии, Океании и Северной Америке. Генотип 2, исторически считающийся менее патогенным для людей, чем генотип 1, в основном, включает в себя изоляты, выделенные в Африке, однако с 2004 года смертность среди хищных птиц была вызвана штаммом генотипа 2, обнаруженным в Центральной Европе, в Венгрии, что указывает на потенциал распространения данного генотипа за пределы Африки и вирулентность для позвоночных. Начиная с 2008 года, вспышки ЛЗН среди людей и лошадей, вызванные штаммами генотипа 2, регистрировались в Южной Африке, Восточной Европе и России (Волгоградской, Саратовской, Воронежской, Ростовской областях).

Из литературных источников известно, что одним из факторов, определяющим различия в вирулентности штаммов ВЗН, является гликозилирование белка Е. Этот структурный белок играет важную роль во взаимодействии вируса с клеткой, и является основной мишенью для антительного ответа хозяина. Его гликозилирование важно для размножения вируса в периферических органах, повышения эффективности передачи от комаров-переносчиков, а также усиления вирулентности для птиц и млекопитающих. Изоляты ВЗН 1 и 2 генотипов, выделенные во время крупных вспышек заболеваемости среди людей, имели гликозилированный белок Е. Высокой вирулентности ВЗН могут способствовать другие вирусные детерминанты, в том числе аминокислотные замены в белках рgM, NS2A, NS3 и NS5.

Вариабельность вирулентности вируса, многогранность патогенетического процесса, редкое выявление легких и субклинических форм инфекции требуют дальнейшего изучения проявлений лихорадки Западного Нила у людей и других млекопитающих

ОЦЕНКА ВКЛАДА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ В РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА

Анисимова Е.А., Исмагилова Р.К., Яруллина Д.Р.

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

Антибиотикотерапия - наиболее эффективное современное средство борьбы с инфекциями, которое, однако, в качестве побочного эффекта часто приводит к развитию дисбактериозов. Для их лечения применяют пробиотики - живые микроорганизмы, которые способствуют нормализации микрофлоры и в целом оказывают благоприятное воздействие на организм. Бактерии рода *Lactobacillus* часто используются в пробиотических препаратах. Они являются важной составляющей естественной микробиоты кишечника человека, имеют статус GRAS (Generally Regarded As Safe) и включены в список QPS (Qualified Presumption of Safety) Евросоюза, а также обладают рядом полезных свойств: высокой способностью к колонизации, антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, иммуномодулирующим действием и др. (EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) Scientific opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2012 update)// EFSA J 2012; 10(12):3020). Важным критерием при отборе пробиотических штаммов является наличие у них устойчивости к антибиотикам - только устойчивые к антибактериальным препаратам бактерии можно совмещать с антимикробной терапией при лечении кишечных инфекций или применять для профилактики антибиотикоассоциированной диареи. Однако существует риск распространения в микробиоме человека генов антибиотикорезистентности лактобацилл, локализованных на плазидах и конъюгативных транспозонах, что противоречит требованиям микробиологической безопасности пробиотиков. Поэтому важно не допустить включение в пробиотик штаммов с потенциально мобильными генами антибиотикорезистентности. В результате выполненного нами скрининга антибиотикорезистентности у 19 штаммов рода *Lactobacillus*, выделенных из коммерческих

пробиотиков и кисломолочных продуктов, у *L. fermentum* 5-1 из ряженки «Чистое поле» была обнаружена устойчивость к эритромицину (Erm) и тетрациклину (Tet) (Бруслик, Н.Л., Ахатова Д.Р., Тойменцева А.А., Абдулхаков С.Р., Ильинская О.Н., Яруллина Д.Р. Оценка лекарственной устойчивости пробиотических лактобацилл // Антибиотики и химиотерапия. - 2015. Т. 60. № 3-4. С. 6-13). Поскольку гены устойчивости к Erm и Tet часто подвержены горизонтальному транспорту, целью данной работы было выявление и характеристика мобильности генетических детерминант устойчивости к Erm и Tet у штамма *L. fermentum* 5-1.

Из клеток *L. fermentum* 5-1 геномную ДНК выделили фенол-хлороформным методом, плазмидную ДНК - с помощью GenJET Plasmid Miniprep Kit «Thermo Scientific» (Литва) в соответствии с инструкцией производителя. Наличие генов устойчивости к Erm и Tet было проверено методом ПЦР и последующего секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК с использованием 5 праймеров к генам устойчивости к Erm и 6 праймеров – к Tet. В результате в геномной ДНК *L. fermentum* 5-1 был обнаружен ген устойчивости к эритромицину *ermB*, а в плазмидной ДНК - два гена устойчивости к тетрациклину – *tetM* и *tetK*.

В качестве потенциальных реципиентов генов антибиотикорезистентности использовали 9 штаммов условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов факультативной микрофлоры человека: *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens* G, *Serratia marcescens* N, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Для отбора чувствительных к Erm и Tet бактерий использовали метод градиентного агара. В чашки Петри наливали по 10 мл агаризованной среды Лурия-Бертани (ЛА) под углом 45°, после застывания агара наслаивали ещё 10 мл среды с концентрацией антибиотика 100 мг/мл для формирования градиента концентрации антибиотика от 0 до 100 мкг/мл. Ночную культуру тестируемых микроорганизмов высевали газоном и инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Микроорганизмы считали чувствительными к антибиотикам при отсутствии роста на всей поверхности чашки. Среди исследованных условно-патогенных бактерий не обнаружено штаммов, чувствительных к Erm. В качестве потенциальных реципиентов генов лекарственной устойчивости от лактобацилл для дальнейшего исследования отобрали чувствительные к Tet штаммы *A. baumannii*, *C. freundii* и *E. coli*. Отсутствие в их геномах молчащих генов устойчивости к Tet проверили методом ПЦР-анализа с использованием праймеров к генам *tetK* и *tetM*.

В работе исследована возможность передачи генов устойчивости к Tet от *L. fermentum* 5-1 к *A. baumannii*, *C. freundii* и *E. coli* с помощью электропорации. Для получения компетентных клеток 10 мл среды LB засеивали ночной культурой в соотношении 1:100 и инкубировали при 37 °С с качанием 200 об./мин до достижения ОП₆₀₀=0.6. Затем клетки осаждали центрифугированием 8 мин при 4400 об./мин при 4 °С и трижды промывали в дистиллированной воде центрифугированием в тех же условиях. Клетки трижды промывали в ледяном, стерильном 10% глицерине центрифугированием, после чего ресуспендировали в нем (V = 500 мкл). Полученную суспензию аликвотировали по 50 мкл в эппендорфы и хранили при – 84 °С.

Для проведения электропорации на льду в стерильную электропорационную кювету добавляли 50 мкл компетентных клеток и 3 мкл плазмидой ДНК лактобацилл и загружали в прибор «Bio-Rad» MicroPulse со следующими параметрами электропорации: напряжение 2.5 кВ и длительность импульса 5 мс. В контрольном варианте вместо плазмидной ДНК добавляли воду (или 10% глицерин). В кюветы добавляли по 1 мл среды LB и инкубировали 1 ч с качанием при 37 °С. Бактерии (350 мкл) высевали поверхностно на агаризованную среду LB с тетрациклином (10 мкг/мл) и инкубировали 24 ч при 37 °С.

Мы показали, что после трансформации плазмидной ДНК лактобацилл *L. fermentum* 5-1 бактерии *A. baumannii* и *E. coli* не приобретали способность расти на среде с Tet, следовательно, передачи генов антибиотикорезистентности от лактобацилл к этим бактериям не происходило. Трансформированные вышеописанным способом бактерии *C. freundii* образовывали колонии на среде с Tet, однако, в полученной из колоний трансформантов ДНК гены *tetM* и *tetK* методом ПЦР обнаружены не были (на электрофореграммах отсутствовали ампликоны с длиной, соответствующей размерам данных генов). Полученные результаты хотя не доказывают прямой передачи генов *tetM* и *tetK* от лактобацилл *L. fermentum* 5-1 к *C. freundii*, но свидетельствуют о потенциальном вкладе лактобацилл в распространение генов лекарственной устойчивости.

Возможно, проведенная трансформация привела к передаче части исследуемых генов либо других генетических детерминант устойчивости к Tet, которые мы не анализировали методом ПЦР. Бактерии *Citrobacter freundii* относятся к оппортунистическим патогенам и имеют общее с лактобациллами местообитание в организме человека (dos Santos G.S., Solidonio E.G., et al. The Study of the Enterobacteriaceae Group CESP (Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Providencia, Morganella and Hafnia): A Review // Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs. FORMATEX 2015. Microbiology Series 5; 1-794-805). Поэтому приобретение ими устойчивости к антибиотикам вызывает тревогу в фокусе распространения генов антибиотикорезистентности среди условно-патогенной микрофлоры. Отметим, что в данной работе компетентные клетки были сконструированы искусственно для увеличения способности реципиентов приобретать чужеродный генетический материал. Кроме того, в природе трансформация является нечастым процессом. Поэтому в дальнейшем транспорт генов антибиотикорезистентности от лактобацилл будет исследован *in vivo* в условиях максимально приближенных к условиям желудочно-кишечного тракта.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ КОЛОСТАЗОМ

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

¹ФГАОУ ВО КФУ, Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, г. Казань, Россия

²ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Хронический запор (ХЗ) - стойкое или интермиттирующее, продолжающееся более 6 месяцев, нарушение функции толстой кишки с урежением частоты стула до 3 и менее раз в неделю с вынужденным натуживанием, занимающее более 25% времени дефекации [Шельгин Ю.А., Благодарный Л.А., 2012]. ХЗ встречается во всех группах населения, а его частота с возрастом увеличивается. При этом запор относят к наиболее частым причинам обращения пациентов к врачу общей практики, гастроэнтерологу и колопроктологу. Несмотря на то, что причины развития ХЗ изучены достаточно хорошо, констипационный синдром остается одной из самых сложных проблем клинической медицины, что подтверждается высоким уровнем неудовлетворительных результатов лечения. Актуальность проблемы обусловлена, во-первых, многообразием анатомических, функциональных, психосоматических, диетических, культурологических и прочих этиологических факторов. Во-вторых, ХЗ можно отнести к тем патологическим состояниям человека, при которых чрезвычайно распространено самолечение, приводящее со временем к необратимым нарушениям двигательной активности кишечника и, безусловно, отрицательно влияющее на результаты последующего лечения [Циммерман, 2015; Bharucha, 2007; Soares, Ford, 2011]. При этом запор не только значительно снижает качество жизни, но может стать причиной развития ряда заболеваний: доброкачественных и злокачественных новообразований кишечника, дивертикулярной болезни толстой кишки, а также полиорганной недостаточности на фоне хронической интоксикации [Самсонов, 2009; Wexner *et al.*, 2006]. Значительную роль в патогенезе нарушения моторно-эвакуаторной функции толстой кишки принадлежит изменению кишечной микробиоты [Джавадов, 2011; Карпухин с соавт., 2016]. Хотя до сих пор не установлено, какие именно изменения архитектуры микробного сообщества желудочно-кишечного тракта специфичны для ХЗ, в целом ряде рандомизированных контролируемых исследований было показано, что прием пробиотиков сокращает время кишечного транзита, увеличивает частоту стула и улучшает его консистенцию [Choi, Chang, 2015].

Доказано, что кишечная микробиота участвует в регуляции моторной функции кишечника, однако, механизмы микробной регуляции сократительной активности кишечника далеки от разрешения. По-видимому, они реализуются при участии конечных продуктов микробного метаболизма, посредством медиаторов, выделяемых клетками иммунной системы в ответ на симбиотические микроорганизмы, либо кишечных нейроэндокринных факторов [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 резецированные препараты толстой кишки пациентов, прооперированных по поводу декомпенсированной формы хронического колостазы, и фекалии практически здоровых лиц. Материал исследовали в соответствии с разрешением Локального этического комитета ГБОУ ВПО КГМУ МЗ РТ (протокол №9 от 24.11.2015).

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 sp.* на агаре для бифидобактерий (HiMedia Laboratories Limited, Индия), энтеробактериями на среде Эндо (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), в том числе *Salmonella sp.* и *Shigella sp.* 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 sp.* на среде MRS [De Man *et al.*, 1960]. Для определения влияния лактулозы на рост лактобацилл, выращивали бактерии 72 ч микроаэрофильно на MRS-агаре, в котором глюкоза была заменена на лактулозу («Дюфалак», Abbott Healthcare Products B.V. (Нидерланды), 2%).

Видовую принадлежность выделенных бактерий определяли с помощью прямого белкового профилирования MALDI-TOF масс-спектрометрии на Bruker Daltonik MALDI BioType (Германия).

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. Установлено, что образцы кишечника, полученные от разных пациентов, значительно отличаются по микробному пейзажу и обсемененности, что соответствует современным представлениям об индивидуальных различиях в микрофлоре индивидуумов как в норме, так и при различных патологических состояниях. Тем не менее, во всех образцах толстой кишки пациентов с ХЗ обнаружили высокое содержание МКБ: от 10^4 до 10^{15} КОЕ/г. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе *Salmonella sp.* и *Shigella sp.*, выявили только в одном из пяти образцов в количестве $7.5 \cdot 10^5$ КОЕ/г. Содержание в образцах молочнокислых бактерий 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 показали, что у больных хроническим колостазом в толстой кишке преобладают филы *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, присутствуют *Proteobacteria* и в наименьшем количестве *Actinobacteria*. В одном из образцов обнаружили высокое содержание (7.8%) облигатно анаэробных бактерий *Akkermansia muciniphila* (фила *Verrucomicrobia*), которые способны использовать муцин в качестве единственного источника углерода и азота [Everard *et al.*, 2013].

В работе в качестве объекта исследования использовали полнослойные образцы резецированных в ходе операции препаратов толстой кишки пациентов с декомпенсированными формами ХЗ, а не фекалии больных, как в большинстве работ по данному направлению. Этот подход позволяет исследовать не просветную (как в случае использования фекалий), а пристеночную, тесно ассоциированную со слизистой оболочкой кишечника микробиоту, которая,

по данным литературы, оказывает наибольший эффект на иммунную систему и в целом на организм хозяина [Осадчук, 2010].

Проведено сравнительное исследование способности лактобацилл, выделенных из резецированных препаратов толстой кишки, использовать лактулозу в качестве источника углерода, и лактобацилл, выделенных из фекалий практически здоровых людей. Лактулоза (4-О-бета-D-галактопиранозил-D-фруктоза) представляет собой синтетический дисахарид, состоящий из остатков молекул галактозы и фруктозы, и относится к пребиотикам - ингредиентам пищи, которые не подвергаются гидролизу пищеварительными ферментами человека, не абсорбируются в верхних отделах ЖКТ и являются селективным субстратом для роста и/или метаболической активации одного или нескольких видов микроорганизмов нормальной микрофлоры кишечника [Зрячкин, 2007]. Одна из важнейших сфер применения лактулозы – лечение острого и хронического запора различной этиологии у пациентов всех возрастных категорий, включая новорожденных и пациентов старческого возраста [Шульпекова, 2011]. Нами установлено, что все исследованные лактобациллы хорошо растут на MRS-агаре, содержащем лактулозу вместо глюкозы, следовательно, и микроорганизмы - обитатели кишечника здоровых людей, и симбионты кишечника людей с колостазом способны утилизировать лактулозу, что обосновывает целесообразность использования пребиотиков и пробиотиков в лечении ХЗ.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование расширяет представление о составе микрофлоры толстой кишки человека при ХЗ, а также доказывает необходимость параллельного использования традиционных культуральных методов и современных технологий ДНК-диагностики бактерий для объективной оценки состава микробного сообщества. Значимость полученных результатов для решения проблемы определяется перспективой их использования при разработке новых экспериментально и клинически обоснованных методов комплексного лечения пациентов с ХЗ.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ В ВОЗДУХЕ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *MICROCOCCEAE* И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Бадамшина Г.Г.¹, Зиятдинов В.Б.¹, Ставропольская Л.В.¹, Исаева Г.Ш.^{2,3}

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

²ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора Казань, Россия

³ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Казань, Россия

Присутствие представителей семейства *Micrococcaceae* по данным иностранных авторов, в медицинских учреждениях часто игнорируется вследствие их принадлежности к нормальной микрофлоре кожи и слизистых оболочек. Вместе с тем, *Micrococcus spp.* и *Kocuria kristinae*, населяющая кожу и слизистые человека в норме, вызывают заболевания различной этиологии у лиц с ослабленным иммунитетом, например, инфекции мочевыводящих путей, холециститы, перитониты, эндокардиты и др.

Цель исследования – изучить распространенность представителей семейства *Micrococcaceae* в воздушной среде медицинских организаций с определением чувствительности к основным классам антибактериальных препаратов.

Микробиологические исследования воздушной среды медицинской организации Республики Татарстан проведены в рамках планового контроля Федеральной службы по надзору в

сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Отбор проб воздуха произведен до и во время работы в соответствии с МУК 4.2.2942-11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях» (n=62). Идентификация микроорганизмов до вида проведена с использованием современных хромогенных питательных сред производства Индии и Испании, тестов производства Чехии и Франции с применением иммуноферментного анализатора согласно общепринятым методам бактериологии и микологии.

По результатам проведенных исследований, установлено, что в структуре общего количества выделенных из воздуха микроорганизмов, значительное место в нашем исследовании, принадлежало бактериям семейства *Micrococcaceae* (40,4%), среди которых в 21,0% случаев обнаруживались *Micrococcus spp.* (преимущественно *M.luteus*), в 12,9% случаев - *Kocuria spp.* (*K.varians* и *K.kristinae*), в 6,5% - *Dermacoccus spp.*

Micrococcus spp., по мнению иностранных исследователей, часто колонизирующие внутрибольничную среду, были чувствительны во всех случаях к ципрофлоксацину и клиндамицину, реже к ванкомицину, левофлоксацину, гентамицину (по 92,3% случаев чувствительности) и эритромицину (84,6%), и устойчивы к оксациллину (69,2% штаммов).

Представители семейства бактерии рода *Cocuria*, которые, по мнению зарубежных ученых, обуславливают развитие инфекций мочевыводящих путей, катетер-ассоциированных эндокардитов, перитонитов и других гнойно-септических инфекций и обладают устойчивостью к фторхинолонам, тетрациклинам оксациллину и цефазолину и промежуточной устойчивостью к цефотаксиму, в нашем исследовании, были наиболее резистентны к оксациллину (62,5% случаев), эритромицину (37,5% случаев), и редко к фторхинолонам (12,5% к левофлоксацину). к оксациллину (69,2% штаммов).

Другие представители семейства *Micrococcaceae* - *Dermacoccus spp.*, выделенные из воздуха в 4 случаях, были также наиболее устойчивы к оксациллину (устойчивость во всех 4 случаях), эритромицину (1 случай) и левофлоксацину (1 случай). Данные об антибиотикочувствительности дермакокков в доступной нам литературе были мало освещены, однако, в исследовании польского ученого (2003г.), показано, что представители данного рода проявляли устойчивость к эритромицину.

Таким образом, установлено, что представители семейства *Micrococcaceae* обнаруженные в воздухе помещений медицинских организаций в 40,4% случаев, (21,0% - *Micrococcus spp.*, 12,9% *Kocuria spp.*, 6,5% - *Dermacoccus spp.*), обладали различной степенью устойчивости и чувствительности к антибактериальным препаратам. Учитывая высокую распространенность данного семейства микроорганизмов во внутрибольничной среде, необходимо изучение влияния их на состояние здоровья пациентов, в частности лиц с ослабленным иммунитетом.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ КОНЪЮНКТИВАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЛАЗ

Баязитова Л.Т.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹

¹ ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

² ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Казань, Россия

Наиболее часто регистрируемыми воспалительными заболеваниями глаз являются конъюнктивиты. По данным исследователей, конъюнктивиты встречаются от 40,4% до 70,3% от общего числа больных с воспалительными заболеваниями глаз. Конъюнктивит обладает высокой устойчивостью к бактериальной микрофлоре. Слезная жидкость, обладающая антимикробной

активностью за счёт содержания иммуноглобулинов, компонентов комплемента, лактоферрина, лизоцима и бета-лизуина, в сочетании с функцией век снижает бактериальную контаминацию поверхности глаза. Развитию инфекционно-воспалительных заболеваний конъюнктивы у детей способствуют нарушения местного и общего иммунитета на фоне перенесенных соматических заболеваний и общего ослабления, заболевания эндокринной системы. Часто конъюнктивиты развиваются 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 особенностей микрофлоры конъюнктивальной полости у детей с воспалительными заболеваниями передних отделов глаза и анализ профиля антибиотикочувствительности бактериальных штаммов, контаминирующих конъюнктиву.

Материалы и методы. В лаборатории микробиологии ФБУН КНИИЭМ было проведено бактериологическое исследование содержимого конъюнктивальной полости 75 детей от 2 до 17 лет с различными воспалительными заболеваниями переднего отдела глазного яблока. Для культивирования штаммов применялись: Columbia agar Base с добавлением 5% крови, маннит-солевой желточный агар («Columbia», «Conda», Испания). Идентификацию бактериальных культур осуществляли по морфологическим признакам, биохимическим методам в соответствии с нормативными документами. Определение профиля чувствительности к антимикробным препаратам проводилось диско-диффузионным методом с использованием среды Мюллер-Хинтона согласно Клиническим рекомендациям «определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам».

Результаты. В составе микробиоценоза конъюнктивальной полости чаще выделялись бактерии рода *Staphylococcus spp.*: *Staphylococcus epidermidis* (66,6%) и *Staphylococcus aureus* (22,9%). Также высевались бактерии рода *Streptococcus* – у 4,1% обследованных детей. У 2,1 % пациентов из содержимого конъюнктивальной полости были выделены *Streptococcus pneumoniae*. Необходимо отметить, что у данных пациентов пневмококки колонизировали и носовую полость. Грамотрицательные неферментирующие бактерии были обнаружены у 1 больного (2,08%). Микст-инфекция обнаружена в 6,2 % случаев, при этом наблюдалась ассоциация стафилококков со стрептококками. Анализ данных о спектре антибиотикочувствительности выделенных с конъюнктивальной полости бактериальных штаммов выявил: регистрируется максимально высокая чувствительность к фузидовой кислоте: подавляется рост 95,0% штаммов стафилококков. Высокоактивными в отношении стафилококков остаются фторхинолоны. Так, 87,2% штаммов *Staphylococcus* чувствительны к левофлоксацину, 72,5% - к ципрофлоксацину. Доля гентамицинчувствительных стафилококков составила 78,4%, а тобрамицинчувствительных культур - 70,9%. Хлорамфеникол подавлял рост 78,5% изолятов. Доля тетрациклинчувствительных культур составила 57,5%. Минимальная чувствительность зарегистрирована к эритромицину (29,7%).

Заключение. Полученные данные о характере микробиоценоза конъюнктивальной полости пациентов с воспалительными заболеваниями передних отделов глаза дают возможность судить о преобладающих возбудителях данных инфекций. Результаты о профиле антибиотикочувствительности клинических изолятов позволят подобрать максимально эффективные антимикробные препараты.

МИКРОМИЦЕТЫ ПРИ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Баязитова А.А.^{1,2}, Лисовская С.А.^{1,3}, Халдеева Е.В.¹

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

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

³ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

Акне - распространенное дерматологическое заболевание, проявляющееся комедонами, папулами, пустулами или узелками на лице, груди или спине. Обыкновенные угри являются распространенным заболеванием среди подростков. По литературным данным угревые высыпания встречаются у 67-95% лиц пубертатного возраста. Высыпания также могут встречаться и у более старших возрастных групп. Угри резко снижают качество жизни больных, приводя к развитию неврозов и депрессий, связанных с чувством стыда вследствие косметического дефекта кожи. Успешное управление этим потенциально обезображивающим заболеванием кожи может улучшить качество жизни и психосоциальное состояние больных.

Хотя механизм развития угревой болезни раскрыт не полностью, его часто связывают с повышенной продукцией сального секрета сальными железами; гиперкератозом — чрезмерным утолщением верхнего (рогового) слоя кожи; деятельностью микрофлоры кожи; воспалением.

Основными этиологическими факторами, по данным литературы, выступают стафилококки и *Propionibacterium acnes*, однако на характер течения заболевания также может влиять присутствие других возбудителей, в том числе – грибов. Поверхностные микозы могут осложнять течение акне, способствуя обострению заболевания и снижению эффективности терапии.

Целью этого исследования было оценить частоту встречаемости микотических осложнений акне среди детей и подростков, обратившихся в лабораторию микологии Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии.

Материалом для микробиологического исследования послужило отделяемое из пустул и комедонов. Забор материала производили стерильным ватным тампоном с последующим смывом стерильной дистиллированной водой. Посев смыва проводился на модифицированную среду Сабуро и МПА.

За 2014-2016 год было проведено обследование кожи с акне легкой и средней тяжести у 137 детей в возрасте до 18 лет, включительно.

В результате проведенных исследований, грибы выявлены у 60 больных (44%). Наиболее часто (47,2%) отмечалось наличие дрожжеподобных грибов *Candida albicans* (19,7%), *Candida parapsilosis* (5%), *Candida tropicalis* (1,5%), *Candida krusei* (0,7%), *Rhodotorula rubra* (2%), *Malassezia spp.* (0,7%).

Плесневые грибы и дерматомицеты были обнаружены у детей и подростков в 19% случаях. Наиболее часто встречались *Aspergillus niger* (6,5%), *Fusarium spp* (6,5%), *Alternaria spp.* (2%), *Penicillium chrysogenum* (1,5%), *Trichophyton spp.* (1,5%). В единичных случаях обнаружены: *Penicillium tardum*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton rubrum*.

У 10% пациентов в микробиологических посевах встречались грибковые ассоциации. Отмечено совместное присутствие дрожжевых и плесневых грибов.

Таким образом, полученные данные позволяют прийти к заключению о высокой встречаемости микромицетов у пациентов с угревой болезнью, что может приводить к осложнению угревой болезни и снижать эффективность терапии. В связи с этим, для правильного терапевтического подхода следует проводить микологическое обследование и своевременно назначать противогрибковую терапию в сочетании с комплексом антибактериальных, сосудистых, иммунокорректирующих, антиоксидантных средств и физиотерапевтических процедур способствующих более эффективному решению проблемы.

АНАЛИЗ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ РОДА *LACTOBACILLUS*

Бруслик Н.Л., Ахатова Д.Р., Яруллина Д.Р.

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

Пробиотики, согласно определению ВОЗ, представляют собой живые микроорганизмы, которые при употреблении в адекватных количествах оказывают благоприятное действие на организм. Положительное влияние пробиотических микроорганизмов на здоровье человека неоднократно подтверждено в клинических исследованиях. В последние десятилетия отмечается интенсивный рост рынка пробиотических препаратов как в России, так и за рубежом. Однако не всегда средства, позиционируемые в качестве пробиотических, соответствуют полному перечню требований, предъявляемых к пробиотикам. Эффективность пробиотического препарата, прежде всего, определяется свойствами микроорганизмов, входящих в его состав. Проблему конструирования эффективных пробиотиков существенно осложняет отсутствие единых критериев оценки пробиотического потенциала микроорганизмов, а также тот факт, что пробиотические свойства являются штаммоспецифичными. Бактерии рода *Lactobacillus*, как представители нормофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), интенсивно используются в пробиотических биопрепаратах. В данной работе проведен анализ основных пробиотических характеристик лактобацилл с целью выяснения функциональной роли отдельных физиологических особенностей и свойств лактобацилл в их пробиотической активности.

Объектами исследования служили 19 штаммов лактобацилл, выделенные нами из кисломолочных продуктов и пробиотических препаратов. Принадлежность к роду *Lactobacillus* определяли согласно ГОСТ 10444.11-89 «Продукты пищевые. Методы обнаружения молочнокислых микроорганизмов». Видовую идентификацию лактобацилл проводили с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF на анализаторе Bruker Daltonik MALDI Biotyper (Германия). Было установлено, что 14 штаммов лактобацилл относятся к виду *L. fermentum*, 4 – к *L. plantarum*, 1 – к *L. rhamnosus*.

Эффективность пробиотиков в значительной степени определяется способностью микроорганизмов, входящих в их состав, сохранять жизнеспособность в агрессивной среде ЖКТ. Поэтому мы исследовали устойчивость лактобацилл к симулированному желудочному соку (СЖС) (время инкубации, $t = 1$ ч), раствору соляной кислоты (HCl), $pH = 2$ ($t = 2$ ч, 6 ч) и 2% раствору желчи ($t = 6$ ч). Количество жизнеспособных клеток определяли с помощью окрашивания йодидом пропидия, PI (2.5 мкг/мл) (Sigma-Aldrich) и проточной цитофлуорометрии на анализаторе BD FACS Canto II (США). Показано, что при инкубации в СЖС у большинства исследуемых штаммов лактобацилл выживаемость составила менее 50%. Максимальные уровни устойчивости к СЖС выявлены у штаммов *L. fermentum* 5-3, *L. fermentum* 3-4 и *L. fermentum* 3-3 (73%, 74% и 86% живых клеток, соответственно). При экспозиции клеток лактобацилл в растворе HCl в течение 2 часов лактобациллы сохраняли высокий уровень жизнеспособности (89-100% живых клеток). Однако увеличение времени инкубации в HCl до 6 часов приводило к значительному снижению количества выживших лактобацилл (до 0,4-14% жизнеспособных клеток). Таким образом, очевидно, что необходимо максимально сократить продолжительность нахождения клеток лактобацилл в кислой среде желудка, что возможно при приеме пробиотиков натошак или в сочетании с жидкими продуктами. Инкубация клеток лактобацилл в 2% растворе желчи в основном не оказывала существенного влияния на их жизнеспособность. Наибольшая устойчивость к желчи была отмечена у штаммов *L. fermentum* Na, *L. plantarum* Ga и *L. fermentum* 1-2 (95%, 96% и 97% живых клеток, соответственно).

В терапевтической практике пробиотические препараты часто назначаются параллельно с приемом антибиотиков. Данная схема лечения необходима для профилактики дисбиотических состояний кишечника, способных развиваться на фоне антибактериальной терапии. В связи с этим антибиотикорезистентность (АР) пробиотических микроорганизмов является важной характеристикой, определяющей эффективность их применения. С другой стороны данная информация важна для безопасного использования пробиотиков, так как гены АР могут быть локализованы на мобильных генетически элементах, что создает риск их передачи патогенным микроорганизмам. В работе с помощью диско-диффузионного метода мы определили уровень устойчивости лактобацилл к 14 антибиотикам, относящимся к различным группам: β -лактамам (ампициллин, амоксициллин), аминогликозидам 1 поколения (стрептомицин, канамицин), 2 поколения (гентамицин), 3 поколения (амикацин), макролидам (эритромицин, канамицин),

гликопептидам (ванкомицин), линкозамидам (клиндамицин), ансамицинам (рифампицин), фторхинолонам 1 поколения (ципрофлоксацин), тетрациклинам (тетрациклин), хлорамфениколам (хлорамфеникол). Мы показали, что большинство исследованных лактобацилл имеют профиль резистентности, типичный для данной группы микроорганизмов. Наиболее широкий спектр антибиотикорезистентности был выявлен у штамма *L. fermentum* Na, проявившего устойчивость к 8 антибиотикам из 14 исследованных, а также у штаммов *L. fermentum* 1-5 и *L. fermentum* 6-1, которые были резистентны к 7 антибиотикам. Особого внимания требуют штаммы лактобацилл, устойчивые к хлорамфениколу, эритромицину и тетрациклину, поскольку гены резистентности к данным антибиотикам часто подвержены горизонтальному переносу. Все исследованные штаммы лактобацилл были чувствительны к хлорамфениколу. У *L. fermentum* 5-1 обнаружена устойчивость к эритромицину, а у *L. fermentum* 3-4 и *L. fermentum* 5-2 – к тетрациклину. Следовательно, данные штаммы лактобацилл не могут применяться в пробиотических препаратах без дополнительных исследований, направленных на выявление природы обнаруженной у них резистентности.

Роль пробиотиков в поддержании и восстановлении нормальной микрофлоры ЖКТ во многом зависит от их антагонистической активности против патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. В работе определили антагонистическую активность лактобацилл методом агаровых блоков в отношении следующих тест-микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella sp.*, *Serratia marcescens* Chas 26H, *Listeria monocytogenes* 88-ВК, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Исследованные лактобациллы не обладали достаточным уровнем антагонизма против тест-бактерий, чтобы считаться антагонистически активными. Наибольшие зоны ингибирования роста тест-микроорганизмов обнаружены у штаммов *L. plantarum* 8РА3 и *L. fermentum* 7-1 в отношении *L. monocytogenes* 88-ВК и составили 4 мм. Тем не менее отметим, что в естественных местообитаниях бактерии сосуществуют в тесных ассоциациях друг с другом, в которых ассоцианты могут оказывать стимулирующее действие на антагонистическую активность основного штамма. Возможно, исследованные штаммы лактобацилл способны к проявлению более высокого уровня антагонизма в присутствии добавочных культур, в том числе и пробиотических, что обосновывает целесообразность разработки поликомпонентных пробиотических препаратов.

Таким образом, в данной работе охарактеризованы особенности бактерий рода *Lactobacillus*, которые традиционно определяют их пробиотический статус: устойчивость к агрессивным факторам ЖКТ (кислоте рН, желчи, пищеварительным ферментам), антагонистическая активность в отношении условно-патогенных бактерий, антибиотикорезистентность. Полученные результаты дополняют имеющиеся представления о механизмах положительного действия пробиотиков на организм человека, и следовательно, расширяют области обоснованного, научно доказанного использования пробиотиков в медицине.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ ТОКСИГЕННОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Вафин Р.Р.², Ильинская О.Н.¹, Ржанова И.В.¹, Нгуен Н.Т.¹, Колпаков А.И.¹,
Гатауллин И.Г.³, Тюлькин С.В.⁴, Синягина М.Н.¹, Григорьева Т.В.¹

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

²ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», г. Казань,
Россия

³ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства
здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань, Россия

⁴ФГБУ «Татарская межрегиональная ветеринарная лаборатория», г. Казань, Россия

Микрофлора кишечника человека вносит существенный вклад в процесс возникновения и развития колоректального рака. В публикациях отечественных и зарубежных исследователей показано канцерогенное действие ряда бактериальных токсинов, таких как колибактин, цитотоксический некротизирующий фактор 1 (cytotoxic necrotizing factor 1 – CNF1) и др. Представители семейства *Enterobacteriaceae* – некоторые штаммы видов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *C. koseri* и др. способны продуцировать колибактин, который может приводить к онкогенным мутациям из-за двухспиральных разрывов в повреждаемой ДНК.

Известна способность адгезивно-инвазивных штаммов *E. coli* колонизировать слизистую толстого кишечника больных колоректальным раком. А по данным М.А. Старостиной с соавт. (2012), повышенная численность условно-патогенной микрофлоры имела место у 48 % больных колоректальным раком, среди которых выделялись *Klebsiella pneumoniae* у 13,5 %, *Enterobacter spp.* – у 7,6 %, *Citrobacter spp.* – у 3,8 %. Согласно Y.C. Lai et al. (2014), наличие у генотоксигенных штаммов *K. pneumoniae* колибактина может служить молекулярной основой в эпидемиологической связи между этим возбудителем и колоректальным раком, с учетом генетических механизмов, позволяющих данному виду бактерий также колонизировать слизистую кишечника.

Основной целью нашей работы являлся молекулярно-генетический анализ микробных культур, выделенных от больных колоректальным раком (попарно, как из злокачественной опухоли, так и из нормальной слизистой оболочки прямой кишки) по генетическим детерминантам, контролирующим адгезивную, гемолитическую и токсигенную активности.

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, Sh1o, Ef15o), так и из нормальной слизистой (образцы Tru26n, Sh1n, Ef15n) экстрагировалась геномная ДНК для последующих молекулярно-генетических исследований на предмет выявления генетических детерминант, контролирующих адгезивную (*papC*, *papH*, *afa*, *eae*, *bfpA*), гемолитическую (*hlyA*) и токсигенную (*lthB*, *STa*, *Stx*, *clb*, *cnf1*, *cdtB*, *cif*) активности.

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 (16S rDNA), кодирующей 16S rRNA, 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 CLUSTAL W (v. 1.83).

Выводы. Колибактин-продуцирующие микроорганизмы *E. coli* и *K. pneumoniae*, а также изоляты *E. coli* - продуценты еще одного токсина канцерогенного действия – цитотоксического некротизирующего фактора 1, выделенные из слизистой оболочки прямой кишки исследованных пациентов, могут быть этиологическими агентами развития колоректального рака ввиду носительства патогенетических онкомаркеров (*clb*, *cnf1*), что необходимо принимать во внимание при совершенствовании лабораторно-диагностических и лечебно-профилактических мероприятий.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) Федерального Университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и поддержана грантом РФФ № 14-14-00522.

ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВСПЫШЕК БОТУЛИЗМА В УКРАИНЕ

Волкова Ю.В.

Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

По определению Международной классификации болезней (МКБ-10), ботулизм - это классическая пищевая интоксикация, вызванная ботулинической палочкой (*Clostridium botulinum*). Возбудитель ботулизма широко распространен в окружающей среде. В форме споры он может длительное время сохраняться в почве, иле, откуда затем попадать в кишечник животных, пресноводных рыб или непосредственно на продукты питания. В анаэробных условиях и при оптимальной температуре (28—35°C) ботулиническая палочка размножается и продуцирует нейротоксический яд – ботулинический экзотоксин, который и вызывает заболевание. Чаще всего ботулизм связывают с употреблением таких продуктов питания как консервы, соленая рыба, колбаса, ветчина, грибы, приготовленные с нарушением технологии, особенно в домашних условиях. Также следует отметить, что органолептические свойства продукта при наличие возбудителя и токсина не меняются. Возбудитель размножается, как правило, гнездами в толще продукта, где созданы анаэробные условия. Поэтому при групповом употреблении одного и того же продукта могут быть только отдельные случаи ботулизма.

На самом деле, ботулизм довольно редкое заболевание, но, по данным Министерства охраны здоровья Украины, за последние 3 месяца в нашей стране уже зарегистрировано 62 случая заболевания ботулизмом, 9 из них для пациентов закончились смертью. Для сравнения, за прошлый год было зафиксировано 105 случаев заболевания ботулизмом, летальный исход был в 12 случаях. Такие масштабные вспышки ботулизма ранее фиксировались в 90-е годы, и были связаны с массовым употреблением консервов домашнего приготовления.

Сейчас одной из особенностей вспышек ботулизма является связь заболевания с употреблением продуктов промышленного производства. Так летальные случаи от ботулизма, которые произошли в нынешнем году в Киеве, Полтавской, Сумской, а также один из трех случаев в Черкасской области, были связаны с употреблением вяленой рыбы промышленного производства. В Запорожской области уже заболели ботулизмом 9 человек. У всех потерпевших заболевание развилось после употребления вяленой рыбы, приобретенной в торговой сети. Последний случай заболевания зарегистрирован 12.06.2017г., когда в реанимационное отделение областной инфекционной больницы поступили в тяжелом состоянии три жительницы г. Запорожье 1977, 1987 и 1964 года рождения, при лечебном осмотре им был поставлен диагноз «ботулизм». Лабораторией государственного учреждения "Запорожского областного лабораторного центра МОЗ Украины" 13.06.2017г. были выданы результаты анализа крови, промывных вод этих потерпевших и остатков рыбы, которая стала причиной заболевания. Во всех пробах обнаружен ботулотоксин типа «Е».

Вызывает тревогу тот факт, что в последнее время причиной ботулизма становятся продукты промышленного производства, ведь ранее зафиксированные случаи заболевания ботулизмом были связаны с употреблением паштетов, колбас, консервированных грибов домашнего изготовления. Скорей всего распространение ботулизма может быть связано с тем, что многие предприниматели почувствовали бесконтрольность и безнаказанность, ведь согласно Закону Украины "Об основах государственного контроля в сфере хозяйственной деятельности" на законодательном уровне закреплено требование предупреждать объект хозяйствования о плановой проверке за 10 суток. Также после принятия постановления Кабинета министров Украины №1405 от 30.11.2011 "Об утверждении критериев, по которым оценивается степень риска от осуществления хозяйственной деятельности для санитарного и эпидемического благополучия населения и определяется периодичность осуществления плановых мероприятий государственного надзора (контроля) Государственной санитарно-эпидемиологической службой и ее территориальными органами", количество плановых проверок значительно сократилось.

Мораторий на проведение проверок в текущем году вообще не позволяет своевременно проводить необходимые обследования и противоэпидемические мероприятия на объектах.

Еще одной особенностью вспышек ботулизма в Украине, является то, что они происходят на фоне отсутствия в больницах единственного специфического препарата этиотропного лечения - противоботулинической сыворотки.

Таким образом, проблема заболеваемости ботулизмом в Украине является актуальной. Учитывая, вышеперечисленные особенности, главным механизмом в борьбе с этим заболеванием должны стать следующие профилактические мероприятия:

1. систематическое проведение обучения и контроля знаний всех медицинских работников по вопросам клиники, диагностики, лечения, эпидемиологии, лабораторных исследований и профилактики;

2. активизация санитарно-просветительной работы среди населения по вопросам употребления продуктов, которые являются наиболее опасными в распространении возбудителя ботулизма; санитарных и технологических правил изготовления домашних консервов; клиники, особенно обращая внимание на первые клинические проявления ботулизма; методам оказания неотложной помощи больным и необходимости обязательного и срочного обращения за медицинской помощью.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

Гуляев П.Е.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

На сегодняшний день одной из основных причин возникновения гастрита считается бактерия *Helicobacter pylori*, который так же приводит к риску возникновения язвенной болезни и рака желудка. Спирально-изогнутая форма бактерий является преобладающей в период болезни, наряду с этим была обнаружена в кишечной полости кокковидная форма бактерий рода *Helicobacter*. Установлена зависимость, что культивирование спиралевидной формы микроорганизма происходит в благоприятных условиях для возбудителя, в то время как при изменении условий на неблагоприятные происходит изменение на кокковидную форму. В настоящее время культивирование кокковидной формы *H. pylori* в лабораторных условиях не возможно, но считается, что данный морфологический признак ответственен за жизнеспособность и вирулентность. Возможно, для переживания неблагоприятных условий, возбудитель переходит от спирально-изогнутой к кокковидной форме. Так как выделение возбудителя из желудка происходит достаточно часто, выявлено, что в таких случаях микроорганизм попадает в неблагоприятную для себя среду и это способствует к переходу в кокковидную форму. Характерным свойством для таких бактерий является реверсия к первоначальной форме клетки, если условия обитания улучшаются. В отношении *H. pylori* возврат к спиралевидной структуре происходит намного сложнее. В данном случае, морфологические преобразования хеликобактера сходны со смежным родом *Campylobacter*. Выявлено, что для микроорганизмов рода *Campylobacter*, кокковидная форма клетки представляет собой дегенеративную форму, не является вирулентной и предшествует смерти возбудителя.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА

Замальдинова А.Э., Гарипов М.Р., Штырлин Н.В., Каюмов А.Р.

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

Многие патогенные и условно-патогенные микроорганизмы способны формировать сообщества микробных клеток - биопленки, погруженные в так называемый полисахаридный матрикс [Croes *et.al.*, 2009]. Биопленки образуются на поверхности медицинских приборов, катетеров и пластиковых имплантатов, вызывающих хронические реинфекции и воспалительных осложнений в послеоперационном периоде [Hilbert *et.al.*, 2006]. Бактерии в составе биопленки чрезвычайно устойчивы к биоцидам, антибиотикам и иммунной системе человека [Croes *et.al.*, 2009; Hoiby *et.al.*, 2010]. Также бактерии чрезвычайно быстро накапливают различные мутации и приобретают гены устойчивости к антибиотикам за счет горизонтального переноса генов, который происходит значительно быстрее в составе биопленки, что приводит к появлению штаммов с очень высоким уровнем устойчивости к антибиотикам [Katie *et.al.*, 2014]. Поэтому поиск новых эффективных антибактериальных соединений является актуальной задачей современной фармацевтики.

Одними из широко используемых в настоящее время антимикробных дезинфицирующих и антисептических препаратов являются катионные поверхностно-активные соединения в виде четвертичных аммониевых солей [Lattmann *et.al.*, 2004; Simoynsh, *et.al.*, 2010], например, мирамистин, флуомизин, бензалкония хлорид [Tischer *et.al.*, 2012]. С 1930 - х годов, четвертичные аммониевые соединения широко используются для контроля роста бактерий в клинических и промышленных условиях и являются противомикробными и противогрибковыми препаратами широкого спектра действия [Obłak *et.al.*, 2013]. В НОЦ Фармацевтики КФУ на основе пиридоксина (витамина В₆) были синтезированы соединения, 3 из которых под условными номерами Gr3, Gr4, Ap106 в предварительных исследованиях продемонстрировали высокую эффективность против клеток *Stahylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* с множественной лекарственной устойчивостью.

Целью работы было оценить антибактериальную активность производных четвертичных аммониевых солей на основе пиридоксина. Установили антибактериальную активность соединений Gr3, Gr4, Ap106 в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий в планктонной форме и в составе биопленки. Соединения Gr4 и Ap106 подавляют рост большинства штаммов бактерий планктонной формы при малых концентрациях (1-4 мкг/мл), однако бактерицидный эффект наблюдается при концентрациях в 8 раз выше (16-32 мкг/мл), что позволяет отнести эти вещества к бактериостатикам. В отношении клеток в составе биопленок Ap106 проявляет высокую антибактериальную активность, превышающую активность референтных антибиотиков (мирамистина и бензалкония хлорида). Gr3 и Gr4 по антибактериальной активности сравнимы с контрольными антибиотиками. Далее определили способность соединений Gr3, Gr4, Ap106 подавлять образование биопленки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Рост биопленок, образованных как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями, стимулируется низкими концентрациями (до 8×МБК) всех исследуемых соединений. Также исследовалась генотоксичность соединений Gr3, Gr4, Ap106 в тесте Эймса и SOS-хромотесте. Соединения Gr3 и Ap106 при высоких концентрациях (150 мкг/мл) проявляют ДНК-повреждающую активность в SOS хромотесте, что характерно для антисептиков данного класса, обусловленное механизмом их действия на клетки. При низких концентрациях (до 1×МПК) ни одно исследуемое соединение не демонстрирует мутагенных свойств в тесте Эймса и SOS хромотесте.

Таким образом, соединение Ap106 продемонстрировал высокую антибактериальную активность против клеток в составе биопленок и является новым потенциальным эффективным антисептиком класса четвертичных аммониевых солей.

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ

Кабанов Д.А.¹, Гимадеев З.Г.², Марданова А.М.¹

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

На сегодняшний день госпитальные инфекции являются крайне распространенным явлением в сфере здравоохранения во всем мире. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, являются основной причиной заболеваемости и смертности среди госпитализированных больных [Septimus *et al.*, 2016]. Особое место среди этих инфекций занимают катетер-ассоциированные инфекции, которые возникают в результате использования венозных или урологических катетеров.

Прежде всего катетер-ассоциированные инфекции связаны с образованием особой формы бактериальных сообществ – биопленок. Биопленки в своем составе содержат в большом количестве гетерогенную полимерную субстанцию – матрикс биопленки, обволакивающий или полностью покрывающий бактериальные клетки. Матрикс состоит из ДНК, белков и полисахаридов [Hobley *et al.*, 2015]. Зачастую различные компоненты среды могут включаться в биопленку, обеспечивая ей дополнительную плотность.

В биопленках микроорганизмы могут обмениваться факторами патогенности и резистентности. Также, наличие биопленки может обеспечивать дополнительные факторы защиты от антибиотиков и антисептиков, факторов среды и даже механического удаления. В случае урологических инфекций из-за длительной катетеризации бактериальные обрастания могут привести к непроходимости мочи через просвет катетера, возбудитель может длительно сохраняться в катетер-ассоциированной биопленке и колонизировать организм пациента [Septimus *et al.*, 2016].

На развитие и течение катетер-ассоциированных инфекций может оказывать влияние огромное число факторов. Из-за высоких рисков генерализации или перехода инфекции в хроническое бактерионосительство с периодическими острыми рецидивами проблема катетер-ассоциированных инфекций на сегодняшний день является крайне актуальной. Все это на фоне растущей антибиотикорезистентности госпитальных возбудителей делает изучение бактериальных биопленок важной задачей.

Исследуются различные подходы и способы защиты катетеров от образования биопленок [Sticker, 2014]. Однако задача и на сегодняшний день остается нерешенной. Требуется более глубокое понимание процессов биопленкообразования, в особенности на катетерах, изучение механизмов резистенции и персистенции бактерий в биопленках, факторов, влияющих на образование биопленок. Все это поможет в поиске новых подходов по предотвращению их образования и методов их подавления или разрушения.

Целью работы было выделение уропатогенных штаммов из катетер-ассоциированной биопленки и характеристика их свойств, а также изучение способности сериновой протеиназы бацилл к разрушению биопленок.

Объектом исследования был катетер, полученный от больного 1950 г.р. с диагнозом гиперплазии простаты, и возбудители, выделенные из биопленки этого катетера.

Материалы и методы. Плотность биопленки на катетере оценивали методом окраски раствором генциан фиолетового (величину $OD_{(600)}=0.2$ принимали за пограничное значение). Этот метод позволяет оценить эффективность образования биопленки по относительной величине связавшегося красителя [O'Toole and Kolter, 1998]. Бактерии, выделенные из катетер-ассоциированной биопленки, идентифицировали с помощью Maldi Biotyper (Bruker Daltonik). Исследовали способность бактерий образовывать биопленки *in vitro* на полистироловых планшетах на средах LB и MX (Мюллер-Хинтон) и влияние на биопленкообразование мочевины и глюкозы. Исследовали уреазную активность бактерий по росту на среде Кристенсена. Для обработки биопленок использовали препарат сериновой внеклеточной протеиназы *Bacillus subtilis* 3-19, частично очищенный с помощью ионообменной хроматографии на КМ-целлюлозе.

Результаты и обсуждение. С помощью метода окраски генцианфиолетовым показали, что на поверхности урологического катетера имеется плотная биопленка, о чем свидетельствовала относительная оптическая плотность ($OD_{600}=0.6$) после окрашивания биопленки раствором генциан фиолетового.

Из суспензии биопленок были выделены две культуры бактерий, идентифицированные на Биотайрепе как *P. aeruginosa* и *K. oxytoca* (Score 2.252 и 2.235 соответственно). Штаммы бактерий были обозначены как *P. aeruginosa* RSC-2 и *K. oxytoca* RSC-2. Количество клеток в суспензии составляло не менее 10^6 КОЕ/мл в обоих случаях. Показали, что оба изолята обладают уреазной активностью, что характерно для многих уропатогенных бактерий. Известно, что уреазная активность играет важную роль в развитии инфекций мочевыводящих путей (ИМП). Уреазопродуцирующие возбудители ИМП расщепляют мочевины в моче на аммиак и водород, что приводит к изменению состава мочи и повышению pH, что в свою очередь ведет к выпадению солей в осадок и может быть причиной камнеобразования [Bichler, 2002].

Установили, что выделенные уропатогенные штаммы имеют разный оптимум температуры роста: 30°C для *P. aeruginosa* и 37°C для *K. oxytoca*. На 24 час культивирования плотность культуры *P. aeruginosa* при 30°C на 60% превышала плотность культуры при 37°C, в то время как для *K. oxytoca* плотность культуры при 30°C была ниже на 35%, чем при 37°C.

Известно, что в биопленках многих бактерий присутствуют амилоидоподобные белки, играющие важную структурную роль [Hobley *et al.*, 2015]. Была исследована способность изолированных штаммов к образованию амилоидных белков. С помощью метода, основанного на связывании красителя Конго красного с амилоидами, было показано, что штамм *P. aeruginosa* способен к образованию амилоидоподобных белков. Штамм *K. oxytoca* не способен к связыванию красителя, что свидетельствует о том, что данная бактерия не способна к образованию амилоидоподобных белков.

Исследовали способность к образованию биопленок штаммами *K. oxytoca* и *P. aeruginosa* на разных средах – LB и MX. LB – стандартная питательная среда для микроорганизмов, содержащая витамины, микроэлементы и пептон в качестве основного источника макроэлементов. Среда MX имеет в своем составе гидролизат казеина, мясной настой и крахмал. Последний, в свою очередь, способен выступать не только в качестве источника углерода, но и в роли коллоида, способного задерживать токсические продукты микроорганизмов. Также эту среду рекомендуют для проведения тестов на устойчивость к антимикробным препаратам. Образование биопленок изучали на 24-луночных планшетах при 37°C в течение 5 суток. Эффективность оценивали по связыванию красителя генциан фиолетового. Показали, что оба штамма эффективнее образовывали биопленки на среде MX, чем на среде LB. Штамм *K. oxytoca* образовывал биопленки на среде MX на 25-30% эффективнее, чем штамм *P. aeruginosa*. Показали, что мочевины в концентрации 2% стимулировала рост биопленки *P. aeruginosa* на 7%. Однако в случае *K. oxytoca* наблюдали ингибирование образования биопленки в присутствии мочевины на 47%. Глюкоза в концентрации 0.5% не оказывала влияния на образование биопленки *K. oxytoca*, но стимулировала рост биопленки *P. aeruginosa* на 25%.

Известно, что значительную часть матрикса биопленок составляют белки [Hobley *et al.*, 2015]. Одной из стратегий разрушения биопленок или подавления их образования может быть использование протеолитических ферментов отдельно или совместно с антибиотиками. Исследовали действие внеклеточной сериновой протеиназы *B. pumilus* 3-19 на смешанные биопленки *P. aeruginosa* и *K. oxytoca*. Для этого к 20-суточным биопленкам, выращенным в планшетах, добавляли растворы протеазы и инкубировали в течение 4 часов. Затем лунку с биопленкой промывали и окрашивали генцианом фиолетовым. Показали, что растворы протеиназы с активностью в 1 и 2 ед/мл не оказывали заметного влияния на биопленку. Растворы сериновой протеиназы с активностью 5 и 10 ед/мл снижали плотность биопленки на 20 и 50% соответственно. Таким образом, действие протеиназы на биопленки зависит от концентрации и активности фермента. Если биопленки устойчивы к действию низких концентраций фермента, то в присутствии повышенных концентраций бациллярных сериновых протеиназ происходит значительное разрушение биопленок. Полученные данные позволяют предположить возможность применения бациллярных протеиназ с широким спектром действия для борьбы с катетер-ассоциированными биопленками.

Таким образом, из смешанной катетер-ассоциированной биопленки от пациента с гиперплазией простаты были выделены два уропатогенных штамма, идентифицированных как *P. aeruginosa* и *K. oxytoca*. Характеристика некоторых свойств изолятов позволяет предположить, что

данные патогены взаимодействуют в смешанных биопленках синергически, что позволяет бактериям с разными стратегиями выживания успешно существовать в общей биопленке и противостоять защитным механизмам организма и антимикробной терапии. Показано, что оба уропатогенных штамма способны к эффективному образованию биопленок *in vitro*. Эффективность биопленкообразования зависит от состава среды и дополнительных ее компонентов. Бациллярные протеиназы могут быть использованы для разрушения катетер-ассоциированных биопленок

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

РОЛЬ СТАФИЛОКОККОВ В РАЗВИТИИ ПНЕВМОНИЙ У ОБЕЗЬЯН, СОДЕРЖАЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ.

Калашикова В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», г. Сочи, Россия

В настоящее время пневмония остаётся одним из широко распространённых заболеваний. Среди инфекционных болезней она занимает первое место у взрослого населения и 3 – 4 место – у детей. Кроме того, в структуре причин смертности населения пневмонии стоят на 4-5 месте у взрослых и на первом месте у детей.

Способностью вызывать пневмонию обладает широкий спектр возбудителей как патогенных, так и условно-патогенных. Частыми возбудителями заболевания являются представители грамположительной кокковой микрофлоры – *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). За последние полвека возросла роль метициллин-резистентных стафилококков (MRSA) в развитии нозокомиальной пневмонии, также с MRSA связан высокий показатель смертности. В последние годы отмечается возрастание роли грамотрицательных микроорганизмов в этиологии пневмоний. Часто у больных пневмонией людей и животных обнаруживают штаммы *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*), *Enterobacter spp.*, а также *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*). Однако до 50% пневмоний остаются этиологически не расшифрованными.

В ветеринарной практике проблема пневмоний малоизученна, но весьма актуальна, так как 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 – определить удельный вес *S. aureus* в этиологической структуре возбудителей пневмоний у обезьян.

Материалы и методы. Исследовано 336 погибших обезьян с диагнозом «пневмония». Материалом для изучения послужили культуры микроорганизмов, полученные в результате бактериологического исследования лёгких животных. Для этого брали кусочки секционного материала (легкие) размером 2х2 см. Выделение и идентификацию микробных культур проводили общепринятыми лабораторными методами. Посевы осуществляли на дифференциально-диагностические среды (Эндо, Плоскирева). Для выявления гемолитических свойств культур применяли 5% кровяной агар, для определения лецитиназной активности – желточно-солевой агар (ЖСА). Посевы инкубировали в термостате при 37⁰С в течение 24 ч. Видовую идентификацию чистых культур бактерий осуществляли с использованием стандартных сред для определения биохимических признаков (агар Клиглера, среда Симмонса, фенилаланин-агар и др.) и биохимических коммерческих тест-систем («ММТ С» и «ММТ Е24»). Идентификацию

стафилококков также осуществляли на основании характеристики колоний, их пигментации, окраски по Граму и морфологии. Для определения видовой принадлежности использовали тест на плазмокоагулирующую активность. Наборы «Мультимикротесты для биохимической идентификации энтеробактерий (ММТ E24)» и «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков (ММТ С)», основаны на определении у микроорганизмов ферментных систем, действующих на соответствующие субстраты (производство ООО НПО «Иммунотэкс», Россия). Набор «ММТ E24» позволяет определить такие биохимические свойства, как наличие уреазы, образование индола, наличие лизиндекарбоксилазы, утилизацию маннита, цитрата натрия, сахарозы, инозита, наличие фенилаланиндезаминазы, образование сероводорода, наличие аргининдигидролазы, орнитиндекарбоксилазы, утилизацию лактозы, малоната натрия, сорбита, дульцита, мальтозы, наличие β -галактозидазы, утилизацию арабинозы, рамнозы, адонита, салицина, глюкозы, наличие нитратредуктазы. Набор «ММТ С» позволяет определить следующие биохимические свойства стафилококков: наличие аргининдигидролазы, уреазы, β -галактозидазы, утилизацию маннита, сахарозы, лактозы, мальтозы, раффинозы, трегалозы, фруктозы, наличие фосфатазы и нитратредуктазы. Исследование проводилось согласно прилагаемым инструкциям.

Результаты. При бактериологическом исследовании аутопсийного материала (лёгких) обезьян, погибших от пневмонии, в 89,6% случаев обнаружены представители патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Анализ структуры микрофлоры показал, что более половины выделенных микроорганизмов (61,6%) относились к грамотрицательным бактериям, в том числе, представителям семейства *Enterobacteriaceae* (60,4%) и неферментирующим бактериям семейства *Pseudomonaciæ* (*Ps. aeruginosa*) – 1,2%. Второе место по частоте встречаемости (38,7%) занимала грамположительная кокковая флора, при этом частота выявления стафилококков (*Staphylococcus spp.*) составила 38,5%, на долю стрептококков (*Streptococcus spp.*) приходилось только 0,2%. При этом чаще выделялся *S. aureus* (28,9%). *S. intermedius* идентифицирован в 8,4% случаев. Коагулазоположительный *S. schleiferi spp. coagulans* обнаружен лишь в 0,2% (1 случай). В 0,8% наблюдалось выделение коагулазонегативных стафилококков (КОС), которые по биохимическим признакам отнесены к двум видам – *S. caprae* (0,4%) и *S. xylosus* (0,4%). В 10,4% случаев (35 образцов) рост микроорганизмов на селективных питательных средах отсутствовал.

Выделенные из патологического материала энтеробактерии представлены преимущественно 2 родами – *Escherichia*, *Proteus*. Первое место по частоте колонизации лёгких занимает *E. coli* (38,0%), второе – *Proteus spp.* (16,7%). Редко обнаружены *Klebsiella spp.* (2,4%) и *Enterobacter spp.* (1,4%). В единичных случаях наблюдалось выделение *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* (0,6%), а также *Citrobacter farmer* и *Hafnia alvei*, которые были выделены по одному изоляту (0,2%).

Из лёгких были выделены 192 культуры *Staphylococcus spp.* (38,5%), при этом *S. aureus* обнаружен в 75% (145 штаммов), *S. intermedius* – в 22% (42 штамма), *S. schleiferi spp. coagulans* – в 1% (1 штамм) и КОС – в 2% (по 2 штамма *S. caprae* и *S. xylosus*, соответственно).

Анализ выросшей микрофлоры показал, что бактерии встречались как в монокультуре (28,3%), так и в ассоциациях (71,7%). Стафилококки выделены в 31,6% в монокультуре, а в 68,4% – в ассоциациях с грамотрицательной микрофлорой. Наиболее частые – это сочетания стафилококков с *E. coli* (71,4%). *S. aureus* также выделяли в ассоциациях с микроорганизмами рода *Proteus* (19,4%), *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.* (2,1 и 3,1% соответственно).

Таким образом, на основе анализа результатов бактериологического исследования биоматериала обезьян, погибших от пневмоний, такие виды бактерий как *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *K. pneumonia*, *Ps. aeruginosa*, выделенные из несвойственных им биотопов, оценены нами как возбудители заболевания, что связано с низким иммунитетом и нарушением колонизационной резистентности бактерий, следовательно, влияет на характер течения инфекционного процесса. Обнаружение КОС в лёгких при пневмониях (*S. caprae* и *S. xylosus*, принадлежащих к группам эпидермальных и сапрофитных стафилококков, соответственно) также свидетельствует о низком иммунитете обезьян. Анализируя частоту встречаемости отдельных микроорганизмов при пневмониях у обезьян, мы отнесли к постоянной микрофлоре *Staphylococcus spp.* и *E. coli*, к добавочной – *Proteus spp.*, к случайной – остальные выделенные грамотрицательные бактерии.

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 в развитии пневмоний у животных.

АНАЛИЗ ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ИКСОДОВОМУ КЛЕЩЕВОМУ БОРРЕЛИОЗУ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ЗА 2016 ГОД

Карпова И.А.¹, Хакимзянова М.В.¹, Янтыкова Ю.Н.¹, Хабирова Г.З.²

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан», Россия

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

Цель. Анализ энтомологической ситуации по иксодовому клещевому боррелиозу в Республике Татарстан за 2016 год.

Методы. Используются статистический и графоаналитический методы.

Результаты. Иксодофауна Республики Татарстан представлена 4 видами: *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus*. Клещи вида *Dermacentor reticulatus* доминируют на территории, что обусловлено наличием более подходящих биотопов для данного вида. Индекс доминирования его в видовом составе составил в 2016 г. - 85,9%. Обычным, но малочисленными видами на территории республики являются *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus*. Численность клещей в природных биотопах в сезон 2016 года осталась практически на уровне прошлогодних данных, что связано с понижением численности мелких млекопитающих (прокормителей клещей), но активность клещей в сентябре значительно возросла. Повышение активности клещей в сентябре 2016 г. можно связать с погодными условиями: с июня по август наблюдались более высокие средние температуры в сравнении со средними многолетними данными и выпадение осадков значительно ниже нормы (июнь +0,80 °С, 62% осадков от нормы; июль +2,20 °С, 67% осадков от нормы; август +6,20 °С, 40% осадков от нормы). В сентябре средние температуры соответствовали норме, количество осадков увеличилось (температура воздуха +0,20 °С, 171% осадков от нормы), что создало более благоприятные условия для жизнедеятельности мелких млекопитающих и соответственно клещей. В 2017 г. прогнозируется снижение численности клещей в связи со снижением численности прокормителей (грызунов) и неблагоприятными (засушливыми) погодными условиями лета 2016 г.

Вывод. На территории Республики Татарстан в 2016 году доминировали клещи вида *Dermacentor reticulatus*. Помесячная динамика активности клещей напрямую зависела от погодных условий (температуры и влажности воздуха).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОРТАТИВНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ Endosafe PTS

Кашипова Г.Л., Светлакова Т.Н.

Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ, г. Казань, Россия

Присутствие бактериальных эндотоксинов (пирогенов) в препаратах, применяемых для парентерального и интратекального введения, является серьезной проблемой в реальных условиях фармацевтического производства. Хотя сами по себе эндотоксины не являются токсическими веществами, их попадание в организм может вызвать крайне нежелательные для человека биологические эффекты, в том числе, лихорадку, тромбоцитопению, резкие метаболические нарушения вплоть до шока и летального исхода.

Бактериальные эндотоксины (БЭ) представляют собой агрегаты липополисахаридов (ЛПС) – веществ, из которых состоят клеточные стенки грамотрицательных бактерий. Высвобождение ЛПС происходит после прекращения жизнедеятельности и аутолиза клетки. Бактериальные эндотоксины составляют более 90% всех пирогенов. К пирогенам небактериальной природы относятся вирусы, грибки, антигены или синтетические адьюванты.

Термины «пирогены» и «бактериальные эндотоксины» часто употребляются как синонимы и, хотя не все пирогены являются эндотоксинами, наиболее значимыми являются именно эндотоксины грамотрицательных бактерий.

По сравнению с белками, БЭ очень стабильны. Их стабильность сохраняется при высоких значениях температур и в широком диапазоне рН. Благодаря своей молекулярной структуре ЛПС устойчивы к физическим воздействиям и практически не подлежат инактивации. Так, они выдерживают процесс стерилизации, например, автоклавирование, при котором разрушаются бактерии, а фрагменты клеточных стенок этих бактерий, т.е. эндотоксины, сохраняют свои свойства.

Эндотоксины очень устойчивы к физическим и химическим воздействиям, поскольку по своему физиологическому назначению обеспечивают высокую стабильность во внешней среде и в условиях организма. Так, БЭ легко переносят процесс стерилизации, например, автоклавирование, при котором разрушаются бактерии, а фрагменты клеточных стенок этих бактерий, т.е. эндотоксины, сохраняют свои свойства.

Высокая устойчивость эндотоксинов, их биологическая активность, большая вероятность их присутствия в готовых инъекционных лекарственных формах из-за возможного попадания бактерий с сырьем, водой, из воздуха, а также те серьезные последствия, которые вызываются попаданием эндотоксинов в кровь, делают необходимым обязательный контроль присутствия БЭ в готовом лекарственном препарате.

В последнем издании Государственной Фармакопеи РФ (ГФ XIII) определена возможность тестирования лекарственных препаратов парентерального применения и фармацевтических субстанций, используемых для их изготовления, по одному из двух показателей – «Пирогенность» (ОФС.1.2.4.0005.15) или «Бактериальные эндотоксины» (ОФС.1.2.4.0006.15).

Испытание на пирогены является неотъемлемой частью ведущих фармакопей. Принцип метода, длительное время используемого для контроля уровня пирогенности лекарственных средств, основан на сравнительном анализе ректальной температуры тела у трех кроликов в ответ на внутривенное введение испытуемым препаратов. Определение пирогенности на кроликах – установление всех пирогенов, включая бактериальные эндотоксины

Альтернативой испытаниям на пирогены на кроликах является определение содержания БЭ с помощью ЛАЛ-теста (Limulus Amebocyte Lysate Test) - "in vitro" метода, основанного на свойствах амебоцитов гемолимфы крабов мечехвостов - древнейших морских животных, обитающих у восточных берегов Северной и Центральной Америки, Японии, Китая, Вьетнама и Индии. Поскольку первые исследования были проведены на мечехвостах, препарат, полученный из их крови, был назван Лизат амебоцитов Limulus (Limulus amebocyte lysate), сокращенно ЛАЛ-реактив, и, соответственно, ЛАЛ-тест. Из амебоцитов готовится очищенный лизат, который используется для определения бактериальных эндотоксинов.

В 1964 г. в США было доказано, что клетки крови мечехвоста вида *Limulus polyphemus* способны специфически реагировать с эндотоксинами грамотрицательных бактерий (пирогенами). В результате реакции эндотоксина и лизата происходит помутнение реакционной смеси или образование твердого геля, что и служит индикатором присутствия эндотоксина в испытуемом растворе.

ЛАЛ тест устанавливает эндотоксины (не пирогены как таковые).

ЛАЛ-тест считается наиболее надежным и перспективным способом проверки потенциальной пирогенности лекарственных средств. Простота и экономичность позволяют использовать его в качестве средства внутрипроизводственного контроля, контроля качества сырья и готовых лекарственных препаратов, изделий медицинского назначения.

Преимущества этого теста – высокая чувствительность, точность и специфичность, а также простота выполнения, надежность, хорошая воспроизводимость, возможность анализировать в короткий срок большое число образцов.

Фармакопеи США, Японии, Европейская Фармакопея и Государственная Фармакопея РФ (ГФ XIII) включили наряду с методом определения пирогенных веществ определение бактериальных эндотоксинов биологическим методом с помощью ЛАЛ-теста.

Существуют три основных методологических подхода для проведения данного испытания:

- гель-тромб метод, основанный на образовании геля;
- турбидиметрический метод, основанный на появлении окрашивания после расщепления субстрата;
- хромогенный метод, основанный на появлении окрашивания после расщепления пептид-хромогенного комплекса.

В последние несколько лет появились новые разработки технологии проведения ЛАЛ-теста, например, разработка компании Charles River Endosafe®PTS. - портативная тест-система, предназначенная для определения содержания БЭ кинетическим хромогенным методом. Основной целью разработчиков была максимальная автоматизация и стандартизация процедуры анализа, предельное упрощение процедуры проведения опыта.

Основным компонентом системы является миниатюрный прибор Endosafe PTS (Portable Test System - Переносная или Портативная Тест-система), в корпусе которого находятся:

- спектрофотометр, проводящий измерения при длине волны 395 нм;
- инкубатор с микропроцессорным контролем точности поддержания температуры (37°C);
- микронасос, служащий для разведения реактивов и подготовки реакционных смесей;
- микрокомпьютер для обработки данных анализа.

Данные в прибор вводятся непосредственно с буквенно-цифровой клавиатуры, а результаты анализа отражаются на небольшом дисплее.

Вторая неотъемлемая часть тест-системы - картриджи, в которых проводится опыт, представляющие собой пластину из полистирола размером 25x100 мм, содержащую 4 канала, в которые внесены ЛАЛ-реактив и хромогенный субстрат. В два из четырех каналов

дополнительно внесен контрольный стандарт эндотоксина (КСЭ), который служит в качестве положительного контроля.

В процессе испытания определяют скорость развития окраски реакционной смеси, измеряемой по времени, необходимому для достижения заданной величины оптической плотности реакционной смеси.

К числу основных преимуществ тест-системы относятся:

- объединение основных реактивов в одном картридже, позволяющее автоматически решать вопросы сочетания серии ЛАЛ-реактива и КСЭ; полностью исключаются проблемы, связанные с хранением разведенных реактивов;
- высокая степень автоматизации процедуры анализа;
- оперативность анализа;
- миниатюрность прибора.

В РКОД МЗ РТ портативная тест-система Endosafe PTS используется для количественного определения БЭ в радиофармацевтических лекарственных препаратах, предназначенных для проведения диагностических исследований методом позитронной эмиссионной томографии. а также препаратов, изготовленных аптекой РКОД МЗ РТ для парентерального применения.

Предельным содержанием бактериальных эндотоксинов (ПСЭ) считается допустимое содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом лекарственном средстве, не дающее пирогенную реакцию.

$ПСЭ = K/M$, где

K - пороговая пирогенная доза, равная 5 ЕЭ/кг в 1 час для испытуемого лекарственного препарата, вводимого пациенту любым парентеральным путем, кроме интратекального; при интратекальном пути введения (под оболочки мозга) K составляет 0,2 ЕЭ/кг;

M - максимальная терапевтическая доза испытуемого лекарственного средства, вводимая в течение одного часа (выражается в мг, мл или ЕД на 1 кг массы тела).

Согласно требованиям ОФС «Бактериальные эндотоксины», испытуемые образцы следует проверять в разведении, не превышающем значения максимально допустимого разведения, в котором отсутствуют факторы, мешающие реакции, такие как: неоптимальное значение рН, высокие концентрации солей или значительное фоновое содержание эндотоксина.

Для приготовления растворов реактивов и разведений испытуемого лекарственного средства используют воду для ЛАЛ-теста, которая должна соответствовать требованиям, предъявляемым к воде для инъекций, и при этом не должна содержать бактериальные эндотоксины в количествах, определяемых в тесте.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ В РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Кашанова Г.Л., Светлакова Т.Н.

Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ, г. Казань, Россия

Последние десятилетия характеризуются интенсивным развитием томографических методов клинической диагностики, важное место среди которых занимает позитронно - эмиссионная томография (ПЭТ).

Позитронно-эмиссионная томография относится к методам ядерной медицины, использующим для получения изображений радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП), меченые позитрон-излучающими ультракороткоживущими радионуклидами (УКЖР). Применение УКЖР позволяет значительно сократить время исследования и радиационную нагрузку на больного, т.к. большая часть препарата распадается уже во время исследования. Кроме того, многие элементы, имеющие позитрон-излучающие УКЖР, такие как ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , а также ^{18}F , выступающий как аналог водорода, принимают самое активное участие в большинстве биологических процессов человеческого организма. По существу, методом ПЭТ можно исследовать любую функцию организма. Необходимо только выбрать химическое соединение, критически важное для осуществления этой функции.

В настоящее время существует множество различных РФЛП для ПЭТ, позволяющие рассматривать этот метод как инструмент для изучения биологических процессов *in vivo*. Так, например, аналог природной глюкозы: ^{18}F -фтордезоксиглюкоза (^{18}F -ФДГ), используется для оценки скорости метаболизма глюкозы, меченая [^{15}O] вода служит для оценки мозгового кровотока, [$^{15}\text{O}_2$] – для оценки метаболизма кислорода. [^{11}C]-метил-L-метионин, [^{11}C]-лейцин, [^{18}F]-тирозин, ^{18}F – фторхолин – для определения уровня метаболизма и транспорта аминокислот и синтеза белков, ^{18}F - фтортимидин для оценки скорости пролиферации опухолевых клеток, ^{18}F - фтормизонидазол для выявления тканевой гипоксии.

Разнообразие существующих РФЛП позволяет выбрать оптимальный вариант для конкретной ПЭТ-методики в зависимости от целей исследования. Однако в клинических исследованиях используется ограниченное количество РФЛП, а в подавляющем большинстве случаев применяется ^{18}F -ФДГ.

Для проведения исследования малое количество радиоактивного препарата внутривенно вводят пациенту, радионуклид поступает в клетки и распределяется в них. Спустя некоторое время его концентрация в тканях измеряется сканером, достаточно чувствительным для обнаружения даже небольшого количества радиоактивного состава.

Само производство радиофармацевтических препаратов представляет собой технологический процесс, который включает получение радионуклида в медицинском циклотроне, радиохимический синтез, в процессе которого радионуклид «встраивается» в химическое вещество, получение лекарственных форм с мечеными веществами, а также оценку качества готовой продукции.

Одним из контролируемых показателей инъекционных лекарственных средств, включая и все РФЛП, подлежащим строгой регламентации, является показатель «Бактериальные эндотоксины».

Определение бактериальных эндотоксинов (БЭ) более предпочтительно для РФЛП по сравнению с пирогенностью из-за высокой чувствительности и скорости проведения анализа. Испытание проводят в соответствии со статьей «Бактериальные эндотоксины» (ОФС.1.2.4.0006.15) с соблюдением необходимых предосторожностей в целях ограничения облучения персонала, проводящего тест.

Учитывая специфику РФЛП (радиоактивность и короткий период полураспада изотопов, а следовательно, небольшой - не более 8 ч - срок годности препарата), необходимо применение экспресс-методов анализа, которым, в частности, является кинетический хромогенный метод, проводимый в лаборатории контроля качества РФЛП РКОД МЗ РТ на приборе Endosafe PTS (Charles River, США). Метод является одной из модификаций ЛАЛ-теста и является на сегодняшний день наиболее надежным, оптимальным по времени и перспективным способом определения БЭ в РФЛП.

Расходные материалы, используемые для проведения анализа: ЛАЛ-вода, депирогенизированные пробирки и наконечники для дозаторов, калиброванные картриджи для прибора Endosafe PTS с различным фиксированным диапазоном измерений:

0,5 – 0,005 ЕЭ/мл ($\lambda=0,005$ ЕЭ/мл)

5,0 – 0,05 ЕЭ/мл ($\lambda=0,05$ ЕЭ/мл), где

λ – чувствительность картриджа.

Достоинство работы с системой Endosafe PTS – высокая чувствительность, точность, специфичность (для всех штаммов микроорганизмов) и оптимальное время анализа (18 - 23 мин).

Обязательным условием для проведения ЛАЛ-теста и интерпретации результатов является правильная подготовка пробы: расчет максимально допустимого разбавления пробы (МДР) для устранения мешающих факторов.

Разбавление пробы проводят только ЛАЛ-водой в депирогенизированной пробирке.

При анализе неразбавленных РФЛП (18F-ФДГ и 11С-L-метионин) нами отмечено ингибирование реакции гелеобразования, которое не позволяет правильно оценить результат и подтверждает наличие мешающих факторов. Для преодоления этого необходимо разбавление препарата ЛАЛ-водой с учетом МДР, которое рассчитывается по формуле:

$$\text{МДР} = \text{ПСБЭ} / \lambda, \text{ где}$$

ПСБЭ – предельное содержание бактериальных эндотоксинов в РФЛП;

λ - чувствительность картриджа.

Согласно ОФС.1.11.0001.15 «Радиофармацевтические препараты», для вех РФЛП, вводимых парентерально, $\text{ПСБЭ}=175/V$, где V – наибольшая по объему доза препарата с наименьшей объемной активностью в конце срока годности, составляющая 10 мл.

Экспериментальным путем нами установлены оптимальные степени разведения, устраняющие мешающие в ходе реакции факторы: 500 раз для 18F-ФДГ и 400 для 11С-L-метионина.

Достоинством проведения анализа в данном разведении является также значительное снижение дозовой радиационной нагрузки на оператора.

АНАЛИЗ УРОВНЯ АНТИТЕЛ К HELICOBACTER PYLORI У НАСЕЛЕНИЯ Г.КАЗАНИ В РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

Крестникова Л.В.^{1,2}, Сырых Э.В.^{1,2}, Агафонова Е.В.^{1,3}, Исаева Г.Ш.^{1,3}

¹ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», г. Казань,
Россия

³ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

Рост заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *Helicobacter pylori* диктует необходимость изучения распространенности инфекции в различные возрастные периоды жизни.

Материалы и методы. В исследование были включены 928 сыворотки жителей г. Казани взятые методом случайной выборки. В зависимости от возраста было выделено 7 групп (критерии ВОЗ). Гр.1 - 4-6 лет (дошкольный возраст; N=36), гр.2 - 7-10 лет (младший школьный возраст; N=72), гр.3 - 12-15 лет (старший школьный возраст; N=34), гр.4 - 16-21 год (юношеский возраст; N=36), гр.5 - 21-45 лет (молодой возраст; N= 270), гр.6 - 46-60 лет (средний возраст; N=360), гр.7 - 60-75 лет (пожилой возраст; N=120). Антитела к *H. pylori* определяли с использованием тест-системы методом иммуноферментного анализа (“Вектор-Бест”, Новосибирск).

Результаты. Из всего контингента обследованных серопозитивные сыворотки (СП) составили 45,1%. В периодах детства нарастание процента СП выявлено в группе 2, по сравнению с группой 1 (11,1-5,1%; $p<0,05$), а также в группе 3, по сравнению с группой 2 (11,5-17,6%; $p<0,05$). Между группами 3 и 4 достоверных различий по уровню СП не обнаружено (17,6-16,7%; $p>0,05$). Нарастание количества СП выявлено также в группе 5, по сравнению с группой 4 (в 2,3 раза; $p<0,001$) и в группе 6 (в 1,5 раза по сравнению с группой 5; $p<0,05$). Количество СП у пожилых не отличалось от уровня среднего возраста (60,6-63,3%, соответственно). Таким образом, нами выявлены критические периоды нарастания уровня серопозитивности к *H.pylori*: два из них с максимальным уровнем (в 2,3-2,6 раз) – дошкольный-младший школьный, юношеский-молодой возраста. Резкий рост СП в данных возрастных группах, по видимому, определяется максимальной социализацией в периодах школьного и студенческого обучения. Также нами выделены периоды со средним уровнем роста (в 1,5-1,6 раз) – младший-старший школьный, молодой-средний возраста.

Выводы. Исходя из вышеизложенного, профилактические мероприятия, направленные на предотвращение распространенности *H. pylori*, должны быть более дифференцированными в различные возрастные периоды жизни.

КОНТРОЛЬ ДОЗОВОЙ НАГРУЗКИ НА ПАЦИЕНТОВ ЗА СЧЕТ РЕНТГЕНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУР

Куцак А.В.

Запорожский государственный медицинский университет, Кафедра общей гигиены и экологии, г. Запорожье, Украина

Среднемировая годовая эффективная доза облучения на душу населения за счет медицинского облучения достигает 0,4 мЗв, что составляет 7,7 % суммарной дозы облучения населения. В Украине по оценкам отечественных ученых этот показатель составляет 0,5 мЗв, это 7 % от всех источников облучения населения Украины и прослеживается тенденция роста рентгенологических исследований.

Цель работы. Изучить и проанализировать дозовую нагрузку на население Запорожской области за счет рентгенодиагностических процедур.

Методы исследования: Использовались дозиметрические и расчетные методы исследования.

Результаты и их обсуждение. С целью контроля дозовой нагрузки на пациентов было проанализировано количество проведенных рентгенодиагностических исследований населения Запорожской области за период 2012-2016 гг., полученных из медицинской статистической формы ф 20 «Отчет лечебно-профилактического учреждения». Результаты анализа свидетельствуют о том, что количество рентгенологических процедур за последние годы уменьшается, уменьшилась

и частота исследований на одного человека с 1,33 в 2012 году до 1,29 в 2016 году, но с учетом уменьшения населения, частота исследований на одного человека с 2013 года по 2016 год остается стабильной (1,29).

Изучение частоты отдельных исследований показывает, что наибольшую частоту составляет наименее радиационно-опасный метод – рентгенография (0,63-0,67) на одного человека; на втором месте – флюорография (0,43-0,48), а наиболее радиационно-опасное традиционное исследование – рентгеноскопия занимает третье место (0,03-0,04). Следует отметить, что в области с 2007 года появился новый прогрессивный, но в то же время высокодозный метод рентгенодиагностики – рентгеновская компьютерная томография, частота которой в 2015 году достигла 0,022 на одного человека.

Анализ дозовых нагрузок пациентов свидетельствует о том, что усредненная доза облучения населения области от рентгенологических исследований за исследуемый период находится в пределах от 0,95 до 0,97 мЗв на человека. При этом основную долю в суммарной дозе медицинского облучения составляет рентгенография 0,49-0,47 мЗв, на втором месте флюорография 0,24-0,21 мЗв, на третьем – компьютерная томография 0,12-0,14 мЗв.

Обращает на себя внимание то, что невзирая на небольшую частоту проведения рентгеновской компьютерной томографии, дозы облучения пациентов за ее счет за проанализированный период достигли величины 0,14 мЗв на одного человека, выходя на третье место по дозовой нагрузке.

Подытоживая полученные результаты, следует отметить, что усредненная доза облучения населения Запорожской области за счет рентгенодиагностических процедур за исследуемый период в среднем составила 0,94 мЗв на одного человека в год, что превышает среднемировой показатель в 2 раза и на 20 % больше среднеукраинского. Около 50 % этой дозы население получает за счет рентгенографического метода исследования.

Выводы:

1. Установлено, что усредненная доза облучения населения Запорожской области за счет рентгенодиагностических процедур в 2012-2016 гг. составила 0,94 мЗв·год⁻¹, что превышает среднемировой показатель в 2 раза и на 20 % больше среднеукраинского.

2. Определенно, что наибольшую частоту оставляет наименее радиационно-опасный метод – рентгенография (0,63-0,67) на одного человека, на втором месте – флюорография (0,43-0,48), а наиболее радиационно-опасное традиционное исследование – рентгеноскопия занимает третье место (0,03-0,04).

Установлено, что основную долю в суммарной дозе медицинского облучения составляет рентгенография 0,49-0,47 мЗв, на втором месте флюорография 0,24-0,21 мЗв, на третьем – компьютерная томография 0,12-0,14 мЗв

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ К ФОРМИРОВАНИЮ БИОПЛЕНОК ДРОЖЖЕВЫМИ ГРИБАМИ CANDIDA НА РАЗЛИЧНЫХ ПОВЕРХНОСТЯХ

Лисовская С.А.^{1,2}, Халдеева Е.В.¹, Измайлова Г.Р.³, Мухамеджанова Л.Р.⁴

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

³ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

³Стоматологическая клиника ООО «Вильдан», г. Казань, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова», г. Чебоксары, Россия

Около 80% жителей нашей планеты являются носителями дрожжевых грибов рода *Candida*. Грибы рода *Candida*, в основном, населяют, размножаются и паразитируют в тканях, впитывающих полисахариды. Одним из основных мест локализации данных грибов в теле

человека является слизистая оболочка ротовой полости. За последние десятилетия возросли число, частота и степень воздействия факторов, снижающих специфический иммунный ответ и неспецифическую резистентность организма, что приводит к риску развития кандидозов. Около 20% от числа других заболеваний, связанных с поражением слизистой оболочки рта, занимает оральный (орофарингеальный) кандидоз. В большинстве случаев последний, вызывается грибами *C. albicans*, доля которых в этиологии заболевания составляет, по данным литературы, от 50% до 90%. Однако, в последнее время значительный рост распространенности кандидоза указанной локализации обусловлен и другими видами грибов этого рода (*non-albicans Candida spp.*).

Факторами риска развития орального кандидоза являются местные и общие причины. Прежде всего, плохой уровень гигиенического состояния полости рта. Использование ортопедических конструкций из разнородных материалов, отягощенность хроническими воспалительными заболеваниями пародонта и слизистой оболочки рта, наряду с другими местными причинами, являются немаловажными предрасполагающими к возникновению грибковой инфекции факторами. Так, в работах некоторых авторов было выявлено, что к материалам, применяемым в стоматологической практике, на основе акрила, наблюдалась высокая степень адгезии микроорганизмов. К материалам на основе нейлона степень адгезии была ниже.

Несмотря на то, что весь род *Candida* относится к условно-патогенным микробам и в патогенезе кандидозной инфекции решающую роль играет состояние макроорганизма, тем не менее, характерной особенностью грибковых инфекций является наличие факторов патогенности самого гриба. На сегодняшний день взгляд на дрожжевые грибы, как на одноклеточные формы жизни, сменяется все большим осознанием их способности функционировать в составе многоклеточных сообществ. Известно, что грибы *C. albicans* являются главными грибковыми агентами, образующими биопленки. Грибы *C. albicans* образуют биопленки на поверхности медицинских приборов, искусственных протезов, а также эпителиальных клеток восприимчивого организма. Способность грибов *Candida spp.* образовывать биопленки клинически значима, поскольку связь клеток гриба с биопленкой значительно повышает их устойчивость к традиционным противогрибковым препаратам. Внутри биопленки клетки защищены от повреждения факторами иммунной защиты, антибиотиками и антисептиками. При этом выживают субпопуляции микроорганизмов с наиболее резистентным фенотипом, формирующимся в результате длительного воздействия повреждающих факторов.

В связи с этим целью нашей работы явилось тестирование способности к биопленкообразованию клинических штаммов: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* на опытных образцах из акрила и нейлона, используемых в стоматологии для изготовления зубных протезов.

Объектами исследования служили клинические штаммы *Candida albicans* № 2105, *Candida tropicalis* №2150, *Candida krusei* №2084, выделенные от пациентов, находящихся на амбулаторном лечении, с клиническими признаками поверхностной кандидозной инфекции ротовой полости (хронический кандидозный глоссит, гиперпластическая форма) при обследовании в клинко-диагностическом центре Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии.

Культуры грибов выращивали на стандартной среде Сабуро при температуре 300С в течение 48 часов.

Идентификацию грибов проводили микроскопическими и биохимическими методами, проводили тест на образование ростковых трубок. В работе использовались селективные хромогенные среды «CandiSelect 4» (Bio-Rad) и коммерческие тест-системы, основанные на исследовании ауксанограммы: «Auxacolor 2» (Bio-Rad).

Определение адгезивных свойств выделенных штаммов проводилось на ранее разработанной авторами модели адгезии клеток гриба на нитроцеллюлозную пленку с иммобилизованным гемоглобином. Полученную пленку площадью 7 см² инкубировали при температуре 300С с 3 мл суспензии клеток гриба в 0,1М фосфатном буфере в течение двух часов. Определение уровня адгезии проводили по разнице начальной и конечной оптической плотности суспензии клеток, а также прямым подсчетом клеток в суспензии с помощью микроскопа Микмед-6 при увеличении 10x20, подсчитывали не менее 10 полей зрения.

Формирование биоплёнок грибов проводили по методу Ramage et al. (2001). Культуру грибов засеивали в жидкую среду Сабуро и инкубировали в орбитальном шейкере (180 об/мин.) при 300С в течение 24 часов. Затем культуру промывали два раза стерильным фосфатным буфером и ресуспендировали в жидкой среде Сабуро с конечной плотностью $1,0 \times 10^6$ клеток/мл. Суспензию клеток в количестве 100 мкл вносили в 96-луночные плоскодонные полистироловые микропанели и инкубировали в течение 48 часов при 370С. После образования биоплёнки планшеты промывали три раза стерильным фосфатным буфером. Степень или количество формирования биоплёнок оценивали колориметрическим способом. В лунки со сформированными биопленками добавляли 125 мкл водного раствора 1% кристаллического фиолетового и инкубировали 20 мин при 370С. После удаления избытка красителя и промывки лунок добавляли 95% этанол в количестве 125 мкл, оптическую плотность регистрировали на ридере с вертикальным лучом света с использованием светофильтра 620 нм.

Исследование биоплёнокообразования штаммами грибов на тестируемых искусственных материалах проводили следующим способом. Суспензию клеток в количестве 1 мл вносили в 24-луночные плоскодонные планшеты. Затем в лунки помещали кубики материала (нейлон и акрил) размером 3х3 мм и инкубировали в течение 2-4 суток при 370С. После образования биоплёнки планшеты и кубики материалов промывали три раза стерильным фосфатным буфером. Степень или количество формирования биоплёнок оценивали визуально с помощью микроскопа при увеличении 10х20, подсчитывали не менее 10 полей зрения.

Способность грибов рода *Candida* к адгезии - это не только один из основных вирулентных факторов, определяющих патогенность гриба, являющийся первоначальным этапом развития инфекции, но и начальная стадия в цикле формирования биоплёнки. В связи с этим, первым этапом исследования стало изучение адгезивной активности штаммов.

В ходе исследования выявлено, что наибольший процент адгезии отмечался у штамма *C. albicans* (54%), в то время как штаммы *C. tropicalis* и *C. krusei* существенно (в 2-4 раза) уступали ему в адгезии (уровень адгезии составил 20% и 11,2%, соответственно).

Несмотря на то, что адгезия является начальной стадией в цикле формирования биопленки, эта фиксация на первом этапе обратима и не всегда приводит к образованию биоплёнки. А вот переход клеток грибов от планктонного существования к биоплёночному предположительно инициируется сигналами, поступающими из окружающей среды, и здесь, возможно, играет важную роль длительная иммуносупрессия, соматическая патология, нерациональное применение антимикробных и гормональных препаратов, различные виды имплантов и протезов [9].

В связи с этим, следующей задачей явилась оценка степени формирования биоплёнок данными клиническими штаммами *in vitro* на полистироловых планшетах. Во время исследования установлено, что все штаммы грибов формируют биоплёнку. Однако замечено, что для штамма *C. krusei* менее характерно плёнкообразование, по сравнению со штаммами *C. tropicalis* и *C. albicans* (средние значения плёнкообразования составили 0,041; 0,088 и 0,147 соответственно). В то же время, штаммы *C. krusei* и *C. albicans* в ходе инкубации отличались высокой скоростью роста планктонной культуры.

В ходе дальнейших исследований нами проведена оценка степени плёнкообразования, видами грибов, на поверхности искусственных материалов: акриле и нейлоне. Выявлено, что на поверхности акрила присутствует большое количество адгезированных одиночных клеток грибов, в 3-4 раза превышающие количество клеток на поверхности нейлона. Также, на поверхности акрила клетки грибов активно формировали псевдомицелий и образовывали конгломераты, за счёт интенсивного деления происходящего в порах материала. Кроме того, было отмечено, что на поверхности акрила все виды грибов образовывали биопленки, хотя и количественно меньшего размера и неплотной структуры, быстро распадающейся под воздействием различных факторов, по сравнению с биопленками сформированными на нейлоне. Однако, следует отметить, что на поверхности нейлона активно формировали биоплёнку в основном грибы *C. albicans* производящие количественно большую и структурно более сложную биоплёнку, чем другие *Candida*.

Таким образом, проведенные исследования показали наличие прямой корреляции между адгезивной активностью видов грибов и их способностью к плёнкообразованию. Грибы *C. albicans* обладают выраженными вирулентными свойствами.

Тестирование материалов, широко применяемых в стоматологической практике, выявил ряд особенностей, предположительно, связанных с особенностями материалов. Так, акрил отличается пористостью, что делает возможным скапливание грибов в порах, на изготовленных из него протезов, а это, в свою очередь, может стать причиной развития воспалительных процессов тканей протезного ложа. Нейлон, несмотря на то, что лишен этого недостатка, также, может являться поверхностью, на которой могут образовывать биопленки виды грибов, обладающие патогенными свойствами. Поэтому при выборе материала для изготовления ортопедической конструкции необходимо учитывать особенности колонизации поверхностей материалов грибами рода *Candida*. А это предполагает необходимость более полного изучения свойств самих штаммов.

ПРИЧИНЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ГОСПИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ПЕДИАТРИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ

Мамлеев Р.Н.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия
ГАУЗ «ДРКБ» МЗ РТ, г.Казань, Россия

Агрессивная политика антибиотикотерапии, укоренившаяся в российских стационарах, означает не только потенциальный вред, наносимый пациентам в виде нежелательных лекарственных реакций, и экономический ущерб, наносимый здравоохранению в целом. Самый значимый урон от нерационального применения антибиотиков состоит в селективном давлении, которое оказывается на госпитальную микрофлору. Наличие у микроорганизмов множественных механизмов антибиотикорезистентности, как конститутивно-обусловленных, так и индуцибельных, приводит к прогрессивному росту терапевтических неудач, связанных с лечением нозокомиальных инфекций. Отсутствие качественно новых антибиотиков на фоне нерационального применения уже имеющихся препаратов широкого и ультраширокого спектра действия привело к серьезному кризису современной противоинойфекционной терапии. Печально, что мы знаем сценарии развития этой проблемы, но не делаем ни выводов, ни конкретных шагов для выхода из этого кризиса.

Наиболее «слабым звеном» в лечении госпитальных инфекций является рост антибиотикорезистентности у Gr-отрицательных бактерий. Самым частым патогеном в хирургических и реанимационных отделениях педиатрических стационаров остается *Klebsiella pneumoniae*, известная как палочка Фридлендера. Клебсиелла вырабатывает множественные β-лактамазы, но наибольшей проблемой стала выработка β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Причина этой проблемы очевидна: неоправданно широкое применение цефтриаксона. Этот препарат, имеющий привлекательные фармакокинетические характеристики (однократное применение, двойной путь элиминации), стал чрезвычайно популярен как в стационарах, так и в амбулаторной практике, но его частое использование при вирусных инфекциях, назначение в тех ситуациях, когда показаны пенициллины, а также неоправданная пролонгация курсов цефтриаксона привели к тому, что он стал «тройным конём» антибактериальной терапии, так как, индуцируя у клебсиеллы выработку БЛРС, он сделал неэффективными цефалоспорины как класс антибиотиков – от 1-го до 4-го поколения. Препаратами выбора при БЛРС«+»-инфекции остаются ингибиторзащищенный цефалоспорин (цефоперазон/сульбактам) и карбапенемы (прежде всего – неантисинегнойный эртапенем). Однако, неблагоприятным трендом становится карбапенем-устойчивая *Klebsiella pneumoniae* – «виновник» многих летальных исходов в ОРИТ, и причина этой проблемы также очевидна –

неоправданно широкое назначение меропенема, из препарата «глубокого резерва» превратившегося в препарат для рутинного лечения нетяжелых инфекций.

Драматичную «нотку» в проблему успешности терапии госпитальных инфекций вносит синегнойная палочка, неуклонно становящаяся полирезистентной и даже панрезистентной. *Pseudomonas aeruginosa*, устойчивая к таким традиционным антисинегнойным препаратам, как пиперациллин, цефтазидим, амикацин, цiproфлоксацин и даже меропенем, уже перестает удивлять врачей ОРИТ, становясь рутинным микробом-«убийцей» пациентов, длительно находящихся на ИВЛ. Проблема стала настолько острой, что мы стали свидетелями «ренессанса» полимиксинов, от которых еще в 90-х годах прошлого столетия отказались из-за их токсичности. Отсутствие отечественного колистиметата для системной терапии синегнойной инфекции подталкивает врачей к таким непопулярным решениям, как внутривенное назначение ингаляционного колистина.

Acinetobacter baumannii - сапрофит, распространенный повсеместно, постепенно становится причиной многих фатальных оппортунистических инфекций. В этом году ВОЗ причислила ацинетобактерии к наиболее опасным бактериям в связи с их антибиотикорезистентностью. Оправданность такой тревоги можно продемонстрировать данными нашей клиники: применение колистиметата спасло жизни многих наших пациентов, особенно – при высевах у них микрофлоры, продуцирующей металло-лактамазу Нью-Дели (NDM-1), однако, за один год использования колистиметата мы увидели десятикратный рост количества штаммов ацинетобактерии, устойчивых к полимиксиновым. Амикацин и сульбактам-содержащие препараты до последнего времени стойко держали «фланг обороны», связанный с ацинетобактерной инфекцией. В то же время, резко возросшее число назначений амикацина, цефоперазон/сульбактама и ампициллин/сульбактама (особенно - в неонатологии) не замедлило сказаться на росте резистентности к этим препаратам. Особенно удручает, когда новорожденный ребенок, предлеченный ампициллин/сульбактамом, поступает в наш стационар уже инфицированным сульбактам-резистентными ацинетобактериями.

Еще одним возбудителем жизнеугрожающих оппортунистических инфекций является *Stenotrophomonas maltophilia*. Типичным сценарием возникновения этой инфекции является длительная предлеченность меропенемом у иммунокомпрометированных больных, длительно находящихся в ОРИТ. Наш опыт показывает: если у ребенка первых месяцев жизни на фоне терапии меропенемом возникает повторная температурная «свечка», то еще до получения микробиологических данных с высокой степенью вероятности можно предположить *Stenotrophomonas*-инфекцию. Проблема этого возбудителя состоит еще и в том, что оба препарата, применяющиеся для борьбы с ним – ко-тримоксазол и тигециклин – являются бактериостатиками и, поскольку лечить приходится пациентов с иммунодефицитом, отсутствие эрадикации даже при длительном назначении этих препаратов приводит к сохраняющейся персистенции возбудителя, нередко становящегося вторично-устойчивым к этим антибактериальным средствам. При отсутствии должного противoinфекционного контроля этот пациент становится источником заражения других детей, находящихся в палате, таких же маленьких и иммунодефицитных.

Упомянутый выше тигециклин – относительно новый участник драматических событий, разворачивающихся в хирургических ОРИТ. Препарат широкого спектра, перекрывающий многих возбудителей оппортунистических инфекций, спасший жизнь десяткам нашим пациентам, до последнего времени официально запрещен для применения у детей, что требует юридического оформления «off-label»-терапии. Значимым «изъяном» препарата является отсутствие у него антисинегнойной активности: так пациент, поправляющийся от *Stenotrophomonas*-инфекции, но остающийся по показаниям на ИВЛ, нередко «вваливается» в вентилятор-ассоциированную пневмонию, вызванную палочкой сине-зеленого гноя.

В заключение следует подчеркнуть, что проблема антибиотикорезистентности в российских стационарах – проблема мультидисциплинарная, приближающаяся по значимости к угрозе национальной безопасности страны, и должна решаться на многих уровнях, постоянно и неуклонно, а не однодневными образовательными семинарами по антибиотикотерапии. Как никогда актуальны слова великого Пирогова, восклицавшего: «*Можно ли ожидать истинного*

прогресса, пока врачи и правительства не выступят на новый путь и не примутся общими силами уничтожить источники госпитальных миазм?».

ОЦЕНКА ХАРАКТЕРА МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ БИОПТАТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ И ПОРЦИЙ ЖЕЛЧИ У ДЕТЕЙ С СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ И ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМ

Морозова Л.Г.¹, Файзуллина Р.А.², Казакова М.А.²

¹КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

² ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

В связи с возросшей частотой встречаемости сочетанной патологии органов верхнего отдела пищеварительного тракта и билиарной системы среди детей и подростков, а также не всегда результативным проведенным медикаментозным лечением остается актуальным изучение причин способствующих данной патологии.

Цель работы: изучение микробного характера слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и порций желчи у детей с сочетанной патологией органов верхнего отдела пищеварительного тракта и билиарной системы.

Материал и методы исследования: служили 69 биоптатов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и 106 образцов желчи отобранные при дуоденальном зондировании в асептических условиях с последующим микроскопическим и бактериологическим исследованиями. Все пациенты были разделены на три группы: 1- пациенты с изолированными формами гастродуоденита; 2 - пациенты с диагнозом хронический гастродуоденит в сочетании с дисфункциональными нарушениями желчного пузыря; 3 - с диагнозом хронический гастродуоденит в сочетании с холецистохолангитом.

В работе для индикации и идентификации аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов биоптатов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СО ДПК) и в желчи проводили посев на 5% кровяной агар (КА), среды Эндо, Плоскирева и желчно-щелочной агар (ЖЩА), с последующей биохимической идентификацией.

Верификацию *H. pylori* проводили с помощью микроскопии мазков-отпечатков, окрашенных по Граму и фуксином Пфайфера, постановки уреазного теста и выделения культур бактерий. Посев проводили на кровяной агар (КА), кровяной агар с амфотерицином В (КАА), и эритрит-кровяной агар с амфотерицином В (ЭКАА). Морфологическая идентификация *H. pylori* оценивалась, учитывая характерный вид колоний, изучение морфологии бактерий в мазках из колоний, окрашенных по Граму или фуксином проводили. С помощью оксидазной, каталазной и уреазной активностей определяли биохимическую идентификацию *H. pylori*.

Молекулярно-генетический метод (ПЦР) применялся для обнаружения гена *ureC H. pylori* в биоптатах и трех порциях желчи. Обнаружение гена *ureC H. pylori* проводили методом, предложенным НПФ «Литех». Амплификацию специфических фрагментов ДНК определяли наборами реагентов «Хеликопол» НПФ «Литех» (Россия).

Результаты:

При бактериологическом исследовании образцов желчи только у пациентов 3 группы были обнаружены микроорганизмы. В двух пробах базальной желчи (порция А) и одном образце пузырной порции желчи (порция В) обнаружены аэробные и факультативно анаэробные бактерии, а также грибы рода *Candida*. В тоже время рост микроорганизмов не выявлен в протоковой желчи (порция С).

В нашем исследовании мы достоверно чаще выявляли высокие показатели обсемененности *H. pylori* у пациентов третьей группы, по сравнению с пациентами второй группы. В частности, при посевах на ЭКАА она составила, в среднем, $9,17 \pm 0,17 \times 10^4$ КОЕ/мл, на КАА — $1,26 \pm 0,19 \times 10^4$

КОЕ/мл. При ПЦР были выявлены положительные результаты присутствия гена *ureC H. pylori* в образцах желчи у 29 (28%) пациентов.

При бактериологическом исследовании биоптатов СО ДПК, показавшем, что во всех восьми образцах присутствуют аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы. В частности, у 6 пациентов 1 группы, одного из 2 группы и одного из 3 группы. Частота выделения *H. pylori* с 69 биоптатов СО ДПК выявила присутствие данного микроорганизма только в 28 образцах (40%).

Анализ уровней обсемененности показал достаточно высокую степень колонизации бактериями эпителия СО ДПК. При посевах на ЭККА средний уровень обсемененности составил в среднем $3,015 \pm 0,20 \times 10^5$ КОЕ/г, при посевах на КАА — $2,14 \pm 0,18 \times 10^4$ КОЕ/г ($p < 0,05$) с одинаковой распространенностью в обследованных группах. Исследование биоптатов СО ДПК на наличие ДНК *H. Pylori* показало присутствие гена *ure C* у 28 обследуемых, что составило 40 % от общего количества обследуемых.

Вывод: Исследованием установлено, что при органических холепатиях микст-инфекция в сочетании с *H. pylori*-инфекцией более распространена. Установлена бактериальная обсемененность желчи *Escherchia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Candida albicans* и *Helicobacter pylori* у больных имеющих органические поражения билиарной системы (хронический холецистохолангит). Во всех изученных образцах доминировали *Escherchia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Enterococcus faecalis*

АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *CANDIDA ALBICANS* К ФЛУКОНАЗОЛУ

Новикова В.В., Зубов П.В.

ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, г. Пермь, Россия

Вульвовагинальный кандидоз (ВВК) – одно из самых распространенных инфекционных заболеваний женщин репродуктивного возраста. Типичной чертой этой патологии является склонность к рецидивам: согласно [3] у 40-50% женщин возникают повторные эпизоды, у 5% развивается хронический рецидивирующий ВВК. Развитию данного заболевания способствует различная фоновая патология: иммуносупрессия различной этиологии, дисбиотическое состояние слизистых оболочек, экзогенные вмешательства.

Ведущим этиологическим фактором ВВК неизменно является *Candida albicans*. Среди множества противогрибковых средств препаратом выбора зачастую остается флуконазол. Данные по эффективности этого препарата, полученные разными исследователями, имеют существенные отличия. Так на основании анализа опубликованных данных международных и национальных проектов, изучавших формирование резистентности *Candida, spp.* к азолам, проведенных в последние десятилетия, авторами [1] сделан вывод об обоснованном использовании флуконазола для лечения как острого ВВК, так и его рецидивов. Однако по данным некоторых зарубежных исследователей [5] только у 8 пациенток из 25, включенных в исследование, выделены штаммы *C. albicans*, МПК флуконазола в отношении которых составила 2 мкг/мл, что в соответствии с критериями EUCAST свидетельствует о чувствительности штамма к этому препарату. В отношении остальных штаммов МПК флуконазола составила 4-128 мкг/мл.

Цель исследования: Изучить чувствительность клинических изолятов *C. albicans* (биосубстрат - отделяемое влагалища) к флуконазолу методом микроразведений, сопоставить полученные результаты с данными диско-диффузионного метода.

Материалы и методы: Исследованы 45 штаммов *C. albicans*, полученных из отделяемого влагалища, устойчивых к флуконазолу. Для первичной оценки чувствительности штаммов был использован диско-диффузионный метод. Посевы осуществляли на агар Сабуро. Использовали

диски производства компании ЗАО «НИЦФ» ДИ-ПЛС-50-01, содержащие 40 мкг флуконазола. Инокулированные чашки с дисками инкубировали при температуре $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 40-48 ч. Интерпретацию результатов осуществляли в соответствии с инструкций производителя. Резистентные штаммы были подвергнуты углубленному изучению их чувствительности к флуконазолу.

Исследование проводили микрометодом двукратных серийных разведений в жидкой среде (в 96-луночных планшетах), рекомендованным [2, 4], чувствительность каждого из штаммов определяли в трех повторностях. Концентрация микробных клеток в опыте составила $2-5 \times 10^4$ КОЕ/мл. В качестве положительного контроля использовали питательную среду без противогрибкового препарата с внесенной исследуемой культурой, качество среды контролировали с использованием референтных штаммов. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду.

Планшеты трех повторностей инкубировали в термостате при температуре $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Оценку роста культур проводили визуально на 20 – 24 час и 44-48 час инкубирования. В качестве значения МПК принимали концентрацию препарата в последней прозрачной лунке серии разведения. Полученные результаты обрабатывали с использованием стандартных статистических методов, усредняя данные, полученные в трех повторностях.

Результаты и обсуждение: Диапазон МПК в отношении исследованных штаммов колебался от 0,06 до 32 мкг/мл, распределение штаммов *C. albicans* в зависимости от МПК препаратов флуконазола выглядит следующим образом: МПК 0,06 мкг/мл – 1; 0,25 мкг/мл – 1; 0,5 мкг/мл – 11; 1,0 мкг/мл – 12; 2,0 мкг/мл – 3; 4,0 мкг/мл – 7; 8,0 мкг/мл – 5; 16,0 мкг/мл – 2; 32,0 мкг/мл – 3.

В соответствии с руководством EUCAST, для признания штамма *C. albicans* чувствительным к флуконазолу, его МПК не должна превышать 2 мкг/мл. Таким образом, чувствительными к флуконазолу оказалось 62,5% исследованных штаммов. МПК₅₀ составила 1,0 мкг/мл, МПК₉₀ – 8,0 мкг/мл

Выводы: Выявлена тенденция к снижению чувствительности клинических изолятов *C. albicans*, выделенных при кандидозном вульвовагините, к флуконазолу. Подтверждена необходимость сопоставления данных диско-диффузионного метода с референтными методиками для получения достоверных результатов, необходимых для клинической практики.

ЭФФЕКТ ПРОИЗВОДНОГО 2(5H)-ФУРАНОНА В ОТНОШЕНИИ *BACILLUS CEREUS*

Павлова А.С., Шарафутдинов И.С., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р.

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

Инфекции, вызванные грамположительными бактериями, представляют собой серьезную проблему для здоровья, а приобретение штаммами резистентности к антибиотикам вызывает необходимость в поиске новых антимикробных препаратов. *B. cereus* – широко известный микроорганизм, встречающийся во всех эконисах, и вызывающий пищевые отравления, которые проявляются в виде диареи или рвоты. Также, *B. cereus* может вызывать раневые инфекции, бактериемию, септицемию и пневмонию, в основном у людей с ослабленным иммунитетом. Резистентность *B. cereus* обычно ассоциирована с образованием бета-лактамаз, кроме того некоторые изоляты, являются толерантными к хлорамфениколу и тетрациклину. Мультирезистентность может осложнить выбор стандартного лечения, поэтому такие антибиотики, как ванкомицин, клиндамицин, ципрофлоксацин или гентамицин все еще используются для лечения инфекций вызванных *Bacillus*. Способность *B. cereus* образовывать прочные биопленки как на естественных так и на искусственных поверхностях значительно повышает резистентность *B. cereus*, тем самым снижая восприимчивость к различным внешним факторам стресса. Тривиальное лечение и дезинфекция могут привести к неэффективному

контролю образования биопленки и более того – к распространению резистентности. Использование антибиотиков с агентами, ингибирующими образование бактериальных биопленок предстает многообещающей стратегией, и в этом свете фураноны являются весьма интересными кандидатами. Известно, что производные фуранона эффективно ингибируют образование биопленки, влияя на чувство кворума у таких грамотрицательных бактерий, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* а также грамположительных бактерий *Staphylococcus epidermidis* и *S. aureus*. В этой работе мы провели анализ производного 2(5H)-фуранона, который эффективно ингибирует рост и образование биопленки *B. cereus*.

Материалы и методы. Исследование проводилось на грамположительных бактериях: чувствительный к метициллину *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* 168, *Bacillus cereus* и грамотрицательных бактериях: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*. Штаммы бактерий хранили в 10% глицерине при -80°C , и перед использованием высевали на МН-агар (Sigma) и выращивали в течение ночи при 35°C . Свежие колонии разводили в жидкой МН, измеряли оптическую плотность (эквивалент 108 клеток / мл) в 0,9% растворе NaCl, который использовался в качестве рабочей суспензии.

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) Ф123 определяли методом микротитрования в 96-луночных планшетах (Eppendorf) в соответствии с правилами EUCAST для тестирования антимикробной активности. Концентрации Ф123 варьировались от 0,25 до 256 мкг/мл. Для растворимости фуранона при высоких концентрациях в среду добавляли плюороновую кислоту Ф-127 (Sigma Aldrich) до конечной концентрации 0,1%. Минимальную ингибирующую концентрацию определяли как самую низкую концентрацию фуранона, при которой не наблюдалось видимого бактериального роста через 16-20 часов инкубации.

Чтобы определить минимальную бактерицидную концентрацию, культуральную жидкость из лунок без видимого роста разводили в тысячу раз в свежей МН в новых культуральных планшетах и инкубировали в течение 24 ч при 35°C . За МБК принималась концентрация Ф123, при которой не наблюдалось жизнеспособных планктонных клеток.

Влияние Ф123 на биопленку *B. Cereus*. Для определения активности Ф123 в отношении биопленки применялось окрашивание кристаллическим фиолетовым. Бактериальную культуру (5×10^5 клеток/мл) в среде МН высевали в 96-луночные планшеты (Eppendorf) для культивирования. Проводили серийное разведение Ф123 до конечных концентраций от 0,25 мкг/мл до 256 мкг/мл. Клетки выращивали в течение 24 ч при 35°C без качания. Для окрашивания остаточной биопленки кристаллическим фиолетовым, культуральную жидкость удаляли через 24 часа инкубации, затем в каждую лунку добавляли 0,2 мл 0,5% раствора кристаллического фиолетового (Sigma) в 96% этаноле с последующей 20-минутной инкубацией. Затем раствор кристаллического фиолетового удаляли и промывали планшет водой. После 30-минутной сушки на воздухе добавляли 0,2 мл 96% этанола для растворения связанного кристаллического фиолетового, поглощение измеряли при 550 нм с помощью микропланшетного считывателя Infinite 200 Pro (Tecan). В качестве контроля использовали бесклеточные лунки, инкубированные с чистой средой, подвергнутой всем манипуляциям окрашивания.

Для определения минимальной концентрации Ф123 убивающей биопленку клетки выращивали в 96-луночных культуральных планшетах (Эппендорф) в течение 24 ч до образования зрелой биопленки. Затем Ф123 вносили в лунки в концентрациях от 0,25 мкг/мл до 256 мкг/мл с последующей культивацией при 35°C . Через 24 часа подсчитывали КОЕ методом Drop Plate.

Определение времени гибели клеток *B. cereus* проводили путем подсчета КОЕ бактерий во время воздействия Ф123. Культуру бактерий, доведенную до 10^6 клеток/мл в среде МН, высевали в 96-луночные планшеты для культивирования (Eppendorf) без и с Ф123 в концентрациях $0,25 \times \text{МИК}$, $1 \times \text{МИК}$ и $4 \times \text{МИК}$. Бактериальную суспензию инкубировали при 35°C в статических условиях, и для определения количества жизнеспособных клеток образцы брали на 0, 2, 4, 6, 8, 10 и 24 ч после воздействия фуранона. Количество жизнеспособных бактерий определяли количественно с использованием метода Drop plate, как описано выше.

Цитотоксичность Ф123 определяли методом анализа пролиферации клеток CellTiter 96® (Promega) с использованием клеток MCF-7. Клетки культивировали в модифицированной среде DMEM - Dulbecco's Modified Eagle (Sigma Aldrich), дополненной 10% FBS, 2 mM L-глутамина, 100

мг/л пенициллина и 100 мг/л стрептомицина. Клетки высевали в 96-луночные планшеты с плотностью 3000 клеток на лунку и оставляли на ночь. Клетки культивировали при 37°C и 5% CO₂ в присутствии Ф123 при различных концентрациях от 1,25 до 160 мг/л. Через 24 ч культивирования клетки подвергали МТС-анализу на основе клеточного восстановления МТС (3-(4,5-диметил-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолиум) с помощью митохондриальной дегидроксигеназы с использованием феназинметосульфата (PMS) в качестве реагента для связывания электронов. Добавляли 100 мкл ПМС раствора в 1 мл МТС, непосредственно перед добавлением в культуральную жидкость, содержащую клетки. Аккуратно перемешивали для полного смешивания двух растворов. 10 мкл объединенного раствора МТС и ПМС добавляли в каждую лунку 96-луночного аналитического планшета, содержащего 50 мкл клеток в культуральной среде. Инкубировали в течение 1-4 часов при 37°C в термостате с содержанием 5% CO₂ до образования коричневой окраски в контрольных лунках. Реакцию останавливали внесением 25 мкл 10 % SDS. Измеряли оптическую плотность помощью микропланшетного считывателя Tecan Infinite 200 Pro при длине волны 550 нм. Концентрация, необходимая для ингибирования активности клеточной дегидроксигеназы на 50% (значение СС₅₀), рассчитывалась в соответствии с рекомендациями производителя.

Результаты и обсуждения. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) оказалась равной 8 мкг/мл для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* и *B. cereus*, тогда как для *B. subtilis* МИК был равен 16 мкг/мл. Все изучаемые грамотрицательные бактерии, такие как *E. coli*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, не были восприимчивы к соединению. Интересно отметить, что минимальная бактерицидная концентрация (МБК) была обнаружена только для бактерий *B. cereus* и была равна ее величине МИК. Напротив, *B. subtilis*, ближайший родственник *B. cereus* не проявлял бактерицидного эффекта и был толерантен к Ф123 даже при концентрации 128 мкг/мл, а также во всех других тестируемых организмах. Минимальные ингибирующие концентрации биопленки (МБИК) были идентифицированы путем окрашивания кристаллическим фиолетовым остаточных биопленок, для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* и *B. subtilis* МБИК соответствуют их значениям МИК. Только для *M. luteus* наблюдалось более высокое отношение МБИК/МИК, но это не имеет существенного значения в перспективе. Потенциал ингибирования биопленки в первую очередь связан с бактериостатическими способностями Ф123 и его способ действия скорее всего не связан с системой чувства кворума бактерий. Значительная способность влиять на клетки биопленки была обнаружена только для *Bacillus*. Ф123 уменьшил количество КОЕ *B. cereus* на 2 порядка в концентрации 64 мкг/мл, тогда как для *B. subtilis* концентрация была немного выше, сохраняя тенденцию специфического воздействия на клетки *B. cereus*.

Определение времени гибели клеток *B. Cereus*. Мы сравнили кинетические кривые гибели клеток грамположительных бактерий *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *B. cereus* и грамотрицательной бактерии *E. coli* в качестве контроля. Ф123 показал бактериостатические свойства при концентрации 4 × МИК против *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* и *B. subtilis*. Уникальным является то, что Ф123 проявил избирательное действие по отношению к клеткам *B. cereus*, убив все бактерии в течение 8 часов. Будучи таким бактерицидным соединением, действующим на *B. cereus*, Ф123 может найти свое применение в соответствующих областях, где необходимо предотвращать или уничтожать *B. cereus*-специфические загрязнения, например, в пищевой промышленности или в глазных инфекциях. При этом показатель цитотоксичности СС₅₀ для Ф123 составил 12 мкг/мл.

Выводы. Были определены минимальные ингибирующие концентрации Ф123, которые оказались равными 8 мкг/мл для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* и *B. cereus*, тогда как для *B. subtilis* МИК был равен 16 мкг/мл. Все изучаемые грамотрицательные бактерии, такие как *E. coli*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, не были восприимчивы к соединению. Было обнаружено, что Ф123 избирательно убивает бактерии *B. cereus*, а также клетки, находящиеся в составе биопленки. Более низкий эффект Ф123 наблюдался при воздействии на зрелую биопленку *B. subtilis*, тогда как на все остальные исследуемые виды бактерий фуранон не имел эффекта. Ф123 проявил избирательное бактерицидное действие по отношению к клеткам *B. cereus*, убив все бактерии в течение 8 часов. Слабой стороной соединения Ф123 является сравнительно высокая

цитотоксичность для эукариотических клеток. Тем не менее, препарат может быть найден свое применение при обработке поверхностей кожи или медицинских инструментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-14-00046.

ОБНАРУЖЕНИЕ ДНК *M.TUBERCULOSIS* В КРОВИ КАК ФАКТОР РИСКА РАСПРОСТРАНЕНИЯ ШТАММОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ У ЛИЦ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В СТАДИИ СПИД

Панов Г.В., Цветков А.И., Черняев И.А., Якушкина А.Ю.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области «Противотуберкулезный диспансер» (ГБУЗ СО «ПТД»), г. Екатеринбург, Россия

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) в 2015 году среди ВИЧ-положительных людей было выявлено 1,2 миллиона новых случаев заболевания туберкулезом (ТБ). В мире отмечается рост уровня заболеваемости туберкулезом (ТБ) с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). По данным ВОЗ: в 2015 году у 480 000 людей в мире развился ТБ с МЛУ. В 20% впервые выявленных больных ТБ были инфицированы штаммами микобактерий с МЛУ. В России первичная МЛУ составляет не менее 30%. Так же считается, что При этом у людей, живущих с ВИЧ, риск развития активной формы ТБ, в 20–30 раз выше, чем у ВИЧ-негативных, а сочетание ВИЧ-инфекции и туберкулеза с МЛУ приводит к быстрой смерти больных. Только в 2015 году от ВИЧ-ассоциированного туберкулеза в мире умерло около 0,4 миллиона человек. По оценкам ВОЗ, за период с 2000 по 2015 год благодаря применению качественной диагностики ТБ и своевременному лечению было спасено 49 миллионов человеческих жизней.

Целью нашего исследования было оценить вероятность выявления штаммов *M.tuberculosis* (МБТ) с МЛУ в случаях выявления ДНК возбудителя в крови у лиц с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе ГБУЗ СО «ПТД» (г. Екатеринбург). В исследование были включены пациенты (n= 63) с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД (CD4<350) в сочетании с впервые установленным диагнозом ТБ. Всем пациентам были проведены исследования: обнаружение ДНК микобактерий туберкулеза (МБТ) из венозной крови методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РТ), посев мокроты на питательную среду Левенштейна-Йенсена и определение спектра лекарственной чувствительности методом абсолютных концентраций. Были сформированы две группы: 1. Пациенты с выделенной ДНК МБТ из крови (n=19); 2. Пациенты с отрицательным результатом ПЦР-РТ крови (n=44).

Результаты. В результате проведенных исследований в группе 1 ДНК микобактерий были обнаружены у 19 пациентов (30.1%), из них у 18 (94.7%) человек был установлен рост культуры из мокроты, в сравнении с группой 2, где культура МБТ из мокроты была получена в 29 случаях (65.9%) RR=1.437 (CI95%: 1.134;1.823), OR=9.310. В 14 случаях из 18 (77.7%) в группе 1 культура МБТ обладала устойчивостью к одному или нескольким противотуберкулезным препаратам (ППП), в отличие от группы 2, где устойчивые штаммы встречались в 18 случаях из 29 (62.1%) RR=1.253 (CI95%: 0.860;1.826), OR=2.139. При оценке МЛУ у выделенных МБТ из мокроты была выявлена значительная разница между группами, а именно в 1 группе 12 штаммом МБТ из 18 (66.6%) обладали МЛУ, а в группе 2 штаммы с МЛУ были определены в 9 из 29 случаях (31%) RR=2.148 (CI95%: 1.140;4.047), OR=4.444.

Выводы. Обнаружение ДНК МБТ в крови у лиц с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД является достоверным показателем высокой вероятности наличия МЛУ у штаммов МБТ пациента. Последовательное исследование цельной венозной крови и полученной из нее плазмы повышает эффективность выявления ДНК МБТ и увеличивает диагностическую значимость данного материала. Обнаружение ДНК МБТ в крови у лиц с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД может являться важным признаком при индивидуальном прогнозе исхода заболевания.

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И КЛОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ ШТАММОВ *M. TUBERCULOSIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ВИЧ-НЕГАТИВНЫХ И ВИЧ-ПОЗИТИВНЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Панов Г.В.¹, Андреевская С.Н.², Смирнова Т.Г.², Ларионова Е.Е.², Цветков А.И.¹,
Черноусова Л.Н.²

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области
«Противотуберкулезный диспансер», г. Екатеринбург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, Россия

Проблема туберкулеза (ТБ), сочетанного с ВИЧ-инфекцией, имеет большое значение для глобального здравоохранения. По данным ЦНИИОИЗ динамика показателя распространенности коинфекции ВИЧ/ТБ в РФ характеризуется тенденцией к росту и, в среднем по стране, с 2009 года увеличилась почти в 2 раза (2009 год -10,9 на 100 000 населения, 2015 -19,7 на 100 000 населения). Свердловская область занимает лидирующее место в стране по абсолютному числу пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции (2915 чел.), что составляет приблизительно 10% от всех пациентов с коинфекцией, зарегистрированных в РФ на окончание 2015 года (28821 чел).

Несмотря на широкое распространение сочетанного заболевания ВИЧ/ТБ, штаммы *M. tuberculosis* от этой категории пациентов до сих пор остаются мало охарактеризованными. Так, до сих пор нет единого мнения о том, развивается ли ТБ у ВИЧ-инфицированных лиц вследствие реактивации из очагов ранее перенесенного туберкулеза или при недавнем заражении. Не уточнено влияние ВИЧ-инфекции на эпидемиологическую опасность пациентов, которая во многом зависит от массивности бактериовыделения и от жизнеспособности возбудителя. Также важна информация о принадлежности выделяемых *M. tuberculosis* к генотипическим группам, т.к. для некоторых генотипов описаны специфические биологические особенности, повышающие их трансмиссивность и дающие им преимущество для выживания в макроорганизме. Решение этих вопросов позволит оценить степень эпидемиологической опасности больных с коинфекцией ВИЧ/ТБ и определить тактику ведения данной категории больных.

Цель работы: сравнение жизнеспособности и генотипической структуры популяций *M. tuberculosis*, выделяемых ВИЧ-позитивными и ВИЧ-негативными больными ТБ.

Материалы и методы. Объект исследования - 331 штамм *M. tuberculosis*, выделенный от впервые выявленных ранее не леченных больных туберкулезом (n=331). В группу I включено 165 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных с сочетанной патологией ВИЧ/ТБ, в группу II - 166 штаммов от ВИЧ-негативных больных ТБ. Все пациенты проходили обследование с декабря 2012г. по ноябрь 2013г. в диспансерах ГБУЗ Свердловской области «Противотуберкулезный диспансер» г. Екатеринбурга. 165 больных туберкулезом (ТБ), сочетанным с ВИЧ в стадии СПИД (источник штаммов группы I), были направлены в ГБУЗ Свердловской области «Противотуберкулезный диспансер» для уточнения диагноза после обследования в ГБУЗ Свердловской области «Свердловский областной центр профилактики и борьбы со СПИД» г. Екатеринбурга. 166 ВИЧ-негативных больных ТБ (источник штаммов группы II) отбирались параллельно из числа пациентов, обратившихся за помощью в диспансеры ГБУЗ Свердловской области "Противотуберкулезный диспансер" г. Екатеринбурга.

Определение жизнеспособности культур *M. tuberculosis*, выделенных из диагностического материала до начала лечения. Для получения культур *M. tuberculosis* из диагностического материала использовали метод посева на плотные питательные среды (ППС) Левенштейна-Йенсена и «Новая» (Приказ № 109 МЗ РФ от 21.03.2003). Просмотр культур для определения скорости роста проводили ежедневно. Массивность роста оценивали по 3-балльной системе: (1+) - 1 - 20 КОЕ - "скудное" бактериовыделение; (2+) - 21 - 100 КОЕ - "умеренное" бактериовыделение; (3+) - > 100 КОЕ - "обильное" бактериовыделение. Жизнеспособность *M. tuberculosis* оценивалась по скорости роста и массивности бактериовыделения по общепринятой методике (Методы

математического анализа эпидемиологической ситуации по туберкулезу, 1998). Низкая жизнеспособность *M.tuberculosis* характеризовалась массивностью роста менее 20 колоний и скоростью роста более 30 суток, высокая - массивностью роста более 100 колоний и скоростью роста менее 30 суток.

Генотипирование выделенных культур проводили по методике сполиготипирования, оценивающей полиморфизм DR-локуса хромосомы *M.tuberculosis*, с применением набора реагентов для сполиготипирования (Isogen Bioscience BV, Нидерланды) в соответствии с инструкцией производителя. Результаты сполиготипирования оценивали визуально по наличию или отсутствию каждого из 43-х детектируемых уникальных участков (спейсоров). Идентификация сполиготипов, - определение международного варианта сполиготипа (SIT - Spoligotype International Type) и принадлежность к штаммовой линии, - была проведена согласно международной базе данных SITVITWEB (Institut Pasteur de la Guadeloupe). Чтобы сгруппировать штаммы согласно их филогении, был проведен анализ методом построения минимального охватывающего дерева, позволяющего определить значимые клональные комплексы (КК), включающие наиболее тесно филогенетически связанные штаммы, с привлечением интернет-ресурса www.miru-vntrplus.org. Минимальное охватывающее дерево было построено с допущением различий внутри клонального комплекса по двум спейсорам. Штаммы, не вошедшие в КК по результатам построения минимального охватывающего дерева, были отнесены к разряду синглетонов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета BioStat v5 (Analyst Soft, США). Для оценки значимых различий между группами использовали критерий хи-квадрат (χ^2) для таблиц сопряженности 2x2; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Оценка жизнеспособности *M.tuberculosis* по скорости и массивности роста культуры. После инокуляции диагностического материала, выделенного до начала противотуберкулезной терапии, было показано, что видимый рост культуры на ППС регистрировался в срок от 14 до 82 дней. В обеих группах большинство штаммов демонстрировало видимый рост в срок от 3 до 8 недели (151/165, 91,52% штаммов группы I и 156/166, 93,98% штаммов группы II). По времени появления видимого роста на среде после инокуляции диагностического материала достоверного отличия между группами не выявлено. Оценка массивности бактериовыделения больных ТБ с различным ВИЧ-статусом показала, что приблизительно у половины больных в обеих группах наблюдалось скудное бактериовыделение (82/165, 49,70% и 86/165, 51,81%, соответственно по группам), чуть реже регистрировалось обильное бактериовыделение (52/165, 31,52% и 59/166, 35,54%, соответственно по группам). У остальных больных бактериовыделение оценивалось как умеренное. Достоверных отличий между группами по массивности бактериовыделения выявлено не было.

Для оценки жизнеспособности культур были сопоставлены данные скорости и массивности роста. Показано, что в обеих группах преобладали *M.tuberculosis* со средним и высоким уровнем жизнеспособности (98/165, 59,39% - группа I и 103/166, 62,05% - группа II), достоверных отличий по этому параметру между группами получено не было.

Таким образом, при анализе роста *M.tuberculosis* при посеве диагностического материала на среду Левенштейна-Йенсена не было получено достоверных отличий между группами по скорости и массивности роста культуры, а также по оцененной на основе этих параметров жизнеспособности штаммов.

Сполиготипирование. При анализе сполиготипов, полученных для 308 штаммов *M.tuberculosis* (158 группы I и 150 группы II), было показано, что штаммы *M.tuberculosis* группы I, отличает большая степень кластеризации: в группе I было идентифицировано 28 сполиготипов, распределенных по 12 кластерам, в группе II - 40 сполиготипов, распределенных по 14 кластерам. По данным SITVITWEB исследуемая популяция содержала основные характерные для РФ штаммовые линии: Beijing, H, LAM, T, X.

Построение минимального охватывающего дерева позволило выделить семь КК. В КК1 вошли штаммы *M.tuberculosis*, в основном относящиеся к вариантам сублинии T1, в КК2 - варианты сублинии T5_RUS1, в КК3 - варианты сублинии H4-Ural, эндемичной для Уральского

региона. КК4 включал в себя штаммы групп Beijing и Beijing-like, КК 5 - варианты сублинии H1, КК6 - варианты сублинии LAM9. КК7 включал два споллигопрофиля: один орфанный, второй - SIT255, не относящийся ни к одной штаммовой линии. Важно отметить, что КК4 был филогенетически удален от других КК.

В группе I достоверно чаще, чем в группе сравнения, встречались штаммы *M.tuberculosis*, принадлежащие к КК4 (Beijing) - 118/158 (74,68%) против 93/150 (62,00%), $p<0,05$. Штаммы КК 1, напротив, достоверно чаще встречались в группе штаммов *M.tuberculosis*, выделенных от больных ТБ с отрицательным ВИЧ-статусом (5/158, 3,16% - группа I и 22/150, 14,67% - группа II, $p<0,01$). Штаммы других КК распределялись по группам с одинаковой частотой. Штаммы - синглтоны, не вошедшие в клональные комплексы, которые, с большой долей вероятности, были выделены от больных, у которых болезнь развилась в результате эндогенной реактивации, чаще встречались в группе II (6 штаммов), чем в группе I (1 штамм).

Таким образом, изучение генетического полиморфизма штаммов *M.tuberculosis*, выделенных от больных ТБ, сочетанным с ВИЧ, показало, что эта группа штаммов была более кластеризована и, следовательно, характеризовалась более высокой активностью трансмиссии, чем группа штаммов *M.tuberculosis*, выделенная от больных ТБ с отрицательным ВИЧ-статусом. Также было показано, что в состав группы I входило достоверно больше штаммов *M.tuberculosis*, относящихся к КК4 ($p<0,05$), включавшему *M.tuberculosis* линии Beijing, и достоверно меньше штаммов КК1 ($p<0,01$), включавших в основном штаммы сублинии T1.

Заключение. В результате проведенного исследования был выявлен ряд биологических особенностей, характерных для *M.tuberculosis*, выделенных от больных ТБ, сочетанным с ВИЧ. Так, было показано, что массивность бактериовыделения у больных, послуживших источником изученных штаммов *M.tuberculosis*, скорость роста и жизнеспособность выделяемых *M.tuberculosis*, не отличались по группам. Штаммы *M.tuberculosis* группы I были более кластеризованы, среди них достоверно чаще, чем в группе II, встречались *M. tuberculosis* группы Beijing, но достоверно реже встречались *M. tuberculosis*, входящие в группу штаммов, являющихся вариантом T1.

Таким образом, было показано, что *M. tuberculosis*, выделенные от больных ко-инфекцией ВИЧ/ТБ, характеризуются высокой частотой встречаемости *M. tuberculosis* генетического кластера Beijing, обладающих, согласно литературным данным, повышенной трансмиссивностью и, часто, лекарственной устойчивостью. Высокая степень кластеризации штаммов этой группы свидетельствует в пользу теории развития ТБ у ВИЧ-инфицированных лиц вследствие недавнего заражения, а не эндогенной реактивации. ВИЧ-инфицированные больные ТБ (в стадии СПИД), представляют собой эпидемически значимую группу, что диктует необходимость разработки специальных мероприятий, направленных на предупреждение распространения особо опасных штаммов *M. tuberculosis*.

МИКРОБИОЛОГИЯ ОДНА ИЗ ДИСЦИПЛИН ФОРМИРУЮЩАЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ МЫШЛЕНИЯ У СТУДЕНТОВ

Растатурина Л.Н.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

В медицинском университете к интегративным дисциплинам относятся: микробиология, эпидемиологи, токсикология, иммунология, инфекционные заболевания и другие. Все эти дисциплины являются основой для формирования профилактического мышления у студентов.

В частности, на кафедре микробиологии студенты впервые познают разнообразный мир микроорганизмов: их свойства, различия, возбудителями каких заболеваний они являются. Знакомятся с вопросами профилактики этих заболеваний.

Воспитание профилактической направленности в работе будущих врачей лечебного профиля занимает одно из ведущих мест в учебной деятельности гигиенической кафедры, в

частности, кафедры общей гигиены. Основной целью освоения гигиены является выработка у студентов осознанного понимания связи здоровья с окружающей средой, факторами и условиями жизни, трудовой деятельностью, как предпосылки их активного участия в проведении эффективных лечебных мероприятий, профилактики заболеваний, пропаганды здорового образа жизни.

Будущие специалисты лечебного профиля должны освоить основы предупредительного и текущего санитарного надзора, санитарного законодательства, обосновывать гигиенические мероприятия по охране и оздоровлению окружающей среды, изучать условия труда и отдыха, охранять здоровье детей и подростков, участвовать в разработке основ рационального питания, а также давать заключение по качеству пищевых продуктов.

Обучение на лечебном факультете включает в себя изучение коммунальной гигиены, гигиены труда, гигиены детей и подростков, гигиены питания, радиационной и военной гигиены. На основании изучения указанных дисциплин разрабатываются практические мероприятия, которые создают благоприятные условия жизни и труда человека, которые снижают заболеваемость и смертность, увеличивают продолжительность жизни, повышают работоспособность.

На кафедре общей гигиены составлена рабочая программа с учетом требований федерального государственного стандарта высшего профессионального образования по специальности «Лечебное дело». В процессе обучения студентам профессорско-преподавательский состав кафедры читает лекции по всем разделам гигиены. Особое внимание уделяется формированию профилактического мышления на практических занятиях. Причем, работа эта ведется совместно с другими кафедрами университета. В частности, с кафедрой микробиологии.

В связи с этим разрабатывается межкафедральная программа с учетом санитарно-противоэпидемического воспитания не только для медико-профилактического факультета, но и для студентов лечебного факультета. Эта программа содержит достаточное количество лекционных часов, где много времени уделяется вопросам общей и частной гигиены, знакомство студентов с основами законов РФ об охране здоровья населения и окружающей среды. На практических занятиях рассматриваются вопросы общего профиля, медицинской профилактики населения на примерах ситуационных задач. В результате чего студент может дать грамотное гигиеническое заключение и разработать профилактические мероприятия.

На кафедре общей гигиены уделяют большое внимание методам санитарно-просветительной работы с населением, в частности, разрабатываются санбюллетени, пропагандирующие здоровый образ жизни.

Таким образом, здоровый образ жизни может сформироваться только у студента обладающего гигиеническим профилактическим мышлением.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ

Рыжикова М.Н., Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Чернова Л.С., Каюмов А.Р.

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

В настоящее время все более актуальным видится моделирование и исследование полимикробных биопленок, в отличие от мономикробных, в которых не учитывается взаимодействие различных микроорганизмов. Совместное сосуществование способствует устойчивости бактерий к антибиотикам, что в конечном счете приводит к низкой эффективности многих антибиотиков, используемых в настоящее время. Производные фуранонов являются одними из кандидатов в качестве препаратов для подавления бактериальных биопленок. Синтезированное ранее производное 2(5Н)-фуранон Ф105 эффективно подавляет образование

биоленок клетками стафилококков, но не действует на грам-отрицательные бактерии. Это дает возможность моделировать полимикробную биопленку, включающую *S.aureus* и *P.aeruginosa*, где матрикс синтезируется клетками псевдомонады.

Целью работы было установить возможность выживания стафилококка за счет нахождения в биопленке псевдомонады в условиях антибиотикотерапии.

Ранее в нашей лаборатории была получена модель полимикробной биопленки, в состав которой входили клетки *S.aureus* и *P.aeruginosa*. Для Ф105 были установлены минимальные концентрации подавляющие рост (МПК) и образование биопленки (МБПК) методом микроразведений. Также мы определили повышение эффективности антибиотика против бактерий в присутствии фуранона Ф105. Клетки бактерий выращивали в среде ВМ в присутствии фуранона в течении 2 суток при температуре 37°C без качания. Затем вносили антибиотик (ванкомицин и гентамицин) до указанных концентраций и инкубировали в течение суток. После оценивали жизнеспособность клеток в культуральной жидкости и в составе биоленок методом флюоресцентной микроскопии и Drop plate анализа. Для Drop plate анализа были приготовлены серийные 6-кратные разведения жидкой бактериальной культуры из каждой пластиковой чашки в 0.9% NaCl и по 5 мкл суспензии переносили на чашки с LA. КОЕ подсчитывали из капель, содержащих 5-10 колоний.

Для *S.aureus* МПК и МБПК составили 0.5 мкг/мл и 2.5 мкг/мл соответственно. Ф105 не оказывал действия на клетки *P.aeruginosa* при концентрациях до 64 мкг/мл. В составе полимикробной биопленки, включающей *S. aureus* и *P. aeruginosa*, при концентрации фуранона Ф105 10 мкг/мл образовывалась биопленка, в составе которой все бактерии оставались жизнеспособными, что свидетельствует о то что в составе полимикробных биоленок повышается жизнеспособность бактерий.

Drop plate анализ показал, что эффективность антибиотиков в присутствии фуранона Ф105 увеличивалась в 2 и более раз. Дальнейшие исследования будут направлены на поиск причин данных взаимоотношений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №15-14-00046)

ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

Савинова А.Н.

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ, г. Казань, Россия

Бактериальный вагиноз (БВ) – инфекционное заболевание женщин, классифицируемое по решению ВОЗ как отдельная нозологическая форма.

По данным различных обследований, бактериальный вагиноз был выявлен у 20-30% женщин репродуктивного возраста.

Заболевание развивается на фоне нарушения микробного состав влагалища, за счет снижения или исчезновения лактобацилл при повышенном содержании других аэробных и анаэробных бактерий до 10⁹-10¹¹ КОЕ/см³ отделяемого влагалища. Возрастает количество гарднерелл, мобилункусов, микоплазм, бактероидов (*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides*).

Бактериальный вагиноз может развиваться при изменении состава микрофлоры кишечника. Антибиотикотерапия также приводит к появлению дисмикробиоценоза слизистой влагалища. Одним из факторов может быть снижение активности иммунной системы. Кроме того, нарушения гормонального фона при некоторых

гинекологических и эндокринологических заболеваниях вызывают изменения влагалищного эпителия.

Диагностику бактериального вагиноза проводят с применением 4 тестов.

1. Основанием для постановки клинического диагноза БВ являются гнойные, с неприятным рыбным запахом, выделения из половых путей в течение длительного времени, зуд, болезненность при половом контакте и мочеиспускании при отсутствии возбудителей ИППП.

2. Микробиологическую диагностику проводят с помощью микроскопического метода для обнаружения «ключевых» клеток во влажных неокрашенных препаратах отделяемого слизистой влагалища. «Ключевые» клетки представляют собой эпителиальные клетки, усеянные бактериями, участвующими в развитии симптомов БВ, а именно кокками, мобилинкусами и гарднереллами.

Для исключения ложноположительного результата оптимальным является микроскопическое исследование мазка, окрашенного по Граму.

3. Для подтверждения диагноза проводят аминотест для выявления диаминов – продуктов жизнедеятельности облигатных анаэробных бактерий.

Однако, данный тест может быть отрицательным при значительном количестве гарднерелл в составе влагалищной микрофлоры.

4. Важным тестом является также определение рН материала со слизистой влагалища. При БВ его значение более 4,5.

Диагноз считают подтвержденным при получении не менее 3 положительных результатов проведенных тестов.

ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ В РОССИИ

Савинова А.Н.

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ, г. Казань, Россия

Чума – острое, особо опасное инфекционное заболевание человека, животных и кровососущих насекомых, обитающих на них.

Возбудителем чумы являются бактерии *Yersinia pestis*. Грамотрицательные, неподвижные аэробные палочки, растущие при температуре 28 оС. Являются факультативными внутриклеточными паразитами, способными размножаться в мононуклеарных клетках. Факторами патогенности являются также эндотоксин, коагулаза и фибринолизин.

Болезнь встречается в разных странах мира в местах обитания диких грызунов в так называемых природных очагах чумы. Резервуаром являются более 200 видов диких грызунов: суслики, сурки, пищухи, песчанки, белки, мыши, полевки, крысы, бурундуки, степные собаки и т.д.

Хищники, поедающие грызунов, также могут быть источниками инфекции. Кошки обычно погибают от чумы, а лисы и собаки выздоравливают.

Болезнь грызунов характеризуется вспышками в весенне-летний период, вызывая массовый падеж животных (эпизоотии).

Человек инфицируется при контакте с животными, как дикими, так и домашними. Основным путем передачи возбудителя человеку является укус блохи, в результате чего развивается бубонная форма чумы, приводящая к сепсису и летальному исходу. Легочная форма чумы возникает при распространении бактерий от больного чумой воздушно-капельным путем при кашле. Возможно попадание возбудителя алиментарным путем с инфицированной пищей или водой.

Эпидемии чумы в разные столетия унесли миллионы жизней на разных континентах земного шара. В настоящее время ежегодно отмечают вспышки и спорадические случаи чумы в странах Африки, Азии и Америки. Так в 2007 году всего в мире было зарегистрировано 2418 больных (155 умерших), в 2008 году 2686 больных (136 умерших), в 2009 году 985 больных (72 умерших), в 2010 году 31 больной (1 умерший) и в 2011 году 335 больных (56 умерших). Более 90% случаев из них были отмечены в странах Африканского континента.

В период с 1959 по 1994 годы в СССР и странах СНГ было зарегистрировано 99 случаев чумы.

В Российской Федерации 11 природных очагов чумы. Согласно данным Противочумного центра Роспотребнадзора ежегодно эпизоотии происходят в 5 природных очагах чумы: Восточно-Кавказском, Центрально-Кавказском, Прикаспийском, Тувинском и Алтайском. Количество штаммов возбудителя чумы, выделенных за последние 16 лет, составило 4474 в Прикаспийском степном очаге, 2765 в Центрально-Кавказском и 399 в Тувинском очагах.

В России благодаря эпизоотолого-эпидемиологическому надзору в течение нескольких лет с 2004 года не было случаев заболевания людей.

В 2016 году на территории Кош-Агачского района Республики Алтай был зарегистрирован случай бубонной чумы у 10-летнего мальчика, заразившегося при разделке туши сурка. На Алтае и в Туве резервуаром чумных бактерий являются серые сурки и блохи, обитающие на них.

Благодаря мерам, принятым санитарно-противоэпидемической комиссией, эпидемии удалось избежать. Люди, контактировавшие с больным, были изолированы, проведена массовая вакцинация жителей в данном районе.

Основной мерой профилактики чумы является эпидемиологический надзор за эпизоотическим состоянием в природных очагах чумы.

Вероятность инфицирования людей существует из-за циркуляции чумных бактерий в природных очагах в России и в странах СНГ.

СОВРЕМЕННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

*Савицкая Т.А.,¹ Трифонов В.А.,² Хакимзянова М.В.,³ Волостнова Е.С.,³ Гайнуллин А.А.,³
Сайфуллина Г.Ш.³*

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

²КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

³ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан", Казань, Россия

Эпидемиологический надзор за природно-очаговыми инфекциями продолжает оставаться актуальным. В Республике Татарстан за последние пять лет удельный вес природно-очаговых инфекций возростал с 0,3 до 9,5%. Только за 2016 год сумма экономического ущерба от всех природно-очаговых инфекций составила 48, 3 млн. руб.

Цель работы – изучение современной эпидемиологической обстановки по геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС) на территории Республики Татарстан для совершенствования проводимых профилактических мероприятий и составления прогнозов уровня заболеваемости населения.

Материалы и методы. В работе были использованы данные статистических отчетов, эпизоотологических исследований ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан" и ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора за период 2012-2016гг, литературные источники.

За указанный период было лабораторно исследовано на инфицированность хантавирусами 2038 грызунов, отловленных в природных биотопах районов республики.

Результаты и обсуждения. Вся территория Республики Татарстан эндемична по геморрагической лихорадке с почечным синдромом. Республика расположена на Восточно-Европейской равнине на границе лесной зоны и лесостепи и подразделяется на три зоогеографические зоны – Предволжье, Предкамье и Закамье, характеризующиеся особенностями ландшафта и растительности. Из трёх представленных зон наибольшую площадь широколиственных пород деревьев, семена которых служат основной кормовой базой для мышевидных грызунов, имеет зона Закамья.

Видовой состав носителей вируса ГЛПС в ландшафтах Татарстана состоит из рыжей полёвки, малой лесной мыши, желтогорлой мыши, бурозубки, полевой мыши, и обыкновенной полёвки. Среди названных видов мышевидных грызунов на территории республики доминирует рыжая полёвка – средний индекс доминирования – 66,7%. Именно рыжая полёвка имеет наибольшее эпидемиологическое значение, являясь основным носителем вируса ГЛПС.

За период 2012-2016гг были лабораторно исследованы на инфицированность хантавирусами 2038 грызунов, из них 215 (10,5%) дали положительный результат. Инфицированность грызунов хантавирусами за последние пять лет варьирует от 4,2 до 16,8%. При чём среди инфицированных грызунов преобладала рыжая полёвка – 89%. Проведённые в 2015 и 2016гг лабораторные исследования с помощью современных методов молекулярной диагностики установили, что на территории республики циркулирует вирус *Puumala* (PUUV) из рода *Hantavirus*.

Уровень заболеваемости населения находится в прямой зависимости от численности мышевидных грызунов. В годы с высокой численностью грызунов отмечается и наиболее высокий уровень заболеваемости ГЛПС, а в отдельные годы отмечаются случаи групповых заболеваний. За последние пять лет процент попадания мелких млекопитающих в орудия лова находился в пределах от 6,6% (2013г) до 15,6% (2014г), что указывает на высокую численность мышевидных грызунов в лесных стациях.

За период 2012-2016гг в Республике Татарстан было зарегистрировано 4040 случаев ГЛПС, показатель заболеваемости варьировал от 5,3 (2013г) до 32,9 на 100 тыс. населения (2014г). Среднемноголетний показатель заболеваемости по республике как правило в 4-5 раз выше, чем по Российской Федерации. Следует отметить, что в статистические данные по заболеваемости входят лишь заболевшие с явной клиникой ГЛПС, тогда как эпидемический процесс протекает гораздо шире. За последние пять лет проводился серологический мониторинг коллективного иммунитета к возбудителю ГЛПС, было обследовано 2226 человек, не болевших ГЛПС, из 26 муниципальных районов Татарстана. Из них сероположительными были 226 или 11,9%. Полученные данные указывают на широкую циркуляцию вируса ГЛПС, наличие стёртых, лёгких форм заболевания, при которых происходит "проэпидемичивание" населения.

Динамика заболеваемости ГЛПС характеризуется периодическими подъемами каждые 3-4 года, обусловленными периодичностью массового размножения грызунов. В целом по республике прослеживается выраженная тенденция к росту заболеваемости ГЛПС. На основании многолетних данных динамика заболеваемости имеет выраженный сезонный характер.

Максимальное количество заболевших регистрируется в июле и ноябре. Подъем заболеваемости летом связан с посещением населением лесов, где находятся носители хантавирусов, или прилегающих к лесам садово-дачных кооперативов. В указанный период преобладают "лесные" и "садово-дачные" типы заражений. Увеличение числа заболевших ГЛПС поздней осенью обусловлено миграцией лесных грызунов в жилые и хозяйственные постройки с наступлением холодов. В этот период преобладает "бытовой" тип заражения.

Выводы.

1. Для населения Республики Татарстан наибольшую эпидемиологическую опасность представляют сформировавшиеся природные очаги ГЛПС, расположенные по всей территории республики.

2. Циркуляция возбудителя ГЛПС подтверждается проводимыми лабораторными исследованиями носителей и переносчиков хантавирусов, а также серологическими исследованиями.

3. В целях недопущения заражений населения ГЛПС требуется усиление эпидемиологического надзора в природных очагах болезни с проведением комплекса неспецифической профилактики заболеваний ГЛПС, в особенности в муниципальных районах высокого риска заражений.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗА ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ОТ БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ.

Садыкова Д.А., Кипенская Л.В.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

Одной из главных задач бактериологических лабораторий в детских лечебных учреждениях является постоянный микробиологический контроль за циркуляцией видового состава этиологически значимой микрофлоры семейства *Enterobacteriaceae*, включая определение антибиотикорезистентности выделяемых штаммов.

Цель исследования. Изучение роли условно-патогенной микрофлоры, относящейся к семейству *Enterobacteriaceae*, в этиологии заболеваний у детей.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на базе бактериологической лаборатории республиканской детской клинической больницы (РДКБ) г.Казань в период с января 2015г. по май 2017г. Патологическим материалом служили: мокрота, отделяемое ран, моча, кал и кровь больных детей из различных отделений больницы. Выделение и идентификация грамотрицательной микрофлоры семейства *Enterobacteriaceae* проводили общепринятыми методами, этиологическую роль выделенных условно-патогенных энтеробактерий определяли, опираясь в основном, на степень обсемененности микроорганизмами патологического материала. Полученные показатели выражали в процентах. В изучение были взяты наиболее часто выделяемые роды и виды энтеробактерий, которые подразделили на 3 группы: 1). *Klebsiella spp.*, 2). *Enterobacter spp.*, 3). другие энтеробактерии, вместе взятые.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований отображены в таблице.

Таблица. Частота обнаружения этиологически значимых энтеробактерий в различных биоптатах от больных детей (в %).

Группы микроорганизмов	Биоптаты											
	Мокрота			Отделяемое ран			Кровь			Моча		
	2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017
1. <i>Klebsiella spp.</i>	1,0	1,8	6,2	0,7	0,9	2,0	0,2	0,5	1,3	1,6	1,6	4,7
2. <i>Enterobacter spp.</i>	1,8	1,8	2,7	3,9	0,6	4,2	1,9	0,6	0,7	2,6	2,6	3,5

3.Другие энтеробактерии	1,5	2,2	1,4	7,9	2,3	1,5	0,6	0,2	0,1	15,1	13,7	17,0
----------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------	------	------

Из таблицы видно, что показатели выделения клебсиелл из года в год нарастают, как при исследовании мокроты (1,0 – 1,8 – 6,2%), так и других биоизолятов, соответственно из отделяемого ран (0,7 – 0,9 – 2%), из крови (0,2 – 0,5 – 1,3%), из мочи (1,6 – 1,6 – 4,7%).

В отношении энтеробактеров динамика нарастания показателей видна только в отношении двух лет (2015 и 2017); в мокроте (1,8-2,7%); отделяемом ран (3,9-4,2%); в моче (2,6-3,5%), в то время, как в крови показатели снижаются (1,9 - 0,7%). В 2016 г. у *Enterobacter spp.* во всех пробах биоизолятов показатели были низкими, например, в отделяемом ран – 0,6%, в крови – 0,6. Показатели других представителей семейства *Enterobacteriaceae* чаще снижались в мокроте (2,2 – 1,4%), отделяемом ран (2,3 – 1,5%), в крови (0,6 – 0,1%).

Таким образом, этиологическая роль *Klebsiella spp.* при заболеваниях дыхательных путей, воспалительных, септических и урологических заболеваниях у детей нарастала в течение 2015, 2016 и 2017 годов в 3-8 раз. Роль *Enterobacter spp.* и других энтеробактерий колеблется в различные годы при всех заболеваниях.

Возрастание роли клебсиелл, которые обычно причисляют к наиболее агрессивным условно-патогенным энтеробактериям, наблюдается также при исследовании кала у детей при ОКЗ (10 – 19%).

Настораживает снижение чувствительности выделенных энтеробактерий к применяемым в педиатрической практике антибиотикам за счет продукции ими бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Продуцентами БЛРС являлись 50% выделяемых энтеробактерий, при этом в 2017 году таких энтеробактерий стало 65%, чувствительность к карбапенемам (эртапенему-90,9%; имипенему и меропенему – 95%) остается у энтеробактерий стабильно высокой.

Выводы.

1. При патологических процессах у детей нарастает этиологическая роль энтеробактерий, особенно клебсиелл, которые относят к наиболее агрессивным условно-патогенным энтеробактериям, что по-видимому, связано с изменениями экологии окружающей среды, с дисбактериозом кишечника у детей, бесконтрольным применением антибиотиков в амбулаторных условиях.

2. Антибактериальная терапия и профилактика заболеваний относится к творческому процессу, требующему совместного участия лечащего врача, клинического фармаколога, эпидемиолога, микробиолога и руководителя лечебного учреждения. Для каждого региона страны должны быть свои антибиотикограммы для циркулирующих в регионе штаммов – возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний.

ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОВ ГИПЕРВИРУЛЕНТНОСТИ У ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКУСОВ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА.

Семенова Д.Р.¹, Николаева И.В.¹, Фиалкина С.В.², Валиуллина И.Р.³,
Шайхиева Г.С.¹, Павлова Т.Ю.¹

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

²ФГБУ "ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи" Минздрава
России, г. Москва, Россия

³ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ, г. Казань, Россия

Klebsiella pneumoniae является наиболее важным грамтрицательным возбудителем оппортунистических инфекций человека, включая инфекции мочевыводящих путей и желудочно-кишечного тракта, пневмонию, внутрибольничные септицемии. Группами риска по развитию клебсиеллезной инфекции являются пациенты с иммунодефицитными состояниями,

микрoэкологическими нарушениями и дети грудного возраста. В настоящее время особую актуальность в патологии человека приобрели гипервирулентные штаммы клебсиелл, обладающие высокой инвазивностью, способные вызывать сепсис и абсцесс печени, эндофтальмит, менингит у здоровых людей, не относящихся к группам риска. По современным представлениям генетическим маркером гипервирулентности клебсиелл является ген регулятора гипермукоидного фенотипа (*gmpA*). Для вирулентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* также характерно наличие системы поглощения железа, которое контролируется сидерофорами, в частности иерсинебактином (*igr 2*).

Цель нашего исследования: детекция генов гипервирулентности у штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у грудных детей с различными формами клебсиеллезной инфекции.

Исследование проводилось на базе Детской республиканской клинической больницы и Республиканской клинической инфекционной больницы г. Казани в 2015-2016 г.г. Проанализировано 85 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей 1 года жизни из различных локусов, находящихся на стационарном лечении по поводу ОКИ – 24 (28,3%) случая, пневмонии – 3 (3,5%), ИМП – 12 (14,1%), сепсиса – 5 (5,8%), менингита – 1 (1,1%), ОРВИ – 18 (21,4%) и неинфекционной патологии – 22 (25,8%). Среди обследованных новорождённых детей было 38 (44,7%), детей в возрасте 1-6 месяцев – 30 (35,2%), 6-12 месяцев – 17 (20,1%). 5(5,9%) штаммов *Klebsiella pneumoniae* было выделено из крови, 6 (7%) штаммов – из содержимого эндотрахеальной трубки, 19 (22,1%) штаммов – из смывов со слизистой зева, 12 (14,2%) штаммов – из мочи, 42 (49,4%) штамма – из фекалий и 1(1,1%) штамм – из ликвора. Клебсиеллезная этиология заболевания была установлена на основании положительных результатов бактериологического исследования крови, ликвора, содержимого эндотрахеальной трубки, мочи (при концентрации возбудителя $\geq 10^4$ КОЕ/мл), фекалий (при массивности обсеменения $\geq 10^5$ КОЕ/гр). Клебсиеллезная инфекция протекала в форме неонатального сепсиса у 5(5,8%), менингита – у 1(1,1%), инфекции мочевых путей – у 12(14,1%), пневмонии – у 3(3,5%), острой кишечной инфекции – у 16 (18,8%) детей. Бессимптомная колонизации верхних дыхательных путей на фоне соматической патологии диагностирована у 22 (25,8%), носительство в кишечнике – у 24(28,8%) включенных в исследование детей. Детекцию генов, кодирующих синтез гена *gmp A* и *igr-2*, проводили методом ПЦР в ФГБУ "ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи".

Результаты исследований: Ген *gmp A* обнаружен у 14 (33,3%) штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из фекалий, 3 (25%) штаммов, выделенных из мочи, 3(15,7%) штаммов, выделенных из зева. У штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови, эндотрахеальной трубки, ликвора, ген *gmp A* не обнаружен. Ген *igr- 2* обнаружен у 11(26%) фекальных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, у 5 (26%) штаммов клебсиелл, выделенных из зева, 5 штаммов (41%), выделенных из мочи. Штамм *Klebsiella pneumoniae*, выделенный из ликвора у ребенка с менингитом обладал геном *igr - 2*.

Результаты проведенных исследований показали, что грудные дети часто колонизированы гипевирулентными штаммами *Klebsiella pneumoniae*. Данные штаммы часто обнаруживаются в составе микрофлоры различных экологических ниш, в т.ч. в форме бессимптомного носительства и в большинстве случаев не ассоциируются с развитием инвазивных форм клебсиеллезной инфекции у детей грудного возраста.

РОЛЬ КОНТАМИНАЦИИ МИКРООРГАНИЗМАМИ РУК МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА В РАСПРОСТРАНЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Токарчук Е. В., Кирсанова Е. В.

Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

Гигиена рук — это неотъемлемая часть ежедневной личной гигиены и средство для снижения риска распространения инфекций. Это простая процедура, но её несоблюдение среди

медицинских работников является проблемой во всем мире. В Британии было проведено исследование, которое показало, что около 1 миллиона человеческих жизней во всем мире было бы спасено, при условии соблюдения правил гигиены рук. Известно, что одним из главных факторов распространения патогенных микроорганизмов как от медицинского персонала к пациенту, так и от пациента к медицинскому персоналу, являются руки медицинского персонала.

На данный момент путем проведения различного рода исследований выяснено, что обработка рук проводится лишь в 40,0% случаев, что связано в первую очередь с недостаточностью знаний в данной сфере, времени, определенных условий и финансового обеспечения. Первая глобальная задача ВОЗ по безопасности пациента «Чистота — залог безопасной медицинской помощи» — часть её ресурсов направлена на оптимизацию условий гигиены рук, основная цель данной программы заключается в повсеместном распространении гигиены рук. Гигиена рук является ведущим способом при борьбе с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП).

Различные исследования показали, что руки медицинского персонала в зависимости от специфики лечебного учреждения и характера заболеваний в определенном отделении контаминированы различными патогенными микроорганизмами, что может стать причиной разгара внутрибольничной инфекции (ВБИ), либо вызвать ряд осложнений у определенного пациента в зависимости от характера микроорганизма. Правильная обработка рук на данный момент все же остается одной из самых распространенных форм борьбы с ВБИ, обеспечивающая защиту пациентов и медицинского персонала.

Ряд исследований показал, что руки медицинских работников или перчатки могут быть заселены грамотрицательными бактериями, *S. aureus*, энтерококком, выполняя стерильные процедуры или прикасаясь к неповрежденным участкам кожи пациентов.

Необходимо помнить, что руки не являются ровной поверхностью и есть множество участков, которые нуждаются в более тщательной обработке, а именно подушечки пальцев, околоногтевые валики и подногтевое пространство, межпальцевые промежутки.

На коже рук обнаружены микроорганизмы трёх категорий, а именно резидентная, транзиторная и персистирующая микрофлора. Резидентная микрофлора способствует образованию антител и предотвращает заселение кожи грамотрицательной микрофлорой. Она не удаляется полностью при обычном мытье рук и обработке антисептиками. Транзиторная микрофлора представляют микроорганизмы, колонизирующие поверхностный слой кожи. Данная микрофлора сохраняется на руках около суток и может быть удалена при обычном мытье рук и обработке рук антисептиками. Персистирующая микрофлора колонизирует руки медицинского персонала патогенными микроорганизмами, такими как золотистый стафилококк, грамотрицательными бактериями и дрожжеподобными грибами.

После контакта с пациентом микроорганизмы могут выживать на руках от нескольких минут до нескольких часов. Если гигиенические процедуры не были произведены, то руки медицинского работника при дальнейшем контакте с пациентом контаминируются еще больше, а при контакте с другим пациентов заселяются и на его поверхности тела.

В Швейцарии был проведен опрос, в отношении гигиены рук, который продемонстрировал: 84% опрошенного медицинского персонала осознают последствия от несоблюдения гигиены рук; 66% считают, что гигиена рук предназначена для того, чтобы обезопасить себя и окружающих; 75% хотят измениться к лучшему; 78% признаются, что не всегда соблюдают гигиену рук и делают это осознанно; 64% указывают на сложности при применении теоретических знаний на практике.

Недостаточная деконтаминация рук ведет к размножению микроорганизмов и способствует их расселению, что несет за собой неблагоприятные последствия и является угрозой для здоровья окружающих. В настоящее время внедряются мультимедийные стратегии, которые, как показывают различные исследования, позволят снизить процент ИСМП.

В настоящее время существует множество способов обработки рук, основные из них представлены ниже.

Гигиеническое мытье рук – это мытье рук при помощи проточной воды и мыла, либо другого антисептического средства. При данной обработке удаляется большая часть транзитной микрофлоры, однако некоторый процент поверхности рук все же остается контаминированным.

Также применяется обработка рук антисептиком без применения воды и других средств, данный метод является более эффективным при соблюдении правил нанесения антисептика. Однако доказано, что применение лишь антисептика без предварительной гигиенической обработки рук не обеспечивает полной деконтаминации, в связи с чем предпочтительнее применять гигиеническую обработку рук с последующим применением антисептика.

Хирургическая дезинфекция рук – это обработка рук перед оперативным вмешательством, при этом полностью удаляется транзитная и в разы уменьшается количество резидентной микрофлоры. Применяется обработка хлоргексидином, Первомуром и т.д. Данный вид обработки негативно влияет на кожу рук, особенно при частом применении. В настоящее время применяются комбинации антисептических и антимикробных средств, которые являются менее опасными для кожи и не требуют параллельной травматизации кожи специальными щетками.

Необходимо помнить о том, что гигиена рук займет считанные минуты, но может спасти тысячи жизней

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА И ПОДВИЖНОСТЬ *MORGANELLA MORGANII*

Тошева З.С., Марданова А.М.

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

За последние десятилетия значительно повысилась этиологическая роль условно-патогенных микроорганизмов в инфекционной патологии человека. Лечение оппортунистических инфекций представляет собой актуальную проблему современного здравоохранения. В связи с этим актуальным является изучение условно-патогенных микроорганизмов, их физиологии и различных молекулярно-биологических механизмов патогенности, а также разработка новых подходов и поиск специфических мишеней для терапии.

К наиболее распространенным оппортунистическим инфекциям относятся инфекции мочевыводящих путей (ИМП). Чаще всего причиной ИМП являются бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, такие как *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Morganella morganii* и др. [Kim *et al.*, 2003; O'Hara *et al.*, 2000]. В случае катетеризированных пациентов частыми возбудителями являются бактерии трибы *Proteae*, в которую входят *Proteus*, *Providencia* и *Morganella* [Chen *et al.*, 2012]. Помимо ИМП *M. morganii* способна вызывать инфекции различной локализации вплоть до септицемии, менингита, диареи, инфекции дыхательных путей и кожи [Golubic-Serpublic *et al.*, 2004]. Таким образом, *M. morganii* - условно-патогенные микроорганизмы, вызывающие широкий спектр заболеваний. Важным фактором для колонизации различных поверхностей является подвижность бактерий, адгезины и способность к образованию биопленок. В литературе мало данных об этих факторах вирулентности *M. morganii*. В связи с возрастающей ролью *M. morganii* в инфекционной патологии человека важно исследование различных факторов вирулентности этих бактерий и, в том числе, их подвижности и адгезивных свойств.

Целью работы явилось изучение влияния температуры и различных веществ на плавающую подвижность бактерий гемолитического штамма *M. morganii*, характеристика уреазной активности, адгезивных свойств и способности бактерий к образованию биопленок. Объектом исследования был штамм *M. morganii* 190 с высокой гемолитической активностью, выделенный из мочи урологических больных и предоставленный нам из бактериологической лаборатории «Биомед» города Казани.

Материалы и методы. Гемолитическую активность определяли по гемолизу эритроцитов с использованием 2% эритроцитарной массы, а также с помощью посева бактерий на кровяной агар. Исследовали уреазную активность на среде Кристенсена. Плавающую подвижность

исследовали на среде LBA, содержащей 0.33% агара, при температуре 30 и 37°C. На поверхность свежеприготовленного агаризованной среды наносили по 2 мкл суспензии бактерий и измеряли диаметр колонии через каждый час культивирования. Способность к подвижности оценивали по увеличению диаметра колонии. Исследовали влияние на плавающую подвижность глюкозы (0.5%), казаминовых кислот (0.6%), мочевины (20 мг/мл) и глутамина (0.5%). Адгезивные свойства бактерий исследовали методом агглютинации с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (2%). Исследовали адгезивные свойства бактерий на разных стадиях роста: на экспоненциальной фазе роста (12 час), на ранней и поздней стационарной фазах роста (16 час и 24 час соответственно). Образование биоплёнок на среде LB исследовали в 24-луночных планшетах с помощью метода окрашивания генциан фиолетовым.

Результаты и их обсуждение. Установили, что клинический изолят *M. morgani* 190 является гемолитически активным штаммом. Максимум накопления гемолитической активности при культивировании бактерий на среде LB приходится на 8 час роста и составляет 42 ед/мл. При посеве на среду Кристенсена выявили, что штамм обладал уреазной активностью, что является важным фактором вирулентности уропатогенных бактерий.

С использованием среды, содержащей 0.33% агара, показали, что бактерии обладают плавающей подвижностью. Культивирование при разных температурах показало, что подвижность зависит от температуры. Так, диаметр колонии исследуемого штамма при 30°C на 7 час роста достигал 45 мм. При повышении температуры до 37°C наблюдалось сильное ингибирование плавательной подвижности: диаметр колонии на 7 час роста достигал всего 13 мм. Максимальная скорость бактерий наблюдалось с 4 по 7 час культивирования при 30°C. Ингибирование подвижности бактерий при повышении температуры описано для таких энтеробактерий как *Yersinia pestis* и *Serratia marcescens*. Внесение в среду глюкозы приводило к ингибированию подвижности *M. morgani* 190. Показали, что при 30°C в присутствии в среде глюкозы диаметр колонии достигал на 7 час роста 35 мм, что меньше на 23%, чем на среде без глюкозы. Диаметр колоний исследуемого штамма при 37°C достигал 10 мм, что также свидетельствовало об ингибировании подвижности глюкозой на 25%.

Также исследовали влияние 0.6% казаминовых кислот в среде на подвижность бактерий *M. morgani* 190. Показали, что подвижность клеток исследуемого штамма повышалась на 20-25% по сравнению с контролем, что свидетельствует о том, что аминокислоты могут активировать жгутиковую подвижность бактерий. Известно, что глутамин может по-разному влиять на подвижность бактерий. Исследовали влияние глутамина на плавающую подвижность *M. morgani* 190. Несмотря на то, что казаминовые кислоты были способны активировать жгутиковую подвижность *M. morgani*, присутствие в среде глутамина, напротив, инактивировало подвижность бактерий. Присутствие 0.5% глутамина в среде культивирования при 30°C ингибировало подвижность *M. morgani* на 60%, а при 37°C – на 65%.

Внесение в среду мочевины также приводило к ингибированию подвижности *M. morgani* 190. Как и в случае глюкозы, установили, что при 30°C бактерии двигались активнее, чем при 37°C. Диаметр колонии на среде с мочевиной на 7 час роста при 30°C достигал 14 мм (ингибирование на 72% по сравнению с контролем), а при 37°C не превышал 4 мм, что свидетельствовало о полном ингибировании подвижности бактерий.

Известно, что способность к агглютинации дрожжей в присутствии бактерий свидетельствует о наличии фимбрий 1 или 3 типа. Для агглютинации дрожжей использовали суспензии бактерий *M. morgani* 190 на разных стадиях роста. Показали, что бактерии проявляли выраженные адгезивные свойства на всех исследуемых фазах роста. Так суспензии бактерий (1.0 опт. ед.) на 12 час роста вызывала агглютинацию дрожжей через 14 сек, на 16 час – через 21 сек., а на 24 час – 9 сек.

Исследовали способность бактерий *M. morgani* к образованию биопленок в условиях *in vitro* и влияние на эффективность образования биопленок внесение в среду 0.002% FeCl₃. Показали, что *M. morgani* 190 способны эффективно образовывать биоплёнки на среде LB при 37°C и эффективность биопленкообразования не зависит от присутствия в среде 0.002% FeCl₃. К 72 часу культивирования оптическая плотность биопленки при окрашивании генциан фиолетовым достигала 0.6-0.7 ед.

Таким образом, установили, что уропатогенный штамм *M. morganii* 190 обладает высокой гемолитической и уреазной активностью. Высокие адгезивные свойства бактерий коррелируют со способностью к эффективному образованию биоплёнок в условиях *in vitro*. Подвижность бактерий в жидкой среде зависит от температуры, а такие соединения как мочевины, глюкоза и аминокислоты по-разному влияют на миграцию клеток. Ингибирование подвижности *M. morganii* при повышенной температуре (37°C), что характерно для таких патогенов как *Y. pestis* и *S. marcescens*, может быть важно для колонизации мочевыводящих путей при инфекции.

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

АНТРОПОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ДИНАМИКУ БАКТЕРИАЛЬНОГО СОСТАВА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

Тюменев Р. С., Бадрутдинов О. Р., Хабирова Г.З.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», институт экологии и природопользования, кафедра прикладной экологии, г. Казань, Россия

Радиоактивность водной среды формируется радионуклидами естественного происхождения, радиоактивными продуктами ядерных взрывов, выбросами и сбросами объектов ядерной энергетики и промышленности.

Все воды условно можно разделить на метеорные (атмосферные осадки), поверхностные воды открытых водоемов суши (реки и озера), воды морей, океанов и подземные. Радиоактивность каждой из указанных вод имеет свои особенности.

Воды метеорные обычно малоактивные. Они содержат следы трития, углерода-14, бериллия-7, возникающие в результате взаимодействия космического излучения с атомами и молекулами атмосферного воздуха, также калий-40 и уран-238, которые входят в состав растворимых солей, попадающих в атмосферу в связи с эрозией (ветровой) эрозией земной поверхности, свинец-210 и полоний-210 -долгоживущие дочерние продукты распада радона.

Радиоактивность воды открытых водоемов суши зависит от химического состава пород и климатических условий. Степень радиоактивности речной воды обусловлена типом питания рек: поверхностным и грунтовым. Причем тип питания в свою очередь зависит от смены сезонов года и влияния метеорологических факторов. Как правило, поверхностные воды (дождевые, ледниковые, снеговые) содержат относительно меньшее количество радиоактивных веществ, поэтому в период паводка радиоактивность речной воды понижена. В межень, в период питания рек в основном за счет подземных вод радиоактивность воды повышается. В зимний период в воде рек, покрывающихся льдом, наблюдается накопление радона. Радиоактивность речной воды обусловлена в основном присутствием калия-40 и радия-226, причем содержание калия-40 колеблется в пределах от $3,7 \cdot 10^{-2}$ до $0,6$ Бк/л, урана от $2 \cdot 10^{-8}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ г/л и радия от $9,2 \cdot 10^{-3}$ до $7,4 \cdot 10^{-2}$ Бк/л.

Радиоактивность воды озер зависит от активности притоков и питающих озера подземных вод. Начиная с 1945 г. в связи с испытаниями и применением ядерного оружия, развитием ядерной промышленности и энергетики в биосферу, в т. ч. гидросферу стало поступать большое число радионуклидов искусственного происхождения. Наиболее существенными в экологическом и гигиеническом отношении являются как сравнительно долгоживущие радионуклиды, так и биологически активные, играющие важную роль в биогенных круговоротах: тритий, углерод-14, фосфор-32, марганец-54, железо-59, кобальт-60, цинк-65, стронций-90, рутений-106, йод-131, цезий-137, церий-144, плутоний-239 и др.

При поступлении радиоактивных веществ в воду открытых водоемов в первую очередь отмечается их разбавление, поглощение тканями гидробионтов. Эффективность процесса

разбавления в реках и замкнутых водоемах неодинакова. Степень и скорость этого явления в реках зависит от ряда гидрологических причин: соотношения объема загрязнений и расхода воды в реке, скорости течения, турбулентности водного потока, глубины формы русла, рельефа дна и т. д. В малых реках горного типа максимальное разбавление радиоактивных веществ происходит в течение нескольких минут, на реках равнинного типа, с выраженной струйностью течения, протяженность участка, на котором заканчивается разбавление, может достигать десятков километров. Интенсивность разбавления в замкнутых водоемах (пруды, озера, водохранилища) значительно меньше. Разбавление в них происходит за счет течений, волнового режима и в определенной степени процесса диффузии.

Одновременно с разбавлением радиоактивных изотопов в воде открытых водоемов отмечается и их интенсивная сорбция дном и донными отложениями. В результате дно становится своеобразным депо долгоживущих элементов. Существенную роль в накоплении дном радиоактивных веществ играют их химические свойства. Слабо фиксируется грунтом дна ^{35}S , лучше - ^{32}P , ^{137}Cs и др. Количество радиоактивных продуктов в грунте зависит от удельной активности воды, а именно возрастает с ее увеличением, хотя коэффициент накопления при этом уменьшается. Если дно состоит из плотных глинистых пород, распространение продуктов деления урана в глубину достигает 15 см, на большей глубине наблюдается резкое уменьшение активности. Проникновение в глубину рыхлого дна, сложенного, например, из торфа, достигает 1,5 м и более. Подобная картина характерна и для песчаных грунтов.

При постоянстве концентраций радиоактивных изотопов в воде возникает устойчивое динамическое равновесие с содержанием их в донном грунте. При снижении активности воды обычно отмечается медленный процесс десорбции радиоактивных веществ из донного грунта и их поступление в воду. Таким образом, дно в этом случае может быть источником вторичного загрязнения воды.

Наряду с разбавлением радиоактивных веществ в воде и сорбцией дном отмечается их накопление в гидробионтах. Это накопление происходит в результате адсорбции и диффузии, поступления через органы дыхания и алиментарным путем.

Механизм накопления радиоизотопов микрофлорой зависит от их химических свойств. Так, кальций для бактерий не является биогенным элементом, поэтому накопление радиоактивного стронция бактериями происходит за счет процесса физико-химической адсорбции атомов этого элемента на поверхности бактериальных клеток. В противоположность стронцию биогенный элемент ^{32}P ассимилируется бактериями в значительном количестве. Результаты экспериментальных исследований показывают, что при внесении в микробную взвесь радиоактивных веществ, уже через несколько минут удельная активность бактериальных тел становится во много раз выше по сравнению с активностью водной среды. При этом с увеличением концентрации микробных клеток процент извлеченных радиоактивных продуктов не возрастает. Таким образом, коэффициент накопления увеличивается при уменьшении числа микроорганизмов в водной среде. Кроме того, обнаружено уменьшение коэффициента накопления с возрастанием удельной активности воды. В зависимости от химических свойств радиоизотопов, вида микроорганизмов, удельной активности воды, ее pH и других условий коэффициент накопления для бактериальных клеток колеблется в широких пределах от 100 до 4-6 млн и более.

Рассматривая действие радиации на бактериальный состав, следует учитывать феномен радиочувствительности организмов, критерием которой является ЛД₅₀ – летальная доза, облучение в которой вызывает 50 % гибель биообъектов. Так, например ЛД₅₀ для амёбы составляет 300,0 Гр, парамеций 3000,0 Гр, бактерии Коли 100,0 Гр. Стерилизующие дозы находятся в пределах 0,1 – 30,0 кГр. Формирование этих доз возможно в зонах чрезвычайно опасного загрязнения в пределах эпицентра ядерных взрывов.

Однако определенные уровни доз могут оказывать стимулирующее действие на репродукцию микроорганизмов том числе и бактерий. Так, при гамма-облучении *T. pyriformis* в дозах 0,07 - 0,45 мГр/сут. достоверно увеличивалась их репродуктивная активность. При введении в среду инкубации радиоактивного изотопа ^{40}K , отмечен рост репродукции в 3 раза, нежели в присутствии в среде стабильного ^{39}K . Аналогичные результаты получены в экспериментах с бактериями protozoa и alga.

Следовательно, облучение различными типами ионизирующего излучения в 10 – 1000 раз превышающий природный уровень приводит к ускорению роста микроорганизмов в природном сообществе, в том числе и водном.

Вода хозяйственно-питьевого назначения, 80 % которой забирается с поверхностных водоисточников, нормируется по общей суммарной альфа- и бета-активности. Для альфа-активных радионуклидов гигиенический норматив составляет 0,2 Бк/кг, для бета-активных 1 Бк/кг (СанПиН 2.6.1.2523-09 НРБ-99/2009). В районах Республики Татарстан, включая г. Казань, альфа-активность хозяйственно-питьевой воды колеблется в пределах от 0 до 1,09 Бк/кг, бета-активность от 0 до 2,15 Бк/кг, средний уровень данных радиационных параметров составляет 0,13 и 0,88 Бк/кг.

КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫЕ БИОПЛЁНКИ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ СИСТЕМ

Хабитова Н.Н.¹, Валеева Л.Р.¹, Ногманова С.Р.¹, Гимадеев З.Г.², Шарипова М.Р.¹

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

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

Инфекции мочевыводящих путей являются широко распространенной проблемой, решение которой затруднено высокой устойчивостью патогенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам и антибиотикам. Одной из причин высокой резистентности возбудителей является их способность образовывать биопленки – объединенные общим матриксом клетки микроорганизмов, характеризующиеся специфическими свойствами. Хотя биопленки являются естественной формой существования бактерий, однако они также представляют серьезную угрозу здоровью человека, что связано с образованием биопленок на поверхности медицинских инструментов, дренажей, сфинктеров, стентов и катетеров. Урологические инфекционные заболевания, ассоциированные с катетерами (CAUTI, Catheter-Associated Urinary Tract Infections), составляют до 40% всех внутрибольничных заболеваний мочевыделительной системы, что обуславливает острую необходимость в нахождении эффективных путей решения проблемы выявления и борьбы с биопленками.

Цель работы – разработать схему эффективной борьбы с бактериальными биопленками на поверхности урологических катетеров.

Нами были исследованы образцы урологических катетеров пациентов с заболеваниями мочевыделительной системы, предоставленные урологическим отделением университетской клиники. Сканирующая электронная микроскопия поверхности катетеров показала наличие микробных биопленок на поверхности исследованных образцов. Анализ микроорганизмов, выделенных с поверхности катетеров, с помощью (МО) MALDI Biotyper масс-спектрометрии определил штаммы бактерий, относящиеся к условно-патогенным *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Escherichia coli*. Определена минимальная ингибирующая концентрация антибиотика меропенема по отношению к штаммам *E. cloacae* и *E. faecalis*, равная 8.0 и 4.0 мкг/мл, соответственно. Показано, что ингибирующее действие на рост штаммов оказывают органические соединения ЭДТА и имидазол.

Полученные данные подтверждают важную роль бактериальных биопленок, ассоциированных с катетерами, в развитии инфекций у пациентов с заболеваниями мочевыделительной системы, а также возможность использования органических соединений в качестве антибактериальных агентов. В дальнейшем мы планируем исследовать влияние комбинаций органических соединений и антибиотиков на формирование и стабильность биопленок, что позволит разработать эффективные методы борьбы с катетер-ассоциированными инфекционными заболеваниями.

АНТИСТАФИЛОКОККОВАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ ЛИЗОСТАФИНА И ХИТОЗАНА

Хайруллин Р.З.^{1,2}, Тюрин Ю.А.^{1,3}, Куликов С.Н.^{1,2}

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

²Казанский национальный исследовательский технологический университет, г. Казань,
Россия

³ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

Борьба с инфекционными заболеваниями, вызываемыми резистентными штаммами бактерий рода *Staphylococcus*, и, в частности, золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*), является одной из наиболее актуальных проблем медицины на протяжении длительного времени. Поэтому поиск новых лекарственных средств, альтернативных антибиотикам, а также разработка новых подходов в лечении стафилококковых инфекций представляется важной задачей.

Одним из таких средств является лизостафин – фермент (КФ 3.4.24.75), впервые выделенный более полувека назад из культуральной жидкости *Staphylococcus simulans* biovar *staphylolyticus*. Благодаря своей способности расщеплять пентапептидные глициновые мостики в структуре муреина, характерные именно для *S. aureus*, лизостафин рассматривается как перспективный антистафилококковый агент. Этот белок демонстрирует высокую эффективность против *S. aureus* как в опытах *in vitro*, так и в клинических исследованиях на животных. Однако, использование лизостафина может иметь некоторые недостатки. Прежде всего - это 1) сложность его очистки от сопутствующих примесей, содержащихся в культуральной жидкости *S. simulans*, а также 2) потенциальная иммуногенность самого лизостафина. Первая проблема решается за счёт получения рекомбинантной формы белка, что позволяет получать высокоочищенный фермент, однако, порождает другую проблему - значительно повышает его стоимость. Вторая проблема может решаться за счёт иммобилизации белка в матрице полиэтиленгликоля, что позволяет предотвратить его взаимодействие с антителами сыворотки и сохранить высокую активность фермента.

Решением вышеназванных проблем – высокой стоимости очищенного рекомбинантного белка и его потенциальной иммуногенности может служить подход, заключающийся в уменьшении концентрации используемого лизостафина при сохранении его высокой антистафилококковой эффективности. Уменьшение концентрации лизостафина можно достигнуть за счёт его синергизма с другими антибактериальными веществами - классическими антибиотиками, антимикробными пептидами и белками. Однако, использование антибиотиков в комплексе с лизостафином не может гарантировать сохранения эффекта синергизма в отношении всех штаммов стафилококка. Кроме того, и антибиотики и антимикробные белки и пептиды могут также иметь нежелательные иммуногенные свойства.

В отдельных патентах в которых описывается использование антибактериальных свойств лизостафина не ставится задача минимизации используемых концентраций фермента. Так, в патенте США 6,315,996 предлагается использовать лизостафин в качестве антибактериального агента без использования вспомогательных веществ. В патенте США 5,760,026 лизостафин предлагается использовать совместно с некоторыми другими антибактериальными компонентами, причём с некоторыми из них наблюдается эффект синергизма.

В связи с этим нами была поставлена цель разработать антибактериальную композицию, включающую в свой состав лизостафин (антибактериальный компонент), высокомолекулярный хитозан (вспомогательное вещество), обладающей повышенной антибактериальной активностью в отношении золотистого стафилококка.

Поставленная задача была достигнута путём включения в состав композиции лизостафина и высокомолекулярного хитозана. В качестве загустителя возможно использование поливинилового спирта, глицерина, полиэтиленгликоля, поливинилпирролидона.

Уменьшение концентрации лизостафина в композиции достигается за счёт использования вспомогательного вещества - высокомолекулярного хитозана. Высокомолекулярный хитозан, за счёт своих поликатионных свойств, взаимодействует с полианионными компонентами клеточных стенок *S. aureus* (тейхоевыми кислотами), что приводит к уменьшению связывания тейхоевыми кислотами положительно заряженного лизостафина и его большей вовлечённости в процесс лизиса клеток. Также, высокомолекулярный хитозан, связываясь с полианионными компонентами клеточных стенок *S. aureus*, способствует высвобождению из комплекса с тейхоевыми кислотами бактериальных автолизиннов, которые в свою очередь вызывают гиперавтолиз собственных бактериальных клеток. Иными словами высокомолекулярный хитозан подготавливает клетку мишень, делая их более восприимчивыми к лизостафину, а значит и восприимчивыми к более низким концентрациям лизостафина. При этом концентрация используемого вспомогательного вещества - высокомолекулярного хитозана требуется на порядок более низкой, чем самого лизостафина. Также в отличие от других возможных веществ хитозан отличает его биосовместимость, биodeградируемость, нетоксичность и гипоаллергенность. Хитозан – сополимер глюкозамина и ацетилглюкозамина – является продуктом дезацетилирования хитина, который содержится в экзоскелетах ракообразных и насекомых, гладиусах кальмара, клеточных стенках грибов и некоторых водорослей. Хитозан является единственным положительно заряженным полимером (поликатионом) естественного происхождения, который получают в больших количествах с высокой степенью химической чистоты, и, что немаловажно, обладающего умеренной стоимостью. Мировое количество хитина оценивается на уровне 10^{10} тонн, что, учитывая постоянный биосинтез, делает его неистощимым источником для получения хитозана.

Таким образом нами была получена оптимальная композиция с антистафилококковым эффектом. Эта композиция, включает в свой состав: лизостафин в конечной концентрации 1 мкг/мл, высокомолекулярный хитозан с молекулярной массой от 200 до 600 кДа в концентрации 0,1 мкг/мл (то есть 10% к массе используемого лизостафина), поливиниловый спирт от 2 до 15 мас.%, остальное – вода. Композиция в виде геля обладает повышенной антибактериальной активностью в отношении *S. aureus* по сравнению с отдельными компонентами композиции. Вместо поливинилового спирта композиция может включать глицерин от 10 до 90 мас.% или полиэтиленгликоль от 1 до 20 мас.% или поливинилпирролидон от 10 до 50 мас.%.

Результатом работы стала разработка антибактериальной композиции, включающая в свой состав лизостафин, высокомолекулярный хитозан и наполнитель, обладающий высокой антибактериальной активностью в отношении золотистого стафилококка.

ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕАЗЫ HTRA ПОВЫШАЕТ ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК *BACILLUS SUBTILIS* В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И СПОСОБСТВУЕТ ОБРАЗОВАНИЮ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОПЛЕНКИ

Чернова Л.С., Павлова А.С., Рыжикова М.Н., Каюмов А.Р.

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

Htra (high temperature requirement A) – это индуцируемые тепловым шоком сериновые протеазы. Они осуществляют качественный белковый контроль, гидролизуя поврежденные белки. У многих патогенных микроорганизмов HtrA являются фактором патогенности. Так, например, у *Streptococcus mutans* протеаза HtrA необходима для биогенеза внеклеточных белков, развития генетической компетентности и образования биопленки для выживания в стрессовых условиях. У млекопитающих снижение активности HtrA связано с такими тяжелыми заболеваниями, как артрит, рак, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера.

Целью данной работы являлось оценить влияние гиперпродукции белка HtrA *Bacillus subtilis* в адаптации клеток бацилл к стрессовым условиям.

С помощью дифференциального флюоресцентного окрашивания мертвых и живых клеток и Drop Plate анализа было показано, что при температуре выше 60 °C повышалась

жизнеспособность клеток бацилл с гиперпродукцией протеазы HtrA в 6 раз по сравнению с контрольным штаммом. Также в ходе исследования обнаружено различной степени роение колоний клетками *B.subtilis* с повышенным содержанием HtrA. Предполагается, что роение связано с кворум-зависимыми процессами, включая образование биопленок и синтез внеклеточного матрикса. Методом окрашивания кристаллическим фиолетовым мы обнаружили способность штаммов с гиперпродукцией протеазы образовывать более плотные биопленки. Для оценки синтеза внеклеточного матрикса, мы выращивали клетки на твердой питательной среде с красителем Конго Красный. Колонии клеток с гиперпродукцией белка характеризовались красным окрашиванием, что свидетельствовало о синтезе в матриксе амилоидов, а толщина окрашенной красителем колонии была в 1,5 раза больше, чем у исходного штамма.

Чтобы установить влияние HtrA на уровень экспрессии оперонов, участвующих в синтезе внеклеточного матрикса биопленки, нами были получены рекомбинантные штаммы с репортерными конструкциями *eps-LacZ* и *uqxM-LacZ*. Уровень активности β -галактозидазы в прикрепленных клетках показал повышенную экспрессию *eps* оперона и гена *uqxM* и образование более плотной биопленки клетками гиперпродуцента HtrA. Предполагается, что повышенный синтез HtrA также может влиять на протеом организма, в том числе и клеток, находящихся в составе биопленки. Проверку проводили с помощью 1D и 2D электрофореза, которые также показали различия в протеомах рекомбинантного штамма и штамма дикого типа.

Таким образом, повышенный синтез протеазы HtrA значительно повышает жизнеспособность клеток бацилл в условиях теплового стресса, способствует образованию биопленки клетками *B.subtilis* и синтезу ее внеклеточного матрикса, а также приводит к изменению протеомного профиля клеток, находящихся в составе биопленки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №15-14-00046).

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ КОЖИ НОВОРОЖДЕННЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА РОДРАЗРЕШЕНИЯ

Шайхиева Г.С.¹, Николаева И.В.¹, Шарафутдинов И.Х.², Шибалова О.Н.², Скворцова Н.Н.³

¹ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, Россия

² ГАУЗ «Клиника медицинского университета», г. Казань, Россия

³ ГАУЗ РКИБ имени профессора А.Ф.Агафонова, г. Казань, Россия

Данные литературы свидетельствуют о беспрецедентном и устойчивом росте частоты кесарева сечения в последнее десятилетие во всем мире. Частота родоразрешения путем кесарева сечения (КС) составляет в разных странах от 6% до 42,9%. В Российской Федерации данный показатель достигает 18–28%. Имеется неблагоприятная тенденция к возрастанию частоты «элективного» кесарева сечения, которое проводится «по желанию матери». У детей, рожденных путем КС, нарушается процесс формирования микробиологической и иммунной системы ребенка, что, по мнению ученых, является причиной более высокого риска развития атопического дерматита, бронхиальной астмы, аллергического ринита, целиакии и избыточной массы тела. КС ассоциируется с более высоким риском развития инфекционных заболеваний у грудных детей. Дети, рожденные путем КС, в первые минуты рождения не получают материнскую вагинальную микрофлору, а колонизируются преимущественно микроорганизмами медицинского персонала и окружающей среды.

Целью нашего исследования явилось изучение этиологической структуры неонатальных инфекций и особенностей микробной колонизации кожи у детей в зависимости от способа родоразрешения.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе отделения патологии новорожденных Республиканской клинической инфекционной больницы г. Казани. Дизайн

исследования «случай-контроль». Методом случайной выборки были проанализированы 194 истории болезни новорожденных детей, получавших стационарное лечение по поводу инфекционных заболеваний в 2015 году. Основную группу составили 44 ребенка, рожденные путем кесарева сечения, контрольную группу – 150 детей, рожденные путем естественных родов (ЕР). В исследование были включены доношенные дети (срок гестации 37-40 недель) с массой тела при рождении более 2900 грамм и с оценкой по шкале Апгар 7-10 баллов. Группы были сопоставимы возрасту, частоте грудного вскармливания, половому признаку. Сравнимые группы не различались по частоте развития неинфекционной патологии перинатального периода. Всем детям были проведены общеклинические методы исследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, копрограмма); бактериологическое исследование смывов с элементов пиодермий, пупка, конъюнктивального мешка; бактериологическое исследование кала на патогенные и условно-патогенные бактерии.

Статистический анализ категориальных данных проводился с использованием критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Показатель $p < 0,05$ считали достоверно значимым.

Результаты исследования. Наиболее частой причиной госпитализации новорожденных детей (независимо от способа родоразрешения) являлись острые респираторные вирусные инфекции (КС-54,6% и ЕР- 52 %), острые кишечные инфекции (КС-66% и ЕР -39%) и гнойно-воспалительные заболевания (КС-70,5% и ЕР-55 %). Дети, рожденные путем КС, достоверно чаще госпитализировались по поводу микст-инфекций респираторного, желудочно-кишечного тракта и ГВЗ кожи (ЕР-3,3%, КС-20,5%; $p < 0,01$). Не выявлено достоверных различий в частоте развития различных форм и тяжести клинических проявлений ГВЗ у детей в зависимости от способа родов. Пиодермия диагностирована у 56,6 и 60,9%, конъюнктивит – у 36,7 и 25,6%, омфалит – у 66,7 и 61% детей, рожденных КС и естественным путем соответственно. Однако по результатам бактериологических исследований кожа детей, рожденных КС, чаще была колонизирована различными условно-патогенными микробами. В смывах с кожи в данной группе детей достоверно чаще обнаруживался *S. aureus* (КС-23% и ЕР-15,9%, $p < 0,05$). Метициллинрезистентные стафилококки (*MRSA*) обнаружены в микрофлоре кожи у 6,6% детей из группы КС и 2,4% детей, рожденных ЕР ($p > 0,05$). У детей, рожденных путем КС несколько чаще, чем у детей, рожденных вагинальным путем, обнаруживались *Klebsiella pneumoniae* (20% и 14,6% соответственно, $p > 0,05$), *Enterococcus spp* (20% и 7,3%, $p > 0,05$), *Enterobacter spp* (3,3% и 1,2%), *Acinetobacter* (3,3% и 1,2%). Колонизация кожи *E.coli* выявлена только у детей, рожденных естественным путем (9,8%).

Таким образом, дети, рожденные путем КС, в неонатальном периоде достоверно чаще госпитализируются по поводу микст-инфекций респираторного, желудочно-кишечного тракта и ГВЗ кожи. Выявленные особенности микробной колонизации кожи у детей при различном способе родоразрешения следует учитывать при назначении антибактериальной терапии по поводу гнойно-воспалительных заболеваний кожи новорожденных.

ОЦЕНКА МИКРОБНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА КРУПНОГО ПРОМЫШЛЕННОГО ЦЕНТРА

Шаравара Л.П., Иванова А.А.

Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

В большинстве стран мира из-за урбанизации и активно развивающейся промышленности и растущего количества транспорта в состав атмосферного воздуха входит смесь различных загрязняющих агентов. Кроме этого, не последнее место среди загрязняющих агентов играют микроорганизмы. Микробное загрязнение связано с поднятием в атмосферный воздух пыли, на которой и находятся бактерии. Состав атмосферного воздуха имеет непосредственное влияние на состояние здоровья и качество жизни человека.

Цель работы: Оценка микробного загрязнения атмосферного воздуха в различных районах г. Запорожья.

Материалы и методы: Исследование микробного загрязнения атмосферного воздуха проводилось с помощью седиментационного метода в холодный и теплый период года. Определялось общее количество микроорганизмов на 1 м³ воздуха и динамика их роста в 6 районах города. Полученные результаты обрабатывались аналитическим и статистическим методом.

Полученные результаты: Содержание микроорганизмов в атмосферном воздухе города за исследованный период колебались в широком диапазоне: от нескольких клеток до десятков тысяч в 1 м³. Наиболее часто в воздухе встречались следующие виды микроорганизмов: *Bac. Subtilis*, *Bac. Mesentericus*, *Bac. Mycoides*, *P. glaucum*, *Mucor mucedo*, *T. alba*, *T. rosea*, *Act griseus*, *Mic. Roseus*, *Micr. candidans*, *St. citreus*, *St. albus* и др. При выполнении данной работы использовался седиментационный метод с применением чашек Петри с питательной средой, в которых после выдерживания в термостате производился подсчет и качественная оценка колоний микроорганизмов. Сравнительный анализ данных дает возможность провести численную характеристику микроорганизмов на разных участках.

Исследование, проведенное в осенний период, в сухую ясную погоду показало, что наибольшее число микроорганизмов в воздухе определяется на ост. Диагональная Заводского микрорайона с интенсивным движением автотранспорта (22081 бактерий в 1 м³ воздуха). Так же в районе сквера по ул. Лермонтова обнаружено 7642 бактерий в 1 м³ воздуха, на территории медицинского университета выявлено 2548 бактерий в 1 м³. Наименьшее число микроорганизмов в атмосферном воздухе выявлено на бульваре Винтера Ленинского микрорайона (2123 бактерий в 1 м³ воздуха). Исследования, проведенные в пасмурную дождливую погоду, показывают значительное снижение числа микроорганизмов в воздухе: возле остановки Диагональная – 20382 бактерий в 1 м³ воздуха, в районе сквера – 2760 бактерий в 1 м³ воздуха. На территории медицинского университета количество бактерий снизилось вдвое – 1274 бактерии в 1 м³.

Исследование, проведенные зимой при незначительном снегопаде показало значительное снижение числа микроорганизмов в воздухе в сравнении с летним периодом: ост. Диагональная в 2 раза ($p < 0,05$), в районе сквера по ул. Лермонтова в 3,6 раз ($p < 0,05$), на территории медицинского университета в 3 раза ($p < 0,05$). Наибольшее количество микроорганизмов в воздухе осталось в районе ост. Диагональная – 10616 ± 2453 в 1 м³ и в районе сквера по ул. Лермонтова – 2123 ± 654 в 1 м³, наименьшее количество – на территории медицинского университета (849 ± 368 в 1 м³).

Наибольшее количество микроорганизмов в атмосферном воздухе за исследуемый период наблюдалось на остановке общественного транспорта Диагональная 16083 ± 3459 , что больше в 9 чем на территории медицинского университета ($1698,5 \pm 447,7$) и больше в 4 раза ($p < 0,05$) чем на улице Лермонтова (3938 ± 1449) в районе сквера.

Выводы. Установлено, что среди исследуемых территорий наименьшее количество микроорганизмов в атмосферном воздухе наблюдалось на территории медицинского университета, что объясняется большим расстоянием от промышленных объектов и автодорог, а также большой степенью озеленения территории. Наиболее загрязненной территорией оказалась ост. Диагональной Заводского района, которая находится вблизи с промышленными предприятиями и крупной транспортной развязкой.

Количество микроорганизмов в воздухе зависит от интенсивности движения транспорта и наличия промышленных предприятий рядом – чем дальше удалена территория от источников загрязнения, тем меньше в воздухе пыли, а таким образом и бактерий. На количество микробного загрязнения воздуха влияют метеорологические условия: наибольшее количество микроорганизмов в воздухе наблюдается в теплую и безветренную погоду летом и осенью, при снижении температуры воздуха снижалось и общее микробное число на исследуемых территориях.