

Министерство здравоохранения Российской Федерации

Государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования

РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

VII Конференция молодых ученых РМАПО с международным участием

«ШАГ В ЗАВТРА»



Материалы конференции

Том I

Москва 2016

резецированных тканей пациентам было рекомендовано динамическое наблюдение или лучевая терапия.

Предварительные результаты. У 4 (19%) из 21 пациента были выявлены микрометастазы в лимфатических узлах шеи (2 случая в лимфатических узлах I уровня и 2 случая в лимфатических узлах II уровня). Поражение лимфатических узлов шеи III и IV уровня не было зафиксировано. В связи с неблагоприятными гистологическими признаками адьювантная лучевая терапия на область первичной опухоли и зону шеи была проведена 14 пациентам. Средняя продолжительность наблюдения за пациентами после хирургического лечения составила 4,5 мес. За это время не было зафиксировано ни одного регионарного рецидива заболевания. Полученные предварительные результаты соответствуют данным в иностранной научной литературе о том, что результаты профилактической селективной шейной лимфодиссекции сопоставимы с результатами профилактических модифицированных радикальных шейных лимфодиссекций.

ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ЛАКТОБАЦИЛЛЫ – ИСТОЧНИК РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В МИКРОБИОМЕ ЧЕЛОВЕКА

Анисимова Е.А., магистрант кафедры микробиологии,

Бруслик Н.Л., аспирант кафедры микробиологии,

Исмагилова Р.К., младший научный сотрудник НИЛ «Омиксные
технологии»

Руководитель: Яруллина Д.Р., к.б.н., доц.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, ИФМиБ,
г. Казань

Антибиотики («против жизни») и пробиотики («для жизни») – две обширные группы лекарственных препаратов, отношения между которыми представляют собой актуальную научную проблему. Антибиотикотерапия является наиболее успешным способом борьбы с инфекциями, который, однако, часто провоцирует дисбактериозы. Для лечения последних эффективным средством является применение пробиотиков - живых микроорганизмов, которые оказывают благоприятное воздействие на организм, способствуя нормализации микрофлоры. Важным критерием при отборе пробиотических штаммов служит 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. Но, с другой стороны, существует риск распространения генов антибиотикорезистентности (АР) в микробиоме

человека с помощью конъюгативных плазмид и транспозонов, что противоречит требованиям лекарственной безопасности пробиотиков. Микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) представляет собой плотно заселенную различными микроорганизмами экосистему – это определяет широкие возможности для горизонтального транспорта генетического материала, в том числе генов устойчивости к антибиотикам от донорских штаммов к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам ЖКТ. Показано, что некоторые антибиотикорезистентные штаммы, включенные в пробиотики и продукты функционального питания, имеют приобретенные гены устойчивости, а также доказана способность к горизонтальному транспорту генов АР *in vitro*. Таким образом, важно исключить возможность распространения генов устойчивости к антибиотикам внутри ЖКТ, не допустив включения в пробиотик штаммов с потенциальными мобильными генами антибиотикорезистентности.

Целью работы является выявление генетических детерминант устойчивости к клинически распространенным антибиотикам у потенциально пробиотических штаммов лактобацилл и оценка риска их передачи условно-патогенной гастроинтестинальной микрофлоре.

Из кисломолочных продуктов, пробиотических препаратов и фекалий человека выделили 34 штамма лактобацилл и установили их видовую принадлежность методом MALDI TOF масс-спектрометрии. Далее диско-диффузионным методом оценили уровень устойчивости исследуемых лактобацилл к 12 антибиотикам различной природы: β-лактамам, аминогликозидам, макролидам, клиндамицину, ванкомицину, рифампицину, ципрофлоксацину, тетрациклину и хлорамфениколу. В результате обнаружили высокую устойчивость лактобацилл к ципрофлоксацину, ванкомицину и аминогликозидам. Точная локализация генетических детерминант устойчивости к ципрофлоксацину и аминогликозидам, а, следовательно, и их потенциальная мобильность у лактобацилл пока не установлены, тогда как для исследуемых видов бактерий известно, что резистентность к ванкомицину кодируется хромосомными генами, она неиндуцибельна и не может передаваться. Горизонтальному транспорту особенно подвержены гены устойчивости к хлорамфениколу, эритромицину и тетрациклину. Бактерии рода *Lactobacillus*, как правило, чувствительны к этим антибиотикам и в целом к ингибиторам биосинтеза белка, кроме аминогликозидов. Тем не менее, у одного штамма лактобацилл мы обнаружили резистентность к эритромицину (Erm) и у 5 штаммов - к тетрациклину (Tet). В геномах этих бактерий с помощью секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК проверили наличие 15 генов, кодирующих устойчивость к Erm и Tet. В результате в геномной ДНК выявили гены *ermB* и *ermA*, а также ряд генов (*tetM*, *tetK*, *ermA*, *ermC*, *mefA*) - в плазмидной ДНК. Ген *tetM* ответственен за синтез защитных белков, которые позволяют бактериям осуществлять синтез белка, несмотря на

связывание молекулы Tet с рибосомой. Ген *tetK* определяет другой механизм устойчивости к Tet за счет активного выведения антибиотика из клетки. Продукты генов *erm* приводят к снижению сродства антибиотика с рибосомой, а *mef*-гены отвечают за активное выведение макролидов, в частности Erm. Локализация генов AP на плазмидной ДНК создает опасность распространения этих генетических детерминант в микробиоме человека. У некоторых штаммов, не проявляющих устойчивость к Erm, были обнаружены молчащие гены *ermA*, *ermC* и *mefA*, также у одного штамма обнаружен ген *aph(3')-III*, детерминирующий устойчивость к аминогликозидам.

Возможность горизонтального транспорта генов AP от лактобацилл к условно-патогенным бактериям гастроинтестинальной микрофлоры исследовали с помощью трансформации и электропорации чувствительных к Tet штаммов *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* и *Citrobacter freundii* геномной и плазмидной ДНК лактобацилл, а также при совместном культивировании бактерий в условиях, имитирующих кишечник человека. При трансформации клеток *C. freundii* плазмидной ДНК Tet-резистентных бактерий *L. fermentum* 5-1 зафиксировали передачу генетических детерминант устойчивости к Tet. В остальных исследованных вариантах опыта горизонтальный транспорт генов AP не выявлен. Таким образом, штамм *L. fermentum* 5-1, выделенный нами из кисломолочного продукта ряженки, непригоден для включения в пробиотические препараты, поскольку может служить источником генов устойчивости к антибиотикам в микробиоме человека.

Таким образом, в данной работе впервые получены данные об устойчивости лактобацилл, выделенных нами из кисломолочных продуктов и пробиотических препаратов, к клинически распространенным антибиотикам. Значимость полученных результатов для составления обоснованных тактических схем применения пробиотических лактобацилл при этиотропной антибактериальной терапии, а также для лечебной коррекции и профилактики дисбиотических состояний, не вызывает сомнений. Проведенное исследование хотя и не снимает полностью вопрос о риске распространения в микробиоме кишечника человека генов AP от пробиотических микроорганизмов, но расширяет научную базу сведений о мобильности генетических детерминант AP у лактобацилл, которая обладает большим потенциалом практического использования в биомедицине для создания пробиотических препаратов нового поколения, соответствующих самым строгим требованиям безопасности.