

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (специализация, магистерская программа): Микробиология и вирусология

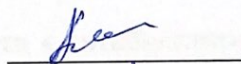
МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК У
ЧЕЛОВЕКА

Обучающийся 2 курса
группы 01-040-2



М.М. Имжейда

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент



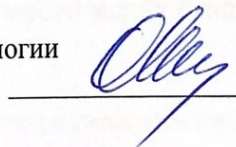
Д.М. Шарифуллина

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент



П. В. Зеленихин

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



О.Н. Ильинская

Казань–2022

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1 Атеросклероз и сонная артерия	8
1.1.1 Осложнения атеросклероза сонных артерий	8
1.1.2 Факторы риска, связанные с развитием атеросклероза	9
1.2 Жизнеспособные бактерии, присутствующие в ткани бляшки сонной артерии	10
1.2.1 Доказательства in vitro	11
1.2.2 Доказательства in vivo	12
1.3 Propionibacterium acnes	14
1.3.1 Вирулентность P. acnes	15
1.3.2 Роль P. acnes в патогенезе атеросклеротических повреждений	15
1.4 Staphylococcus aureus	17
1.5 Развитие устойчивости к антибиотикам у клинических изолятов	18
1.5.1 Механизмы устойчивости к антибиотикам у клинических изолятов	19
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	22
2.1 Отбор образцов атеросклеротических бляшек	22
2.2 Посев образцов атеросклеротических бляшек на питательные среды	23
2.3 Идентификацию культур Staphylococcus биохимическими методами	24

2.3.1	Идентификация анаэробных культур биохимическими методами	25
2.3.2	Идентификацию культур на MALDI-ToF масс-спектрометре	25
2.4	Определение чувствительности микроорганизмов рода Staphylococcus к антибиотикам	25
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	
3.1	Результаты диагностики микрофлоры атеросклеротических бляшек бактериологическими методами	28
3.2	Результаты идентификации изолятов биохимическими методами	31
3.3	Видовая идентификация микрофлоры атеросклеротических бляшек методом масс-спектрометрии белков рибосом	31
3.4	Определение чувствительности выделенных изолятов к антибиотикам	34
3.4.1	Чувствительность Staphylococcus к антибиотикам	34
3.4.2	Чувствительность Propionibacterium к антибиотикам	35
	ВЫВОДЫ	37
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	38

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) относятся к любому аномальному состоянию, характеризующемуся дисфункцией сердца или кровеносных сосудов. Сюда входят такие заболевания, как ишемическая болезнь сердца (ИБС), гипертония и цереброваскулярные заболевания. Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти в современных промышленно развитых странах. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2012 году 17.5 миллионов человек умерли во всем мире от сердечно-сосудистых заболеваний, что составляет 31% всех смертей; больше, чем все инфекционные, материнские, неонатальные и пищевые расстройства вместе взятые, и вдвое превышает число смертей, вызванных всеми видами рака [Luengo-Fernández *et al.*, 2006]. Сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему остаются ведущей причиной смертности в Европе, на их долю приходится более 4 миллионов смертей в год. По всей Европе существуют широкие географические различия в показателях смертности от сердечно-сосудистых заболеваний; Дания и Норвегия имеют одни из самых низких показателей смертности от сердечно-сосудистых заболеваний с поправкой на возраст [Nichols *et al.*, 2013]. Самые высокие показатели смертности от сердечно-сосудистых заболеваний во втором десятилетии 21 века наблюдались в странах Восточной Европы, таких как Российская Федерация и Беларусь для мужчин и Узбекистан и Кыргызстан для женщин [Nichols *et al.*, 2013].

В Европе смертность от сердечно-сосудистых заболеваний стала причиной 51% смертей среди женщин и 42% среди мужчин в 2013 году, по сравнению с 19 и 23%, соответственно, для всех видов рака вместе взятых [Nichols *et al.*, 2014]. В Великобритании было установлено, что ССЗ являются второй по значимости причиной смерти (28% всех смертей) после рака (29%). Однако ИБС сама оставалась основной причиной смерти на Британских островах в 2012 году [Townsend *et al.*, 2014].

Развитие атеросклеротических повреждений артерий является одним из ведущих факторов ССЗ. Этиология данной патологии не установлена окончательно и является одним из самых актуальных предметов изучения. Возможное участие микроорганизмов в реализации процессов развития атеросклероза является основанием обратить пристальное внимание в их сторону.

Наряду с человеческими издержками, как ССЗ в целом, так и ИБС в частности имеют серьезные экономические последствия для развитых стран. Ряд оценок показывает, что расходы на лечение ССЗ в Европе значительных величин. Так в период 2012/13 годов на лечение ССЗ в Национальной системе здравоохранения Великобритании было потрачено 6.8 млрд фунтов стерлингов; при этом на вторичную медицинскую помощь пришлось 4.4 млрд фунтов стерлингов (67%) этих расходов, а расходы на первичную медицинскую помощь составили 1.9 млрд (21%) [Townsend *et al.*, 2014]. Если учитывать дополнительные факторы, такие как снижение производительности, неформальные расходы на здравоохранение и социальное обеспечение, общая ежегодная сумма затрат на борьбу с ССЗ и их последствиями в Великобритании может достигать 12 млрд и более фунтов стерлингов [Leal *et al.*, 2006]. В Российской Федерации действует государственная программа, финансируемая из государственного бюджета «Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями», расходы на которую составили в 2022 году 25.1 млрд руб [О федеральном бюджете на 2022 год и на плановый период 2023 и 2024 годов]. Принимая во внимание как человеческие, так и экономические издержки ССЗ, любое исследование, направленное на понимание этиологических факторов, которые инициируют и/или прогрессируют ССЗ, принесло бы большую пользу с клинической и экономической точек зрения.

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы стали анализ микробного сообщества биоптатов атеросклеротических бляшек человека и

определение чувствительности полученных микроорганизмов к антибиотикам.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- 1) Выделить изоляты микрофлоры атеросклеротических бляшек;
- 2) Охарактеризовать культурально-морфологические свойства изолятов;
- 3) Провести идентификацию изолятов биохимическими методами;
- 4) Идентифицировать изоляты при помощи MALDI-ToF масс-спектрометрии;
- 5) Охарактеризовать чувствительность выделенных изолятов к спектру антибиотиков.

ВЫВОДЫ

1) В результате посевов 40 клинических образцов атеросклеротических бляшек на искусственные питательные среды было выделено 33 культуры микроорганизмов. Сроки появления признака роста на среде СКС варьировали в интервале от 2 до 22 суток для изолятов рода *Propionibacterium* и до 40 суток для изолятов рода *Staphylococcus*;

2) Методом масс-спектрометрии 10 изолятов были отнесены к роду *Propionibacterium*, из них 5 изолятов отнесены к виду *Propionibacterium acnes*. 21 изолят отнесен к роду *Staphylococcus*, из которых 11 изолятов отнесены к *Staphylococcus epidermidis*, 4 изолята - к *Staphylococcus capitis*;

3) Культуры *Staphylococcus* обладали высоким уровнем продукции пенициллиназы (86.7%), резистентными к оксациллину были 21.7%. Устойчивость к макролидам была выявлена у 31.6% штаммов. Резистентность к фторхинолонам 2 поколения составляла 9-11 %. Чувствительными к хлорамфениколу были 75% из тестированных культур, к аминогликазидам – 90%, к триметоприму/сульфаметаксазолу – 91.7%, рифампину – 88.9%. Все тестированные изоляты были чувствительны к клиндамицину, ванкомицину и линезолиду, моксифлоксацину;

4) Все протестированные изоляты *Propionibacterium* продемонстрировали чувствительность к широкому спектру антибиотиков за исключением природной устойчивости к триметоприму