

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 - Биология

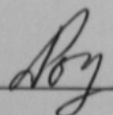
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

РАЗЛИЧНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ В
ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ В СОСТАВЕ МОНО- И
ПОЛИМИКРОБНОЙ БИОПЛЕНКИ

Работа завершена:

«5» 06 2018г.



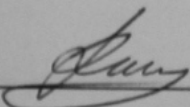
(М.Н. Яруллина)

Работа допущена к защите:

Научные руководители:

к.б.н., доцент кафедры генетики

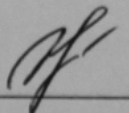
«5» 06 2018г.



(А.Р. Каюмов)

ассистент, б/с,

«5» 06 2018г.

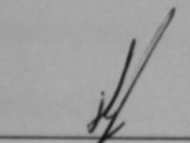


(Е.Ю. Тризна)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«7» 06 2018г.



(В.М. Чернов)

Казань-2018

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Смешанные биопленки как один из факторов не заживления ран	7
1.2 Дифференциально-диагностические свойства и антибиотикорезистентность <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
1.3 Дифференциально-диагностические свойства и антибиотикорезистентность <i>Escherichia coli</i>	6
1.4 Дифференциально-диагностические свойства и антибиотикорезистентность <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
1.5 Дифференциально-диагностические свойства и антибиотикорезистентность <i>Staphylococcus aureus</i>	19
Заключение	23
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	24
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	24
2.1 Штаммы и исследуемые соединения	24
2.2 Питательные среды	24
2.3 Условия культивирования бактерий	25
2.4 Окрашивание биопленок кристаллическим фиолетовым	25
2.5 Определение минимальной ингибирующей концентрации и минимальной бактерицидной концентрации	26
2.6 Моделирование смешанной биопленки	26
2.7 Определение эффективности антибиотика против полимикронной культуры	27

2.8 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия	27
2.9 Drop Plate анализ	28
2.10 Окрашивание бактерий по Граму	28
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	29
3.1 Моделирование смешанной биопленки.....	29
3.2 Модель смешанной биопленки <i>S. aureus</i> - <i>P. aeruginosa</i> в условиях подавления синтеза внеклеточного матрикса клетками <i>S. aureus</i>	32
3.3 Влияние различных групп антибиотиков на микроорганизмы в составе смешанной биопленки <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	36
3.4 Влияние различных групп антибиотиков на микроорганизмы в составе смешанной биопленки <i>S. aureus</i> и <i>K. pneumoniae</i>	46
3.5 Влияние различных групп антибиотиков на микроорганизмы в составе смешанной биопленки <i>S. aureus</i> и <i>E. coli</i>	49
ВЫВОДЫ	53
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	54

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальное заражение представляет собой важный фактор медленного заживления острых и хронических ран [Marano *et al.*, 2015]. Одной из основных причин этого является образование бактериальных биопленок на их поверхности [Richard *et al.*, 2008]. По сравнению с планктонной формой существования бактерии в составе биопленки до тысячи раз устойчивее к действию различных антибактериальных соединений, благодаря свойству полисахаридного матрикса, который действует как селективный барьер для проникновения антимикробных веществ [Petrova *et al.*, 2016].

В настоящее время показано, что мономикробная инфекция скорее редкость и большинство заболеваний имеет полимикробную природу. При этом на поверхности наружных тканей образуются полимикробные биопленки, которые имеют более плотный матрикс, непроницаемый для антибактериальных веществ и наблюдается повышенный уровень синтеза факторов вирулентности [Elias *et al.*, 2012]. Также в смешанной культуре происходит интенсивный обмен генами устойчивости к антибиотикам между бактериями, поэтому одним из наиболее тревожных последствий синергетических взаимодействий между микроорганизмами является приобретение ими устойчивости к антимикробным агентам [McGuinness *et al.*, 2017]. Все это приводит к низкой эффективности многих антибиотиков, и более тяжелому течению заболеваний.

При подобных инфекциях, как правило, встречаются такие микроорганизмы как *Staphylococcus aureus* с *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*. Бактерии *S. aureus* являются одними из основных внутрибольничных патогенов, вызывающих инфекции на медицинских имплантатах [Saising *et al.*, 2012]. И если смешанные культуры *S. aureus* с *P. aeruginosa* и *C. albicans* уже подробно описаны в литературе, то смешанные культуры *S. aureus* с *E. coli* и *K. pneumoniae* пока практически не исследованы. Клиническое значение

смешанных инфекций с золотистым стафилококком пока остается слабо изученным, однако показано, что подобные консорциумы наблюдались при изучении спектра микробных колонизаций у больных с хроническими язвами кожи [Di Domenico *et al.*, 2017]. Колонизация уропатогенных *E. coli* способствует развитию инфекций мочевыводящих путей [Гриценко *с соавт.*, 1998]. *K. pneumoniae* является одним из наиболее распространенных возбудителей, вызывающих легочные инфекции [Chen *et al.*, 2014].

В составе полимикробной биопленки *S. aureus* и *P. aeruginosa* являются причиной возникновения широкого спектра заболеваний, включая пневмонию у пациентов с кистозным фиброзом, нозокомиальную пневмонию и хронические инфекции ран [Baldan *et al.*, 2014]. Смешанные инфекции *S. aureus* и *P. aeruginosa* вызывают воспалительные процессы легких и верхних дыхательных путей. Такое заболевание часто оказывается неизлечимым, и больным требуется проходить терапию антибиотиками на протяжении всей жизни [Ciofu *et al.*, 2001].

Целью работы было оценить антибактериальную активность антибиотиков в отношении микроорганизмов в составе смешанной биопленки.

В соответствии с поставленной целью в работе решались следующие **задачи**:

- 1) Отработать условия совместного культивирования *S. aureus* с *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *E. coli* для получения смешанной биопленки.
- 2) Охарактеризовать смешанную биопленку *S. aureus*-*P. aeruginosa* в условиях подавления синтеза внеклеточного матрикса клетками *S. aureus*.
- 3) Проанализировать эффективность различных групп антибиотиков в отношении бактерий в составе полимикробной биопленки.
- 4) Исследовать распределение бактерий в толще полимикробной биопленки в условиях антибиотикотерапии.

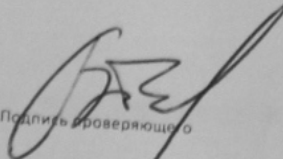


СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Яруллина Мария Николаевна
Факультет, кафедра, номер группы	ИФМиБ, кафедра генетики, 01-640-1
Тип работы	Не указано
Название работы	Яруллина Мария Николаевна Яруллина Мария антиплагиат.doc
Название файла	Яруллина Мария антиплагиат.doc
Процент заимствования	5,48%
Процент цитирования	0,65%
Процент оригинальности	93,87%
Дата проверки	11:17:58 01 июня 2018г.
Модули поиска	Модуль поиска "КПФу"; Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГЭОТАР; Модуль поиска Интернет; Коллекция Медицина; Кольцо вузов; Модуль поиска общепотребительных выражений; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция Библиотека МГМУ им. Сеченова; Модуль поиска переводных заимствований; Цитирование; Коллекция РГБ; Сводная коллекция ЭБС
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович
	ФИО проверяющего

Дата подписи


Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.