

УДК 579.61

## ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ ШТАММАМИ *ESCHERICHIA COLI* И РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ БОРЬБЫ С НИМИ

© 2016 О.В. Нечаева<sup>1</sup>, Б.М. Аль-Баяти<sup>2</sup>, Е.В. Глинская<sup>2</sup>, В.Ю. Ульянов<sup>3</sup>, М.М. Вакараева<sup>4</sup>,  
Д.А. Заярский<sup>5</sup>, Е.И. Тихомирова<sup>5</sup>, Н.В. Беспалова<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского

<sup>2</sup> Саратовский национальный исследовательский государственный университет  
имени Н.Г. Чернышевского

<sup>3</sup> Саратовский НИИ травматологии и ортопедии

<sup>4</sup> Чеченский государственный университет, медицинский институт

<sup>5</sup> Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.

Статья поступила в редакцию 03.11.2016

Методом полимеразной цепной реакции определен ген *fimH*, кодирующий синтез пилей 1 типа клинических штаммов уropатогенных кишечных палочек. Установлено, что наличие данного гена способствует повышению адгезивной активности исследованных штаммов, а также обеспечивает активизацию процесса пленкообразования в условиях *in vitro*. Показано, что предварительная обработка инертных поверхностей иммунологических планшетов и фрагментов уретрального катетера сублетальными концентрациями полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, нарушает процесс пленкообразования на начальных этапах неспецифической адгезии.

Ключевые слова: ген вирулентности *fimH*, адгезивные свойства, бактерия, микробная биопленка, сублетальные концентрации

Инфекции мочевыводящих путей (ИМВП) относятся к одним из наиболее распространенных и часто диагностируемых бактериальных инфекций и представляют серьезную проблему для современного здравоохранения [9]. Возбудители ИМВП поражают все возрастные группы населения обоих полов, как в условиях стационара, так и во внебольничной среде [3, 22]. В патогенезе ИМВП важную роль играют множество видов бактерий, однако наиболее распространенными возбудителями являются представители семейства Enterobacteriaceae. Согласно данным мировой литературы наиболее частыми

возбудителями ИМВП являются штаммы *E.coli*, на долю которых приходится 50-75% всех диагностированных случаев заболеваний, а также *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Morganella* spp. и представители других семейств, среди которых с наибольшей частотой выделяются *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *S. aureus*, *Enterococcus* spp. [17].

Уropатогенные кишечные палочки (УPEC) в процессе эволюции приобрели специальные факторы вирулентности, которые способствуют их прикреплению к клеткам уроэпителия, выживаемости вне среды кишечника, изменению гидрофобности поверхности клеток и возникновению цитопатических эффектов. К данным факторам относятся адгезины (фимбрии и пили типов 1, P, S/F1C и афимбриальные факторы адгезии Dr и Afa), токсины, сидерофоры, жгутики и полисахаридные компоненты клеточной стенки [20]. Присоединение УPEC к клеткам уроэпителия осуществляется небольшими гликопротеинами, расположенными на концах бактериальных фимбрий, которые связываются с мембранами клетки-хозяина и выполняют функции рецептора, позволяя бактериям сопротивляться их механическому выведению с потоком мочи при опорожнении мочевого пузыря и увеличивать их выживаемость [10]. Наиболее распространенными факторами адгезии, встречающимися в более чем 95% всех бактерий УPEC, являются фимбрии типа 1, которые кодируются кластером генов *fim*

Нечаева Ольга Викторовна, кандидат биологических наук, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

Аль-Баяти Басим Мохаммад, аспирант

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений

Ульянов Владимир Юрьевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отдела инновационных проектов в нейрохирургии и вертебрологии

Вакараева Малика Мовсаровна, кандидат биологических наук, ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии

Заярский Дмитрий Александрович, кандидат технических наук, доцент кафедры химии

Тихомирова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой экологии

Беспалова Наталья Викторовна, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры информационной безопасности и автоматизированных систем

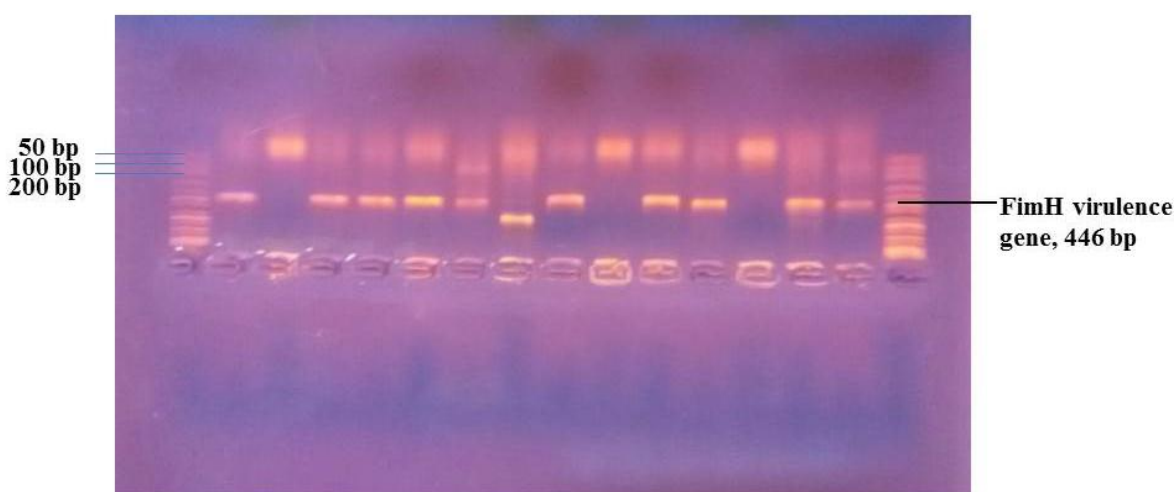
и в основном состоят из одного основного повторяющегося структурного элемента *fimA*, кодирующего адгезин [18, 23]. Фимбрии типа 1 посредством адгезина *fimH* осуществляют специфическое связывание к маннозосодержащим гликопротеинам, расположенным на поверхности клеток эпителия мочевого пузыря, которое считается первым этапом последующей колонизации и заражения посредством повышения внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ , апоптоза клеток уроэпителия, их отслоения и образования внутриклеточных бактериальных сообществ [14, 24].

**Цель работы:** изучение влияния гена *fimH* на адгезивные свойства и пленкообразующую способность клинических штаммов UPEC и разработка мер, способствующих нарушению формирования микробных биопленок на поверхности изделий медицинского назначения.

**Материалы и методы.** В исследованиях в качестве экспериментальной модели использовали стандартный и клинические штаммы *Escherichia coli*, выделенные от больных с признаками инфекций мочевыделительной системы. Полимеразную цепную реакцию для обнаружения гена вирулентности *fimH* проводили согласно стандартной методике в термоциклере [16]. Олигонуклеотидные праймеры для детекции гена *fimH* были предоставлены компанией Integrated DNA Technologies (Бельгия). Адгезивную способность стандартного и клинических штаммов *E. coli* определяли с использованием стандартного метода [2]. Процесс формирования микробных биопленок моделировали в условиях *in vitro* в лунках иммунологических планшетов согласно стандартной методике [7]. Количественный учет пленкообразования стандартным и клиническими штаммами исследуемых микроорганизмов оценивали на спектрофотометре для микро-

планшет Epoch (Биотек, США) по величине связывания ими кристаллического фиолетового (ед. ОП). Оценку влияния полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода (ПААГ-М), проводили с использованием его сублетальных концентраций ( $\frac{1}{4}$  МПК), которые были определены экспериментальным путем. В лунки иммунологического планшета вносили ПААГ-М, оставляли на 15 минут, а затем троекратно отмывали стерильной дистиллированной водой для удаления несвязавшегося с поверхностью полимерного соединения и высушивали. Исследование динамики формирования микробных биопленок в условиях *in vitro* проводилась в течение 96 часов.

Для изучения влияния ПААГ-М на формирование микробных биопленок на изделиях медицинского назначения в качестве объекта исследования был выбран уретральный катетер, изготовленный из полиуретана. Фрагменты катетера помещали в МПБ, содержащий суточные культуры исследуемых микроорганизмов в концентрации  $2 \times 10^5$  м.к./мл с целью формирования микробной биопленки. Опытные образцы были предварительно обработаны 0,5 % раствором ПААГ-М. Опытные и контрольные образцы инкубировали в течение суток при температуре  $37^{\circ}C$ , а затем оценивали процесс пленкообразования с использованием сканирующей электронной микроскопии с использованием растрового электронного микроскопа Aspex Explorer. На поверхность образцов напыляли токороводимую пленку золота. Микроскопию проводили при ускоряющем напряжении 20 kV, ток эмиссии – 50  $\mu A$ . Изображение получали во вторичных электронах. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи пакета программ STATISTICA 6,0.



**Рис. 1.** Результаты ПЦР-анализа образцов ДНК клинических штаммов *E. coli* на наличие гена *fimH*

**Результаты и обсуждение.** Начальным этапом взаимодействия возбудителя инфекционного заболевания с чувствительными клетками макроорганизма является адгезия. Для уропатогенных кишечных палочек (UPEC) известен широкий спектр факторов адгезии, однако одним из основных являются пили 1 типа, синтез которых детерминирован геном *fimH*. Поэтому представляло интерес изучить наличие данного гена у клинических штаммов *E. coli*, выделенных от больных с признаками инфекций мочевыводительных путей (ИМВП). В качестве отрицательного контроля использовали стандартный штамм *E. coli* ATCC 25922, лишенный данного гена. В исследованиях использовали 111 клинических штаммов *E. coli*, для которых с помощью ПЦР была проведена детекция гена вирулентности *fimH*. Полученные результаты представлены на рис. 1.

Было установлено, что частота встречаемости гена *FimH*, размер которого составлял 446 пар нуклеотидов, среди UPEC была высокой и составила 63%. Данные результаты согласуются с другими работами [8, 15], в которых также отмечено преобладание данного фактора адгезии среди прочих факторов вирулентности штаммов UPEC при различной частоте обнаружения (68-100%). Пили 1-го типа обладают высоким сродством к рецепторам клеток мочевыводительной системы и необходимы для их распознавания, адгезии и колонизации уропатогенными бактериями, что и составляет основу патогенеза ИМВС. Установлена принципиальная роль пилей 1 типа в процессе адгезии возбудителя, которые, иницируя внутриэпителиальную инвазию бактерий, обеспечивают их длительную персистенцию, что и приводит к высокой частоте рецидивов ИМВС [4].

На следующем этапе работы было изучено влияние гена *FimH* на адгезивные свойства бактерий. В исследованиях использовали стандартный штамм *E. coli* ATCC 25922, а также 20 клинических штаммов UPEC, отличающихся по наличию гена вирулентности *FimH*. Согласно методике, адгезивные свойства исследуемых бактерий оценивали по трем показателям: среднему показателю адгезии (СПА), который соответствовал среднему числу микроорганизмов, прикрепившихся к поверхности одного эритроцита, коэффициенту адгезии (КА), который представлял собой процент эритроцитов, имеющих на своей поверхности бактерии, и индексу адгезии микроорганизма (ИАМ), который рассчитывали по формуле:

$$ИАМ = \frac{СПА}{КА} \times 100\%$$

В зависимости от значений ИАМ все исследуемые штаммы бактерий были разделены на 4 группы:

- неадгезивные (ИАМ от 1,00 до 1,75);
- низкоадгезивные (ИАМ от 1,76 до 2,49);
- среднеадгезивные (ИАМ от 2,50 до 3,99);
- высокоадгезивные (ИАМ > 4,00).

Оценка адгезивных свойств исследуемых штаммов бактерий позволила установить, что по показателям ИАМ стандартный штамм *E. coli* ATCC 25922 характеризовался как низкоадгезивный (табл. 1). Клинические штаммы *E. coli* характеризовались различным уровнем адгезивной активности, который зависел от наличия гена *FimH*. Среди клинических штаммов, лишенных гена вирулентности *FimH*, по степени адгезии было выявлено две группы бактерий: штаммы *E. coli* №№ 7, 15, 16 характеризовались как низкоадгезивные, а штаммы *E. coli* № 3, 9, 14, 27, 32, 35 и 39 – как среднеадгезивные.

**Таблица 1.** Значения индекса адгезии микроорганизмов стандартного и клинических штаммов исследуемых бактерий

	Исследуемые микроорганизмы	Значения ИАМ
1.	<i>E.coli</i> ATCC25922	2,1±0,34
2.	<i>E.coli</i> № 3 <i>fimH</i> -	2,8±0,17*
3.	<i>E.coli</i> №7 <i>fimH</i> -	2,2±0,26*
4.	<i>E.coli</i> № 9 <i>fimH</i> -	2,96±0,8*
5.	<i>E.coli</i> № 14 <i>fimH</i> -	3,34±0,49*
6.	<i>E.coli</i> № 15 <i>fimH</i> -	1,86±0,06*
7.	<i>E.coli</i> № 16 <i>fimH</i> -	1,94±0,34*
8.	<i>E.coli</i> № 27 <i>fimH</i> -	2,72±0,07*
9.	<i>E.coli</i> № 32 <i>fimH</i> -	3,72±0,32*
10.	<i>E.coli</i> № 35 <i>fimH</i> -	2,62±0,12*
11.	<i>E.coli</i> № 39 <i>fimH</i> -	3,57±0,46*
12.	<i>E.coli</i> № 8 <i>fimH</i> +	5,04±1,14*
13.	<i>E.coli</i> № 12 <i>fimH</i> +	6,88±0,81*
14.	<i>E.coli</i> № 22 <i>fimH</i> +	7,0±0,93*
15.	<i>E.coli</i> № 28 <i>fimH</i> +	5,84±1,04*
16.	<i>E.coli</i> № 44 <i>fimH</i> +	4,28±0,34*
17.	<i>E.coli</i> № 45 <i>fimH</i> +	6,12±0,32*
18.	<i>E.coli</i> № 49 <i>fimH</i> +	6,02±0,38*
19.	<i>E.coli</i> № 62 <i>fimH</i> +	5,62±0,32*
20.	<i>E.coli</i> № 78 <i>fimH</i> +	7,22±0,54*
21.	<i>E.coli</i> № 86 <i>fimH</i> +	5,82±0,22*

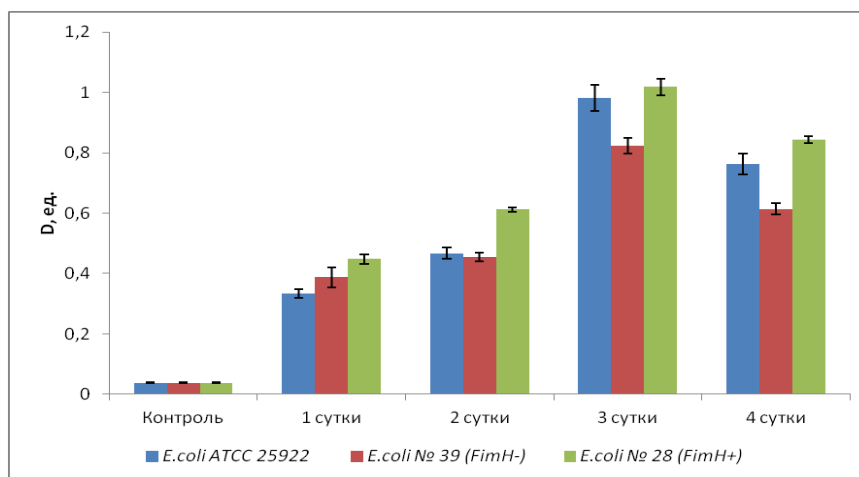
Примечание: – \* наличие достоверности при уровне значимости  $p < 0,05$  по отношению к контролю

Все исследованные клинические штаммы, имеющие в составе генома ген *FimH*, обладали высокой адгезивной активностью, поскольку значения ИАМ составляли от 4,28 до 7,22. Таким образом, установлены достоверные отличия адгезивной активности *E. coli* в зависимости от наличия гена вирулентности *fimH*.

Факторы адгезии обеспечивают прикрепление микробных клеток на поверхности, чем обусловлены процессы неспецифической адгезии и начальные этапы формирования микробных биопленок, что является одним из важнейших факторов вирулентности бактерий *E. coli*, вызывающих ИМВП у людей [11]. Изучение процесса формирования микробных биопленок в условиях *in vitro* стандартным и клиническими штаммами *E. coli*, отличающимися по наличию гена *fimH*, в лунках иммунологических планшетов позволило

установить, что значения, полученные во все периоды их культивирования достоверно превышали контрольные показатели.

Показано, что стандартный штамм *E. coli* ATCC 25922 увеличивал свою биомассу через 24 часа культивирования в 8,78 раз по сравнению с контролем, через 48 часов происходило достоверное увеличение связывания красителя в 1,4 раза по сравнению с показателями первых суток, через 72 часа – в 2,1 раза с последующим снижением к 4-м суткам в 1,28 раз (рис. 2).



**Рис. 2.** Динамика величин связывания кристаллического фиолетового микробными биопленками, образованными стандартным и клиническим штаммами *E. coli*

Величина интенсивности пленкообразования клиническим штаммом *E. coli* № 39 на 1-е сутки культивирования характеризовалась увеличением прироста биомассы в 10,18 раз по сравнению с контролем. На вторые сутки культивирования наблюдалось незначительное увеличение интенсивности связывания красителя в 1,17 раза по сравнению с предыдущими. На третьи сутки культивирования микробных биопленок происходило дальнейшее нарастание биомассы данного штамма и увеличение интенсивности связывания кристаллического фиолетового в 1,81 по сравнению с предыдущими сутками, однако на четвертые сутки культивирования происходило снижение в 1,34 раза, как и при культивировании стандартного штамма *E. coli* ATCC 25922.

Аналогичные результаты были получены при культивировании клинического штамма *E. coli* № 28, несущего ген вирулентности *fimH*: через 24 часа культивирования наблюдалось увеличение интенсивности связывания кристаллического фиолетового в 11,8 раза по сравнению с контролем, через 48 часов – в 1,37 раза по сравнению с предыдущими сутками, через 72 часа – в 1,66 раза с последующим снижением прироста биомассы через 96 часов в 1,21 раза.

Линейная динамика накопления красителя биопленками как стандартного, так и клинических штаммов *E. coli* с первых по третьи сутки

культивирования, вероятно, связана с последовательными стадиями ее созревания и дифференцировки, поскольку в этот период микробные клетки характеризуются продукцией неспецифических факторов адгезии и высокой метаболической активностью. Снижение интенсивности связывания красителя через 96 часов культивирования соответствует стадии дисперсии микробных биопленок *E. coli* ввиду дефицита питательных веществ при стационарном способе культивирования в условиях *in vitro*. Согласно полученным результатам наибольшая интенсивность связывания красителя всеми исследуемыми штаммами бактерий отмечалась через 24 часа культивирования. Кроме того установлено, что для клинического штамма *E. coli* № 28, несущего ген вирулентности *fimH*, эта способность была достоверно выше по сравнению с пленкообразующей способностью стандартного штамма *E. coli* ATCC 25922 в 1,34 раза и клинического штамма *E. coli* № 39 в 1,16 раза, у которых данный ген не был обнаружен.

Данные о существовании штаммов UPES, осуществляющих экспрессию гена *fimH*, обеспечивающих формирование микробных биопленок, приведены в работах [13, 19]. Одними из наиболее важных факторов вирулентности, способствующих как прикреплению к клеткам организма хозяина, так и формированию бактериальных

биоленок являются фимбрии (типа 1 и Р) [18]. Образование микробных биоленок играет ключевую роль в патогенезе ИМВП. Уропатогенные бактерии *E. coli* связываются с клетками мочевого пузыря через адгезин *fimH*, после чего УРЕС встраиваются в структуру клетки посредством эндоцитоза, что вызывает серию сигнальных эффектов, которые в конечном итоге проводят к интернализации бактерий и образованию биоленки [21].

Разработка мер по борьбе с микробными биоленками включает проведение мероприятий, обеспечивающих нарушение процессов неспецифической адгезии микроорганизмов. С этой целью могут быть применены полимерные соединения, которые, взаимодействуя с микробными клетками, влияют на их поверхностные структуры. Одним из перспективных полимерных соединений является ПААГ-М, который обладает широким спектром антимикробной активности и относится к IV классу токсичности, что делает его использование безопасным [5, 6].

Оценку влияния сублетальных концентраций ПААГ-М на процесс формирования микробных биоленок стандартным и клиническими штаммами *E. coli* проводили через 24 часа культивирования. Было установлено, что обработка лунок планшета полимером ПААГ-М приводило к нарушению процесса пленкообразования всех исследованных штаммов *E. coli*, особенно выраженное для клинического штамма, имеющего ген *FimH*. Так для стандартного штамма *E. coli* ATCC 25922 происходило снижение интенсивности связывания красителя в 2,97 раза, для клинического штамма *E. coli* № 39 – 1,97 раза, а для клинического штамма *E. coli* № 28 – в 4,26 раза по сравнению с контролем. Поскольку процесс неспецифической адгезии является обратимым, то эффективность пленкообразования будет зависеть от адгезивной активности микроорганизмов и качества поверхности, к которой они прикрепляются.

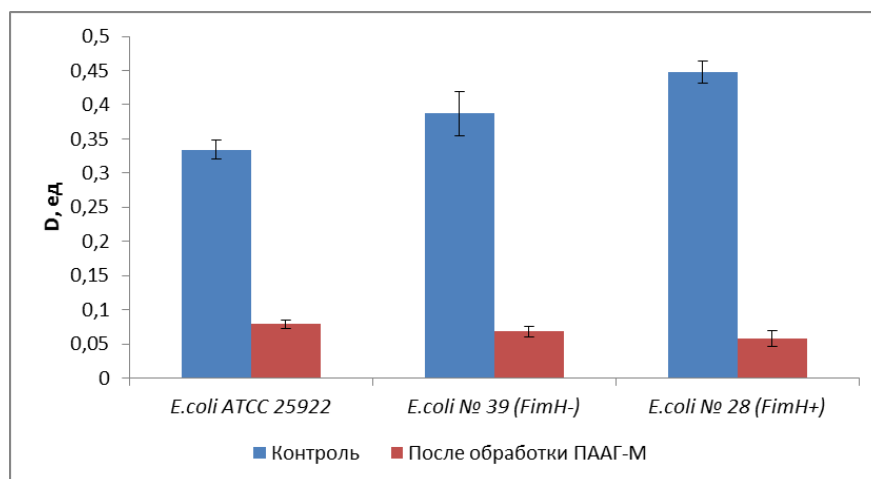


Рис. 3. Влияние ПААГ-М на процесс формирования микробных биоленок стандартным и клиническими штаммами *Escherichia coli*

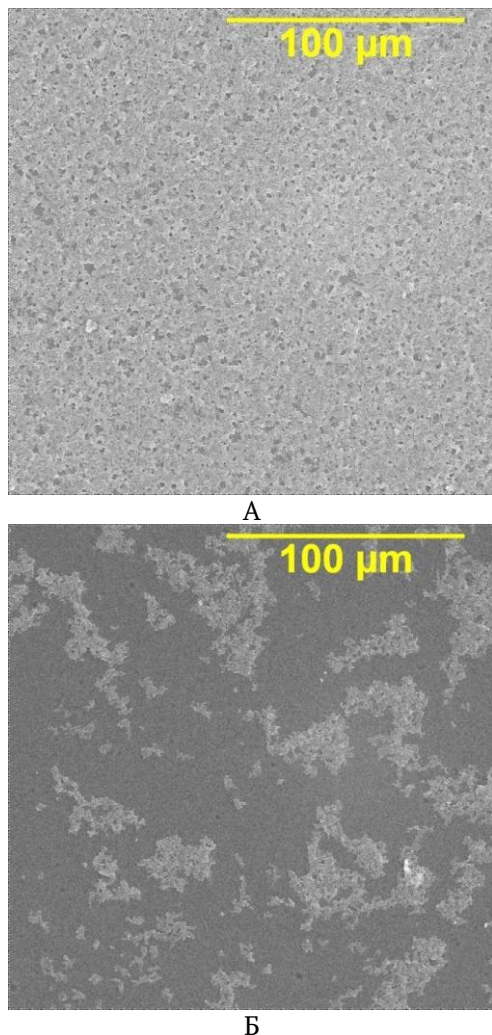
Адгезия к биологическим поверхностям, таким как клетки тканей, стенки сосудов, связана с взаимодействием фимбрий, белков наружной мембраны или лектинового компонента бактерий со специфическими рецепторами, которые имеются на поверхности цитоплазматической мембраны чувствительных клеток [1]. Степень адгезии к искусственным материалам зависит от их качества. Так, установлено, что наиболее интенсивно микробные биоленки формируются на изделиях из латекса, силикона, поливинилхлорида, а в меньшей степени – из тефлона, полиуретана, нержавеющей стали и титана [12]. Данные материалы находят широкое применение для изготовления изделий медицинского назначения, что повышает риск развития биоленочных инфекций. Поэтому на следующем этапе исследования нами была предпринята

попытка оценить влияние полимерного соединения ПААГ-М на процесс пленкообразования клинического штамма *E. coli* № 28 на фрагментах уретрального катетера, опытные образцы которого были обработаны 0,5 % раствором полимера. Было установлено, что микробные биоленки, сформированные на поверхности контрольных образцов катетера, имели сложную трехмерную структуру: клетки в них формировали многоклеточные слои, которые были покрыты интенсивно выраженным экзополимерным матриксом (рис. 4, А).

В массиве биоленки отмечалось наличие большого количества каналов, через которые осуществляется транспорт питательных веществ, продуктов метаболизма и сигнальных молекул. Обработка образцов уретрального катетера сублетальными концентрациями ПААГ-М способствовала



нарушению процесса адгезии микробных клеток на его поверхности: отмечали изолированные скопления микробных клеток вплоть до единичных, расположенные в один слой, между которыми наблюдались обширные участки свободной поверхности катетера, наблюдалось практически полное отсутствие экзополимерного матрикса (рис. 4, Б).



**Рис. 4.** Электронная микрофотография микробной биопленки клинических штаммов *E. coli* № 28: А – контроль, Б – после обработки ПААГ-М

**Выводы:** в ходе проведенных исследований было установлено, что наличие гена вирулентности *fimH* в геноме UPEC способствует повышению их адгезивной активности и способности формировать микробные биопленки. Предварительная обработка инертных поверхностей лунок иммунологического планшета и фрагментов уретрального катетера раствором ПААГ-М приводило к нарушению процесса пленкообразования на этапе неспецифической адгезии, поэтому исследуемое полимерное соединение может рассматриваться как эффективный антибиопленочный препарат для обработки изделий медицинского назначения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Афиногенова, А.Г. Микробные биопленки ран: состояние вопроса / А.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. 2011. № 3 (61). С. 119–125.
2. Брилис, В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер и др. // Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 210–212.
3. Глинская, Е.В. Инфекции мочевыводящих путей: возрастные и половые особенности / Е.В. Глинская, Б.М. Аль-Баяти, О.В. Нечаева и др. // Проблемы медицинской микологии. 2016. № 2, Т. 18. С. 54–55.
4. Маянский, А.Н. Патогенетическая микробиология. – Н. Новгород: НГМА, 2006. 520 с.
5. Нечаева, О.В. Комплексная оценка токсичности полимерного соединения, обладающего антимикробной активностью / О.В. Нечаева, Н.В. Веденеева, М.М. Вакараева и др. // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2016. Вып. 2, Т. 16. С. 160–164.
6. Нечаева, О.В. Антимикробная активность полиазолидинаммония, модифицированного гидратонами йода / О.В. Нечаева, Е.И. Тихомирова, Д.А. Заярский и др. // ЖМЭИ. 2015. № 3 С. 88–92.
7. Тец, В.В. Микроорганизмы и антибиотики. Инфекции кожи, мягких тканей, костей и суставов. – СПб.: КЛЕ-Т, 2006. 128 с.
8. Abass, S.K. Isolation of multi antibiotics resistance *E. coli* from UTI and the detection of *papC* and *FimH* virulence genes by PCR technique / S.K. Abass, M.R. Ali, S.H. Authman // Diyala Journal for Pure Sciences. 2014. Vol. 10, № 1. P. 112–127.
9. Agarwal, J. Pathogenomics of UPEC / J. Agarwal, S. Srivastava, M. Singh // Indian Journal of Medical Microbiology. 2012. Vol. 30, № 2. P. 141–149.
10. Al-Badr, A. Recurrent UTIs management in women: A review. / A. Al-Badr, G. Al-Shaikh // Sultan Qaboos University Medical Journal. 2013. Vol. 13, Issue 3. P. 359–367.
11. Anderson, G.G. Polysaccharide capsule and sialic acid-mediated regulation promotes biofilm-like IBCs during cystitis / G.G. Anderson, C.C. Goller, S. Justice // Infection and Immunology. 2010. Vol. 78. P. 963–975.
12. Darouiche, R.O. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence // Clin. Infect. Dis. 2001. V. 33(9).P. 1567–1572.
13. Fattahi, S. Relationship of biofilm formation and different virulence genes in UPEC isolates from Northwest Iran / S. Fattahi, H.S. Kafil, M.R. Nahai et. al. // GMS Hygiene and Infection Control. 2015. Vol. 10. P. 1–7.
14. Greene, S.E. Human urine decreases function and expression of type 1 pili in UPEC / S.E. Greene, M.E. Hibbing, J. Janetka et. al. // American Society for Microbiology. 2015. Vol. 6, Issue 4. P. 1–9.
15. Hojati, Z. Detection of *FimH* gene in UPEC strains isolated from patients with UTI / Z. Hojati, B. Zamanzad, M. Hashemzadeh et. al. // Jundishapur Journal of Microbiology. 2015. Vol. 8, № 2. P. 1–4.
16. Nasehi, L. CTX-M, TEM, and SHV Beta-lactamases in clinical isolates of *K. pneumoniae* isolated from Tehran, Iran / L. Nasehi, F. Shahcheraghi, V.S. Nikbin et. al.

- // Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2010. Vol. 13, № 3. P. 111-118.
17. Nor, N.S.M. Bacterial pathogens and antibiotic resistance patterns in children with UTI in a Malaysian tertiary hospital / N.S.M. Nor, N.A. Abu, M.A. Rashid et. al. // Medical Journal of Malaysia. 2015. Vol. 70, № 3. P. 153-157.
18. Oliveira, F.A. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of UPEC strains / F.A. Oliveira, K.S. Paludo, L.N. Arend et. al. // Genetic and Molecular Research. 2011. Vol. 10, № 4. P. 4114-4125.
19. Reisner, A. Type 1 fimbriae contribute to CAUTIs caused by *E. coli*. / A. Reisner, M. Maierl, M. Jörger et. al. // Journal of Bacteriology. 2014. Vol. 196, № 5. P. 931-939.
20. Reza, G. Phylogenetic background and virulence genes of *E. coli* isolates from coli septicemic and healthy broiler chickens in Iran / G. Reza, S. Masoud, S. Mahmood et. al. // Tropical Animal Health and Production. 2011. Vol. 43. P. 153-157.
21. Robino, L. Intracellular bacteria in the pathogenesis of *E. coli* UTI in children / L. Robino, P. Scavone, L. Araujo // Clinical Infectious Diseases. 2014. Vol. 59. P. e158-e164.
22. Salvatore, D.J. Treatment options for UTIs caused by ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumonia* / D.J. Salvatore, B.H. Resman-Targoff // Journal of Academic Hospital Medicine. 2015. Vol. 7, Issue 1. P. 1-4.
23. Schwan, W.R. Regulation of genes in UPEC // World Journal of Clinical Infectious Diseases. 2011. Vol. 1. P. 17-25.
24. Schwartz, D.J. Positively selected FimH residues enhance virulence during UTI by altering FimH conformation / D.J. Schwartz, V. Kalasa, J.S. Pinkner et. al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (PNAS). 2013. Vol. 110, № 39. P. 15530-15537.

### FEATURES OF FORMATION THE MICROBIAL BIOFILMS BY OPPORTUNISTIC STRAINS OF *ESCHERICHIA COLI* AND DEVELOPMENT THE WAYS OF FIGHT AGAINST THEM

© 2016 O.V. Nechayeva<sup>1</sup>, B.M. Al-Bayati<sup>2</sup>, E.V. Glinskaya<sup>2</sup>, V.Yu. Ulyanov<sup>3</sup>, M.M. Vakarayeva<sup>4</sup>, D.A. Zayarskiy<sup>5</sup>, E.I. Tikhomirova<sup>5</sup>, N.V. Bespalova<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Saratov State Medical University named after V.I. Razumovskiy

<sup>2</sup>Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevskiy

<sup>3</sup>Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics

<sup>4</sup>Chechen State University, Medical Institute

<sup>5</sup>Saratov State Technical University named after Yu.A. Gagarin

Polymerase chain reaction (PCR) has been used to define the *fimH* virulence gene, encoding the synthesis of type 1 fimbria in clinical uropathogenic strains of *E. coli*. However, it is demonstrated that the presence of this gene enhances the adhesion activity of the strains and provides activation to the film-formation process under in vitro conditions. It was shown that the pre-treatment of inert surfaces of immunological plates and fragments of urethral catheters at sublethal concentrations of polymer compound – poliazolidinammoniya modified hydrate ions of iodine; block the process of film formation in the early stages of non-specific adhesion.

Key words: *fimH* virulence gene, adhesive properties, bacteria, microbial biofilms, sublethal concentrations

Olga Nechaeva, Candidate of Biology, Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology.

E-mail: [olgav.nechaeva@rambler.ru](mailto:olgav.nechaeva@rambler.ru)

Mohammad Al-Bayati, Post-graduate Student

Elena Glinskaya, Candidate of Biology, Associate Professor

at the Plants Microbiology and Physiology Department

Vladimir Uliyanov, Doctor of Medicine, Senior Research

Fellow at the Department of Innovative Projects in

Neurosurgery and Vertebrology

Malika Varakaeva, Candidate of Biology, Assistant at

the Department of Normal and Pathological Physiology

Dmitriy Zayarskiy, Candidate of Technical Sciences,

Associate Professor at the Chemistry Department

Elena Tikhomirova, Doctor of Biology, Professor, Head

of the Ecology Department

Natalia Bespalova, Candidate of Physics and Mathematics,

Associate Professor at the Department of Informational

Security and Automation Systems