

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ
УРОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 421 группы

Направления 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Бабайловой Анастасии Владимировны

Научный руководитель

доцент кафедры микробиологии

и физиологии растений, к.б.н., доцент _____ Е.В. Глинская

Зав. кафедрой микробиологии

и физиологии растений, д.б.н., профессор _____ С.А. Степанов

Саратов 2017

Актуальность темы. Инфекции мочевых путей (ИМП) занимают второе место по распространенности среди заболеваний мочевыделительной системы человека [1]. ИМП ежегодно являются причиной 7 млн. посещений и более 1 млн. экстренных обращений к врачам. Эта группа заболеваний является лидирующей среди внутрибольничных инфекций, составляя около 40% от их общего числа. На лечение ИМП ежегодно тратится более 2 млрд. долларов. Распространенность ИМП в России составляет около 1000 случаев на 100000 населения в год [2].

Риск развития ИМП зависит от пола и возраста пациента, наличия сопутствующих заболеваний, а также патологических состояний мочевых путей. У женщин риск ИМП в 30 раз выше, чем у мужчин, это связано с особенностями анатомического строения мочеполовых органов [3].

К факторам риска, способствующим развитию ИМП, относятся пол, половая активность, возраст, завершение менопаузы, беременность, медицинские осложнения и наличие бактериальных инфекций. Несоблюдение личной гигиены также является фактором, способствующим развитию ИМП [4].

Инфекции мочевыводящих путей чаще всего имеют бактериальную этиологию. Несмотря на то, что в организме человека имеется множество механизмов защиты от инфекций мочевыводящих путей, включая регулярные полные опорожнения мочевого пузыря, некоторое количество остаточной мочи, задерживающейся в мочевом пузыре, является благоприятной средой для размножения обитающих там бактерий, которые и могут стать причиной развития инфекционного процесса [5].

Наиболее важным возбудителем ИМП является *Escherichia coli*, выявляемая примерно в 75-90% случаев заболевания.

В процессе эволюции эти бактерии приобрели ряд факторов, включая специфические белки адгезины, которые располагаются на конце белковых ворсинок (пилей, фимбрий), с помощью их происходит плотное прикрепление к уротелию мочевого пузыря.

Белки-адгезины повышают устойчивость к действию лекарственных препаратов, а также обеспечивают защиту от иммунологического ответа организма [6].

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось определение адгезивной активности уропатогенных микроорганизмов.

Для достижения указанной цели были определены следующие задачи.

1. Определить индекс адгезии уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*.

2. Изучить влияние наличия гена *fimH* на адгезивные свойства клинических штаммов *E. coli*.

Материал и методы исследования. Работа проводилась на кафедре микробиологии, иммунологии и вирусологии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского и на кафедре микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета Н. Г. Чернышевского в период с 2016 по 2017 гг.

В исследованиях использовали суспензию эритроцитов человека 0(I) Rh+ группы крови.

Объектом исследования были штаммы семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca* и штаммы семейства *Staphylococcaceae*: *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* из коллекции кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии СГМУ В. И Разумовского (таблица 1).

Таблица 1 - Объекты исследования

№	Возбудители	Количество штаммов
1.	<i>E. coli</i> ATCC 25922	1
2.	<i>Escherichia coli</i> №№ 1 – 20	20
3.	<i>Proteus mirabilis</i> №№ 1 – 10	10
4.	<i>Serratia marcescens</i> №№ 1 – 10	10
5.	<i>Klebsiella oxytoca</i> №№ 1 – 10	10
6.	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> №№ 1 – 10	10
7.	<i>Staphylococcus aureus</i> №№ 1 – 10	10

В экспериментах использовали суточную культуру микроорганизмов, выращенных при 37°C на плотной питательной среде на основе гидролизата рыбной муки (ГРМ-агар, Оболенск), суспензию эритроцитов человека 0(I) Rh+ группы крови, физиологический раствор (рН = 7,2), 96% этиловый спирт.

Адгезивную способность бактерий определяли при помощи метода Брилис с соавторами [7].

Для этого в пробирках смешивали по 0,5 мл взвеси исследуемых бактерий в концентрации 10⁹ м.к./мл в физиологическом растворе (рН = 7,2) и суспензию эритроцитов человека 0(I) Rh+ группы крови в концентрации 10⁸к./мл. Полученную смесь инкубировали при встряхивании на шейкере при температуре 37°C. После экспозиции в течение 30 минут готовили мазки, фиксировали 96% этиловым спиртом, окрашивали по методу Грама и исследовали в иммерсионной системе микроскопа.

Структура и объем работы. Работа изложена на 41 странице, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 2 рисунками. Список использованных источников 35 наименований.

Основное содержание работы

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о эпидемиологии уропатогенных бактерий, признаках и симптомах инфекций мочевых путей, уропатогенах вызывающих инфекции мочевыводящих путей, факторах вирулентности бактерий, вызывающих инфекции мочевыводящих путей, формировании биопленок уропатогенными бактериями.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные оценки адгезивной способности уропатогенных микроорганизмов.

Было установлено, что все используемые штаммы уропатогенных микроорганизмов обладали адгезивными способностями.

Для бактерий вида *E. coli* индекс адгезии варьировал от 1,86 до 7,22. Максимальный показатель был выявлен у штамма *E. coli* № 12, а минимальный у штамма *E. coli* № 5. Среднеадгезивными штаммами по показателю индекса адгезии были выявлены бактерии *E. coli* №№ 3, 4, 7, 8, 9, 10. Высокоадгезивными штаммами по значению индекса адгезии являлись бактерии *E. coli* №№ 11 – 20. Штаммы *E. coli* №№ 5, 6. по значению индекса адгезии были определены, как низкоадгезивные.

Стандартный штамм *Escherichia coli* ATCC 25922 по значению индекса адгезии микроорганизмов являлся низкоадгезивным.

Другие штаммы *Enterobacteriaceae*, такие как *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* и *Klebsiella oxytoca* имели более низкий показатель ИАМ и характеризовались как среднеадгезивные.

Индекс адгезивной активности у штаммов *Proteus mirabilis* варьировал от 1,92 до 4,04. Наименьший показатель был у штамма № 5, а наибольший у штамма № 7. Средний показатель индекса адгезии был выявлен у штаммов №№ 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10.

Индекс адгезивной активности варьировал в пределах от 1,84 до 4,03. Индекс адгезии штаммов *Klebsiella oxytoca* №№ 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10

был определен как среднеадгезивный. Низкоадгезивный показатель индекса адгезии был у штамма № 7.

Среди микроорганизмов семейства *Staphylococcaceae*: *Staphylococcus saprophyticus* и *Staphylococcus aureus* по индексу адгезии определялись как среднеадгезивные.

Индекс адгезивной активности у штаммов *Staphylococcus saprophyticus* варьировал в пределах от 1,37 до 4,02. Наименьший показатель был у штамма № 3, а наибольший у штамма № 9. Средний показатель индекса адгезии был выявлен у штаммов № 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10.

Индекс адгезивной активности у штаммов *Staphylococcus aureus* варьировал от 1,64 до 4,12. Наименьший показатель был у штамма № 7, а наибольший у штаммов № 2, 8. Средний показатель индекса адгезии был выявлен у штаммов № 1, 3, 4, 5, 6, 9, 10.

Бактерии вида *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* по показателям ИАМ характеризовались как среднеадгезивные, а бактерии вида *E. coli*, как высокоадгезивные.

Представляло интерес изучить влияние гена *fimH* на адгезивную способность стандартного и клинических штаммов *E. coli*, выделенных от больных с признаками ИМП.

В исследованиях использовали стандартный штамм *E. coli* ATCC 25922, а также 20 клинических штаммов, выделенных от больных с признаками ИМП и отличающихся по наличию гена *fimH*.

Оценка адгезивных свойств исследуемых штаммов бактерий позволила установить, что стандартный штамм *E. coli* ATCC 25922 по показателям ИАМ характеризовался как низкоадгезивный.

E. coli характеризовались различным уровнем адгезивной активности, который зависел от наличия гена *fimH*. Среди клинических штаммов, лишенных гена *fimH*, по степени адгезии было выявлено две группы бактерий: штаммы *E. coli* №№ 1, 2, 5, 6, которые были лишены гена *fimH*

характеризовались как низкоадгезивные, а штаммы *E. coli* у которых присутствовал ген вирулентности №№ 11-20 характеризовались как высокоадгезивными.

Все исследованные клинические штаммы, имеющие в составе генома ген *fimH*, обладали высокой адгезивной активностью, поскольку значения ИАМ составляли от 4,04 до 7,93 (рисунок 1).

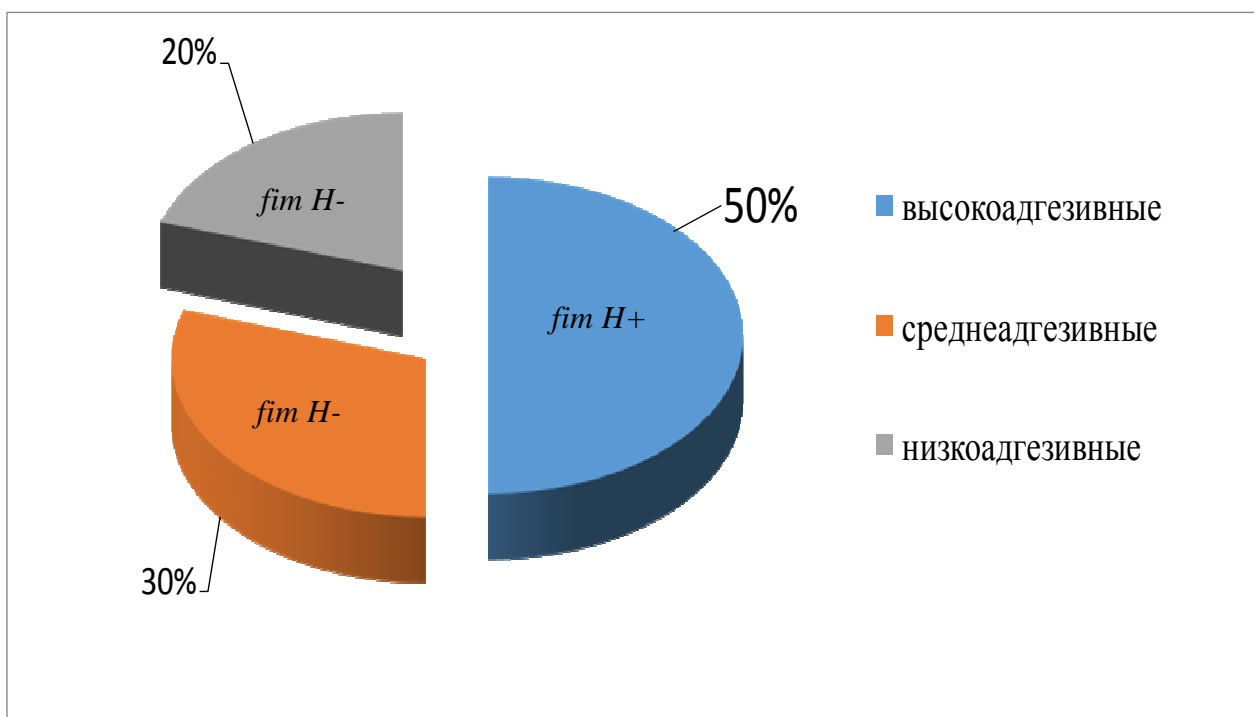


Рисунок 1 – Характеристика штаммов *E. coli* по показателю адгезии и наличию гена *fimH*

Таким образом, установлено, что ген *fimH* отвечает за синтез пилей I типа, который усиливает степень адгезии уropатогенных штаммов *E. coli*.

Полученные результаты имеют практическую ценность, так как было установлено, что уropатогенные *E. coli*, которые имеют плазмидный ген *fimH*, обладают более высокой адгезивной активностью, это являются основанием для разработки мероприятий по повышению эффективности лечения инфекций мочевыводящих путей при оказании медицинской помощи.

Выводы

1. Установлена адгезивная активность уропатогенных бактерий. Штаммы *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* характеризовались как среднеадгезивные, а штаммы *Escherichia coli* характеризовались как средне- и высокоадгезивные по показателю ИАМ.

2. Впервые установлена взаимосвязь наличия гена *fimH*, детерминирующего синтез пилей 1 типа, с увеличением адгезивной активности уропатогенных штаммов *E. coli*, которые по показателям индекса адгезии микроорганизмов характеризовались как высокоадгезивные (4,28 - 7,22).

Список использованных источников

1. Naber, K. G. Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a meta-analysis / K. G. Naber, C. Yong-Hyun, T. Matsumoto, A. J. Schaeffer // International Journal of Antimicrobial Agents. 2009. №33. P. 111-119.
2. Иремашвили, В. В. Инфекции мочевыводящих путей: современный взгляд на проблему / В. В. Иремашвили // Русский медицинский журнал. 2007. №29. С. 2231-2236.
3. Супрун, Э. В. Лечение инфекций мочевыводящих путей в соответствии с обновленными рекомендациями Европейской ассоциации урологов / Э. В. Супрун // Человек и лекарство-Казахстан. 2014. №12. С. 86-91.
4. Плеханов, А. Н. Инфекция мочевых путей: эпидемиология, этиология, патогенез, факторы риска, диагностика / А. Н. Плеханов, А. Б. Дамбаев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук. 2016. № 1 (107). С. 70-74.
5. http://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological_infections_LR2.pdf
(Дата обращения: 15.03.2017)
6. Попов, С. В. Этиотропная терапия острого неосложненного пиелонефрита / С. В. Попов // Урология. 2013. № 18. С 931-935.
7. Брилис, В. И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Брилис, Т. А. Брилене, Х. П. Ленцнер, А. А. Ленцнер // Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 210-212.