

ной устойчивостью к действию сыворотки крови и повышенной биопленкообразующей способностью в сравнении с немуккоидными штаммами, что в целом согласуется с литературными данными. Заслуживает отдельного внимания обнаружение одного гипермукоидного штамма *K. pneumoniae*, сочетающего в себе признаки гипервирулентности и экстремальной антибиотикорезистентности (устойчивость ко всем тестируемым антибиотикам, продукция карбапенемазы ОХА-48). Направлением дальнейших исследований будет поиск генетических маркеров высокой вирулентности у штаммов *K. pneumoniae* с выявленным гипермукоидным фенотипом.

Литература

1. Bialek-Davenet S., Criscuolo A., Ailloud F. et al. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(11): 1812-1820.
2. Turton J.F., Perry C., Elgohari S., Hampton C.V. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59: 541-547.
3. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.* 2007; 115(8): 891-899.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ БИОПЛЁНОЧНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТАХ

Лагун Л.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Одним из факторов патогенности микроорганизмов является образование биопленок. С их образования также начинается развитие любой инфекции, в том числе и инфекции мочевыделительной системы, в частности пиелонефрита [1, 2]. Для практической медицины особенно важно, что бактерии в биопленках обладают повышенной выживаемостью в присутствии факторов иммунной защиты макроорганизма и антибактериальных препаратов [3]. Таким образом, существование биопленок при инфекциях требует совершенно новых подходов к их диагностике и лечению, в том числе исследование антибиотикорезистентности биопленочных бактерий и изучение причин устойчивости бактерий к антибиотикам в биопленках.

Цель. Изучить антибиотикорезистентность биопленочных бактерий, выделенных при пиелонефритах.

Материалы и методы исследования. В исследование включено 135 клинических изолятов (69 – *E. coli*, 56 – *P. aeruginosa*, 10 – *K. pneumoniae*), выделенных из мочи пациентов с острым и хроническим пиелонефритом. Все пациенты находились на стационарном лечении в урологическом и детском нефрологическом отделениях Гомельской областной клинической больницы.

Определение чувствительности исследуемых штаммов бактерий к антибиотикам проводили методом серийных разведений в агаре. Контроль качества определения антибиотикочувствительности проводился с использованием контрольных штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853. Для количественного учета интенсивности пленкообразования из суточных культур готовили суспензии с оптической плотностью 0,5 МакФарланд, вносили в пробирки эппендорф с бульоном. После инкубации культуру удаляли, вносили в них по 1 мл 1% раствора генцианвиолета (ГЦВ). Удалив раствор ГЦВ из эппендорфов, для экстракции краски из биопленки вносили по 1 мл 96% этанола. Далее готовили контрольные образцы (спиртовые растворы ГЦВ с концентрацией 2, 10, 25 и 50 мг/л). Контрольные и опытные образцы вносили в лунки 96-луночного планшета; измерение концентраций ГЦВ проводили на иммуноферментном анализаторе АИФ-М/340, длина волны 570 нм.

Результаты. Проводя количественную оценку интенсивности формирования биопленок уропатогенами выявили, что все клинические изоляты *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* обладали выраженной способностью к образованию биопленок. Для изолятов *E. coli* концентрации кристаллического фиолетового в отмывочных растворах находились в диапазоне 3,35-17,11 мг/л, *K. pneumoniae* – 4,45-18,79 мг/л, *P. aeruginosa* – 3,36-56,0 мг/л.

На основе данных пленкообразующей активности возбудителей пиелонефритов определены средние значения ($M \pm m$) массы красителя для исследуемых микроорганизмов: *E. coli* – $6,50 \pm 0,34$, *K. pneumoniae* – $9,49 \pm 1,5$, *P. aeruginosa* – $18,25 \pm 1,15$. Выявлены ряд штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* с максимальной и минимальной биопленкообразующей способностью. У исследуемых штаммов проанализировали профили антибиотикорезистентности для выявления взаимосвязи между способностью штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* к пленкообразованию и антибиотикорезистентностью (табл. 1-2).

Штаммы *E. coli*, *P. aeruginosa* с максимальной биопленкообразующей способностью обладают сочетанной устойчивостью ко многим, чаще 6-7 антибиотикам. В отношении штаммов *K. pneumoniae* с максимальной пленкообразующей способностью антибактериальные

препараты более активны – профили резистентности имели место только к 4 антибиотикам.

Таблица 1. – Профили антибиотикорезистентности штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* с максимальной биопленкообразующей способностью

<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*
17,11	ASCFGP	18,79	ACFG	56,0	ZFGPIR
16,16	ACZFGP	14,13	AKCG	38,83	ZFGMPI
13,21	AKCZG	13,65	ASZP	34,95	ZGPIR
11,38	ACZG			29,58	ZFGM-
				27,81	ZFGMPI

Примечание – * Буква= резистентный или умеренно устойчивый штамм; А=амоксциллин, К=амоксциллин/ клавуланат, S=ампициллин/ сульбактам, С=цефотаксим, Z=цефтазидим, F=цефепим, G=гентамицин, М=амикацин, Р=ципрофлоксацин, I=имипенем, R=меропенем

Таблица 2. – Профили антибиотикорезистентности штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* с минимальной биопленкообразующей способностью

<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*
3,35	A	4,45	AG	3,36	GMP
3,41	ACG	5,06	AC	3,32	ZFG
3,42	AG	5,20	A	5,40	GP
3,49	ACZ			7,19	ZGPI
3,53	AZ				
3,73	AKCG				
3,81	-				
3,87	-				
4,07	P				
4,10	ACZ				

Примечание – * Буква= резистентный или умеренно устойчивый штамм; А=амоксциллин, К=амоксциллин/ клавуланат, С=цефотаксим, Z=цефтазидим, F=цефепим, G=гентамицин, М=амикацин, Р=ципрофлоксацин, I=имипенем

Клинические изоляты *E. coli* с минимальной биопленкообразующей способностью зачастую устойчивы к 1-3 антибиотикам, реже – к 4 препаратам; в некоторых случаях такие штаммы *E. coli* не имели устойчивости к антибактериальным препаратам. В отношении же штаммов *K. pneumoniae* с минимальной биопленкообразующей

способностью отмечена устойчивость к 1-2 антибиотикам, *P. aeruginosa* – к 2-4 антибиотикам.

Выводы. Установлено, что *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* с максимальной пленкообразующей активностью более устойчивы к антибиотикам, чем штаммы с минимальной способностью формировать биопленки. Таким образом, способность к формированию биопленки обеспечивает возбудителям пиелонефритов повышение устойчивости к антибиотикам, требует пересмотра принципов терапии хронических инфекций мочевыделительной системы с внедрением методов, направленных на предотвращение формирования или разрушение уже сформированной биопленки.

Литература

1. Update on biofilm infections in the urinary tract / P. Tenke [et al.] // World Journal of Urology. – 2012. – Vol. 30. – P. 51-57.

2. Hatt, J.K. Role of bacterial biofilms in urinary tract infections / J.K. Hatt, P.N. Rather // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2008. – Vol. 322. – P. 163-192.

3. Чеботарь, И.В. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И.В. Чеботарь, А.Н. Маянский и др. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51-58.

ПРИМЕНЕНИЕ 3D-СКАНИРУЮЩЕЙ ЛАЗЕРНОЙ РАМАНОВСКОЙ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Медведь А.В.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Беларусь
Кафедра материаловедения и ресурсосберегающих технологий

Актуальность. В последние годы конфокальный лазерный сканирующий микроскоп (LSM) стал широко признанным исследовательским инструментом.

LSM применяется в биологии и медицине преимущественно с использованием флуоресцентных методов. Другая важная область применения – материаловедение, где особенно часто строится изображение с высоким контрастом и пространственным разрешением в отраженном лазерном свете. Четкие конфокальные изображения обеспечивают эффективный путь обнаружения дефектов в полупроводниковых материалах [1].

В обычной микроскопии получение изображения объекта происходит одновременно для всех точек образца. В противоположность