

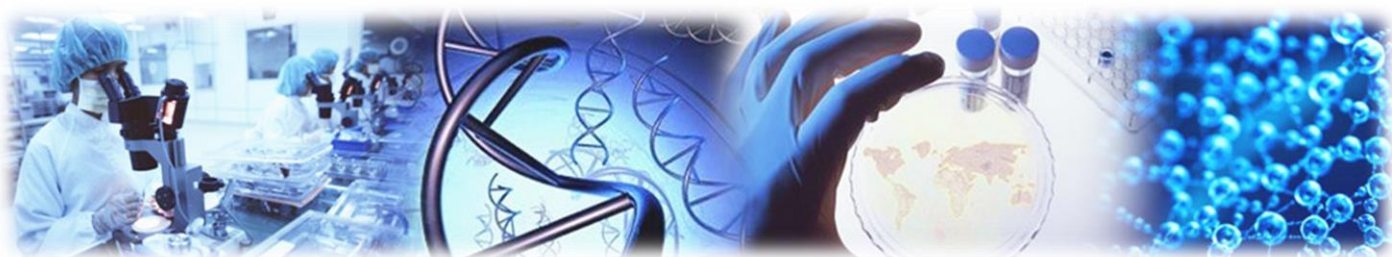
**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования**

**«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»**

Министерства здравоохранения Российской Федерации



**МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-
ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
АСПЕКТЫ МИКРОБИОЛОГИИ
В НАУКЕ И ОБРАЗОВАНИИ»**



Рязань, 2022

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования**

**«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»**

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра микробиологии

МАТЕРИАЛЫ

**МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ**

**«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ
МИКРОБИОЛОГИИ В НАУКЕ И ОБРАЗОВАНИИ»**

25-26 мая 2022 года

Рязань, 2022

УДК 576.8(071)

ББК 28.4

М341

Редакционная коллегия:

Евдокимова О.В. – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России;

Новак А.И. – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России;

Котелевец Е.П. – ассистент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

М341 Материалы международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты микробиологии в науке и образовании» / Под ред. О.В. Евдокимовой, А.И. Новак, Е.П. Котелевец; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань, 2022. – 202 с.

ISBN 978-5-8423-0221-5

Сборник научных статей составлен по материалам докладов участников международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты микробиологии в науке и образовании», проходившей 25-26 мая 2022 года на базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Организаторы конференции: кафедра микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России; ГБУ РО «Консультативно-диагностический центр», г. Рязань.

Сборник рекомендован к изданию решением Научно-планового совета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России от 09.06.2022 г., протокол № 10.

Материалы публикуются в авторской редакции.

УДК 576.8(071)

ББК 28.4

ISBN 978-5-8423-0221-5

©ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МИКРОБИОЛОГИИ.....9

<i>Абдрахманов М.Д.</i> ВЫЯВЛЕНИЕ И ОХВАТ ФЛЮОРОГРАФИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЕМ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ПО КОНТИГЕНТАМ ВОСТОЧНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ.....	9
<i>Вохмянина Г.А., Прощенко Д.А., Гаврилова К.А.</i> ВЛИЯНИЕ COVID-19 НА СИСТЕМУ «МАТЬ-ПЛОД».....	10
<i>Гальперина А.Р.</i> АПРОБАЦИЯ НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ АКСЕНИЧНЫХ КУЛЬТУР ЦИАНОБАКТЕРИЙ	11
<i>Годовалов А.П., Карпунина Т.И.</i> ВОЗМОЖНОСТИ ОПТИМИЗАЦИИ АНАЛИЗА ДАННЫХ МЕТАГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ 16S рНК В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ.....	13
<i>Данилин А.А., Карташова С.А.</i> АНАЛИЗ РЕЗИСТЕНТНОСТИ S. AUREUS	15
<i>Жураева Р.Н., Зайнитдинова Л.И., Эргашев Р.Б.</i> ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ НА СОХРАННОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ	18
<i>Зайнитдинова Л.И., Лазутин Н.А., Жураева Р.Н., Мавжудова А.М., Хегай Т.Б.</i> СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА МИКРООРГАНИЗМАМИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РАСТЕНИЯ....	20
<i>Коробов В.П., Кононова Л.И., Полюдова Т.В.</i> АНАЛИЗ ЛИПИДНОГО СОСТАВА БАКТЕРИЙ STARNYLOCOCCUS СОНПІ ВКМ-3165 НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПЕРИОДИЧЕСКОГО РОСТА	23
<i>Кобелькова И.В., Коростелева М.М., Кобелькова М.С.</i> РОЛЬ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА В ОБЕСПЕЧЕННОСТИ СПОРТСМЕНОВ НЕКОТОРЫМИ ВИТАМИНАМИ	26
<i>Кобелькова И.В., Коростелева М.М., Кобелькова М.С.</i> РОЛЬ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ В МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА СПОРТСМЕНОВ	28
<i>Кобелькова И.В., Коростелева М.М., Кобелькова М.С.</i> СУТОЧНЫЕ КОЛЕБАНИЯ АКТИВНОСТИ МИКРОБИОМА: СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЗМОМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ	30
<i>Комиссарова А.А., Новак А.И.</i> ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ СЛИЗИ УЛИТОК ASHATINA FULICA.....	31
<i>Кузиева Н.Х., Абдулмянова Л.И.</i> АНТИКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА.....	34
<i>Мистерова А.В.</i> КОНСТРУИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ВЕКТОРА НА ОСНОВЕ ПРОМОТОРА ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТ ДЕГИДРОГЕНАЗЫ PICHIA PASTORIS ..	37
<i>Митина О.П., Гусева Т.М., Канина И.В.</i> АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОСНОВНЫХ ПАТОГЕНОВ ПАЦИЕНТОВ УРОНЕФРОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ	40
<i>Мишутина М.В., Мартынов М.А., Канина И.В.</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РУК В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ	42

<i>Николаева О.Н.</i> ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СИНБИОТИКА.....	43
<i>Оборин Д.А., Карпунина Т.И., Годовалов А.П.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОГО СПЕКТРА ГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА МУЖЧИН ПРИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	45
<i>Подставкина А.В., Воропаева О.В., Борисова Г.Г., Малева М.Г.</i> ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СИНТЕЗ ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ ОРХИДНЫХ.....	47
<i>Приходько Я.В., Дрик М.А., Дегтярева Е.И.</i> ОЦЕНКА МИКРОФЛОРЫ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ.....	51
<i>Сидоренко О.Д., Жукова Е.В.</i> ВОЗМОЖНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛАКТОБАКТЕРИЙ КАК КОРРЕКТОРОВ НАРУШЕНИЙ МИКРОБНО-ТКАНЕВОГО КОМПЛЕКСА КИШЕЧНИКА.....	53
<i>Сидорова Д.Е., Падий Д.А., Плюта В.А., Хмель И.А.</i> БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП	55
<i>Цейко З.А., Тапальский Д.В.</i> МОДИФИКАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД КАК СПОСОБ УСКОРЕНИЯ РОСТА КОЛОНИЙ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	57
<i>Чащина В.И., Проценко Д.А., Копосова О.В.</i> ВЛИЯНИЕ ДИЕТЫ НА КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА	59
<i>Черепанов Л.В., Рыженков М.В., Проценко Д.А.</i> ОПЫТ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ В ОТНОШЕНИИ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	60
СЕКЦИЯ 2. ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ	65
<i>Алибеккызы А., Косаева С.Б., Рахимжанова Ф.С., Кайрханова Ы.О., Акашева С.А.</i> ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ В ВОСТОЧНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2019-2021 ГОД	65
<i>Богомазова А.Н., Крылова Е.В., Гордеева В.Д., Тимофеева И.А., Путинцева А.В., Кирсанова Н.А., Прасолова О.В., Иванова О.Е., Солтынская И.В.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТАГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ, СОБРАННЫХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ АПК, ДЛЯ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЙ В РАМКАХ ВЕТЕРИНАРНОГО МОНИТОРИНГА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ.....	66
<i>Воробьева Е.Д., Макавчик С.А.</i> АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>	69
<i>Гринев А.Б., Андгуладзе И.Г., Фокина Н.Ю.</i> ПРОБЛЕМА ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ МАЛЯРИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ NESTED PCR. ОБЗОР СЛУЧАЕВ И ПУТИ РЕШЕНИЯ	71
<i>Дубинина М.С., Болдина Н.В.</i> ВНЕБОЛЬНИЧНАЯ ПНЕВМОНИЯ, ВЫЗВАННАЯ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> : СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ.....	73

<i>Енсебаева Ж.С., Кыдырмолдаева К.Б., Нургазин А.Ж., Магзумов Ж.Б., Мусабиев А.И., Ерланулы М.Е.</i> ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, СОДЕРЖАЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ	75
<i>Калашишникова В.А.</i> АНАЛИЗ СПЕКТРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФЛОРЫ ПРИ ПНЕВМОНИЯХ У ОБЕЗЬЯН, СОДЕРЖАЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ	78
<i>Канина И.В.</i> К ВОПРОСУ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ТОКСОКАРОЗА НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.....	81
<i>Колесова Ю.В., Теплюк Н.П., Тоцаков С.В., Вартанова Н.О., Леонова А.Ю.</i> ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ МИКРОБИОМА КОЖИ ПРИ АУТОИММУННОЙ ПУЗЫРЧАТКЕ.....	84
<i>Коробова А.А., Чуприна Л.А., Абрамова К.И., Капитанова Л.Э.</i> НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ОТ COVID-19	86
<i>Ляцук Ю.О., Новак А.И.</i> ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СОКА И МАСЛА MELISSA OFFICINALIS L.....	89
<i>Метельская В.А., Гречишников О.Г.</i> ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ КАК СКРИНИНГОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ У ЧЕЛОВЕКА	94
<i>Моисеева К.А., Сухинин А.А., Макавчик С.А.</i> ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИЗОЛЯТОВ CLOSTRIDIUM PERFRINGENS С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДОВ	96
<i>Муллаярова И.Р.</i> ЭПИЗООТОЛОГИЯ ЛАРВАЛЬНОГО ЭХИНОКОККОЗА.....	99
<i>Степанян С.А., Телякова В.И., Прощенко Д.А.</i> АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕТЕЙ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВАКЦИНАЦИИ ЗА ПЕРИОД 2017–2021 ГГ.....	102
<i>Турегалиева А.У., Рахимжанова Ф.С.</i> УРОВЕНЬ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ НАСТОРОЖЕННОСТИ ВРАЧЕЙ АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЗВЕНА.....	104

СЕКЦИЯ 3. МИКРОБИОЛОГИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ БИОТИЧЕСКОЙ И АБИОТИЧЕСКОЙ СРЕДЫ.....105

<i>Артиомов Л.И.</i> ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПИЩЕВУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ	105
<i>Бардак М.В., Будагова Т.Ю., Самков А.А., Волченко Н.Н., Худокормов А.А.</i> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ БРОМИСТОГО ЭТИДИЯ В ОТНОШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ АНТИБИОТИКАМ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОТКРЫТОГО ВОДОЁМА.....	108
<i>Вагнер Е.Н., Сидорова Д.Е., Плюта В.А., Хмель И.А.</i> ДЕЙСТВИЕ МИКРОБНЫХ ЛЕТАЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА QUORUM SENSING СИСТЕМУ РЕГУЛЯЦИИ БАКТЕРИЙ.....	110
<i>Гусева Т.М., Коноплева В.И., Стегачева А.Е., Колесова Е.О.</i> ОЦЕНКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРОБИОТЫ КНИГ К АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ	113
<i>Зубкова Т.В., Виноградов Д.В.</i> ВЛИЯНИЕ ДЕФЕКТА НА ПОЧВЕННУЮ БИОТУ ЧЕРНОЗЁМОВ.....	114

<i>Индоиту Д.Д.</i> АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ МИКРОБИОМА ЧЕРНОЗЁМА ТИПИЧНОГО	117
<i>Кадырова Г.Х., Абдуллаев А.А.</i> РИЗОБАКТЕРИИ – АКТИВНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ ПШЕНИЦЫ (<i>Triticum aestivum</i> L.)	120
<i>Козинская Л.К., Мирхамитова Д.Х., Нурмонов С.Э., Мавлоний М.И.</i> ИНГИБИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ИНДОЛПРОИЗВОДНЫХ ДИБЕНЗО-18-КРАУН-6 К БИОКОРРОЗИИ НЕФТЯНОГО ОБОРУДОВАНИЯ	123
<i>Кондрашева К.В., Гулямова Т.Г., Суярова Р.А., Тожиев Б.Б.</i> ВЛИЯНИЕ NACL НА ПРОДУКЦИЮ ИНДОЛ-3 УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ЭНДОФИТНЫМИ ГРИБАМИ, АССОЦИИРОВАННЫМИ С РАСТЕНИЯМИ-ГАЛОФИТАМИ	125
<i>Котелевец Е.П.</i> АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ПУТЕШЕСТВЕННИКОВ.....	128
<i>Лазутин Н.А., Зайнитдинова Л.И., Мавжудова А.М., Хегай Т.Б., Эргашев Р.Б.</i> СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДИНАМИКИ РОСТА И РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ГОРОДСКИХ ПОЧВАХ.....	130
<i>Мартыненко Е.С.</i> РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФОРМ ЖЕЛЕЗО- И МАРГАНЕЦОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ СВЯЗАННЫХ С КОНКРЕЦИЯМИ ПО ПОЧВЕННЫМ ГОРИЗОНТАМ.....	133
<i>Медведева А.Д., Ким А.В., Богатыренко Е.А.</i> ИЗУЧЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЯПОНСКОГО МОРЯ, И АНАЛИЗ НАЛИЧИЯ У НИХ МАРКЕРНЫХ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ДЕСТРУКЦИЮ Н-АЛКАНОВ И ПАУ	134
<i>Миндубаев А.З. , Бабынин Э.В.</i> ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ТОКСИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА ГРИБАМИ АСПЕРГИЛЛАМИ.....	137
<i>Мыськова В.А.; Новак А.И.</i> ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ И ИНВАЗИЙ ПРИ ФЕКАЛЬНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВ НА ТЕРРИТОРИИ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ.....	140
<i>Назаров Ж.С.Э.</i> ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ОТКРЫТЫХ ВОДОЁМОВ БУХАРСКОГО РЕГИОНА ПРИ ПОМОЩИ ПЕРИФИТОНА...	143
<i>Окунев Н.Д.</i> ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ОБЪЕКТОВ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ.....	146
<i>Пархоменко А.Н., Умбеткалиева А.А.</i> МИКРОБИОЛОГИЯ ПИТЬЕВОЙ БУТИЛИРОВАННОЙ ВОДЫ.....	147
<i>Супрун И.В., Мелконян К.К., Табачникова А.А., Волченко Н.Н.</i> ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВОДОЁМОВ ГОРОДА КРАСНОДАР ЗА 2020-2021 ГГ.....	149
<i>Трефилова Л.В.</i> БИОИНДИКАЦИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ ПО СОСТОЯНИЮ ПЕДОБИОТЫ Г. КИРОВА	151
<i>Усманкулова А.А., Кадырова Г.Х.</i> ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ Ni ²⁺ НА ФАЗЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ БАКТЕРИЙ	153
<i>Фрунзе Н.И., Индоиту Д.Д., Тону Н.И.</i> ПРОКАРИОТЫ ЧЕРНОЗЕМА ТИПИЧНОГО МОЛДОВЫ.....	154

Хусанов Т.С., Кадырова Г.Х., Абдуллаев А.К., Атаджанова Ш.Ш., Нармухаммедова М.К. АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)..... 157

Хусанов Т.С., Нармухаммедова М.К., Жумаёров Ш.И. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ФИТОПАТОГЕНОВ В ИНТЕНСИВНОМ ЯБЛОНЕВОМ САДУ 160

Чердакова А.С., Гальченко С.В., Ситкина Н.А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МИКРОБИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ НЕФТЕПРОДУКТАМИ 163

Шеховцова Н.Н., Холошненко А.В. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СКЛАДИРОВАНИЯ ТВЕРДЫХ КОММУНАЛЬНЫХ ОТХОДОВ НА ЗЕМЛИ СЕЛЬХОЗНАЗНАЧЕНИЯ ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ..... 164

СЕКЦИЯ 4. ТРАДИЦИОННЫЕ И ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРЕПОДАВАНИИ МИКРОБИОЛОГИИ..... 168

Алексеева С.М., Дансарунова О.С. ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В АГРАРНОМ ВУЗе 168

Воронков Т.А. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ТЕМЫ «АНТИБИОТИКИ» СТУДЕНТАМИ 2 КУРСА ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА 170

Головина Н.А., Канина И.В.; Евдокимова О.В. ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ АКТИВНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ОСВОЕНИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ НА КАФЕДРЕ МИКРОБИОЛОГИИ..... 172

Евдокимова О.В., Котелевец Е.П. ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ «СПЕЦИАЛИСТ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ»: ВЕКТОР РАЗВИТИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ..... 173

Круглова А.П., Фирсин И.Д., Егорова Н.А. РАЗРАБОТКА УЧЕБНОГО ЛАБОРАТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА В КУРСЕ ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ..... 175

Назаров Ж.С.Э. ЭФФЕКТИВНОСТЬ УСВОЕНИЯ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ПОМОЩИ ИНТЕРАКТИВНЫХ МЕТОДОВ 178

Санкин А.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИСТАНЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МЕЖВУЗОВСКОЙ АКАДЕМИЧЕСКОЙ МОБИЛЬНОСТИ 181

СЕКЦИЯ 5. МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В РЕШЕНИИ АКТУАЛЬНЫХ ВОПРОСОВ МИКРОБИОЛОГИИ..... 183

Епифанов Н.Ю., Морозов А.М., Рачек А.М., Стаменкович А.Б. АНАЛИЗ МИКРОФЛОРЫ ПАЛАТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ..... 183

Козловская Л.В., Кармалькова Е.А. СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЗМА ДЕТЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ АФТОЗНОМ СТОМАТИТЕ..... 185

Полетаев Д.А., Соколенко Б.В. ПРИМЕНЕНИЕ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ..... 187

Рачек А.М., Морозов А.М., Епифанов Н.Ю., Соболев Е.А. О ПРОБЛЕМЕ МИКРОБИОТЫ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ..... 190

<i>Рубцова Е.В., Жданова Е.В.</i> МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА.....	192
<i>Сидоренко О.Д., Жукова Е.В., Пастух О.Н.</i> ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛАКТОБАКТЕРИЙ.....	195
<i>Шавази Р.Н.</i> МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ НА ФОНЕ НАРУШЕНИЯ ЗВЕНЬЕВ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ ..	197
<i>Шуваригов А.С., Пастух О.Н., Жукова Е.В.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ В ТЕХНОЛОГИИ ФЕРМЕНТИРОВАННОГО НАПИТКА.....	199

СЕКЦИЯ 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МИКРОБИОЛОГИИ

ВЫЯВЛЕНИЕ И ОХВАТ ФЛЮОРОГРАФИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЕМ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ПО КОНТИГЕНТАМ ВОСТОЧНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Абдрахманов М.Д. Научные руководители: доцент, к. м. н., заведующий кафедрой
микробиологии Рахимжанова Ф.С., магистр Малик М.М.

НАО «Медицинский университет г. Семей», г. Семей, Республика Казахстан

Актуальность. В настоящее время туберкулез является одной из актуальных проблем. К причинам развития заболевания также относятся плохие бытовые условия, неполное выполнение гигиенических мероприятий. В мире внедрена программа Dots для лечения туберкулеза, в Казахстане распространенность заболевания, включенного в данную программу, снизилась на 41,6%. Ежегодно в среднем в стране заболевают 25 тысяч человек. Факторов, влияющих на него, много.

Цель исследования. Определение статистики по ВКО выявленного туберкулеза с помощью флюорографической диагностики, разъяснение мер профилактики заболеваний.

Материалы и методы. В ходе исследования нами была проведена оценка уровня заболеваемости на территории ВКО по методу статистического анализа. Также мы проанализировали советы специалистов по профилактике заболеваний.

Результаты и их обсуждение. При статистическом анализе заболеваемости туберкулезом общее количество участников исследования составило 650444 (95,70%). Статистика велась по 16 районам ВКО и по городам Риддер, Семей, Усть-Каменогорск. По статистике обязательные контингенты, участвовавшие в исследовании, составили 232304 (96,6%). А количество участников, взятых в качестве дополнительной группы, составило 418140 (95,2 %). Из двух групп мы выделили лиц, у которых выявлен туберкулез. Из группы обязательных контингентов 111 человек, вторая группа 172 человека, общая численность составила 283 человека. По общим показателям в Глубоковском районе выявлено больных туберкулезом 31 человек, при этом наименьший показатель выявлен в Курчатовском районе 1 человек. К числу районов, где заболевание не выявлено, относятся Катон-Карагайский район, Курчумский район. Для оценки эпидемиологического распространения мы использовали карту. По карте мы определили связь районов. Заболевание чаще всего распространено в северных районах и юго-западных районах ВКО. В северо-восточных районах показатель заболеваемости находится на самом низком уровне. Это помогло оценить область и частоту распространения заболевания. Уменьшение количества моноцитов и лимфоцитов в организме влияет на развитие болезни. Потому что моноциты формируют противотуберкулезный иммунитет. Высокоэффективные препараты, используемые в лечебных целях, включают изониазид и рифампицин. Он устраняет резистентность палочки Коха. Сам он по резистентности подразделяется на монорезистентный, полирезистентный.

Заключение. При раннем выявлении туберкулеза (продромальный период) можно избежать осложнений. Для профилактики заболевания необходимо часто проветривать помещение и часто использовать дезинфицирующие растворы. В том числе хлорамин, перхлорат кальция обладает сильным бактерицидным действием. Кроме того, правильное питание также очень важно. В районах со сложной эпидемиологической ситуацией очень важно проводить профилактические мероприятия для населения.

Библиографический список

1. Тапбергенов С. О. Медицинская и клиническая биохимия. 2016. С. 382.

2. Рахимов К.Д. Фармакология: Учебное пособие. 2015. 519 с.
3. Рамазанова Б.А., Кудайбергеноулы К., Котова А.Л., Уразалин М.М., Табаева А.А. Медицинская микробиология. 2011. С. 369.

ВЛИЯНИЕ COVID-19 НА СИСТЕМУ «МАТЬ-ПЛОД»

Вохмянина Г.А., Прощенко Д.А., Гаврилова К.А.

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

**ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург, Россия**

Введение. Пандемия COVID-19 затронула все группы населения, исключением не стали и наиболее уязвимые – беременные женщины, так как снижение общего иммунитета на фоне беременности может повлечь за собой тяжелое течение инфекционного заболевания у матери, и, как следствие, отразиться и на здоровье ребенка.

Патологии плаценты, ее развития на ранних и поздних сроках беременности, которые сопровождаются системным поражением эндотелия сосудов при COVID-19, могут привести к ряду осложнений у беременных, а также задержке роста плода, преждевременным родам и мертворождением.

В данной статье будут рассмотрены и проанализированы результаты клинических наблюдений за пациентками, болевших новой коронавирусной инфекцией во время беременности, возможные патологические изменения в плаценте и влияние этих изменений на развитие плода.

Материалы и методы. Материалами в работе послужили многочисленные клинические исследования и научные труды о влиянии COVID-19 на течение беременности и послеродовой период, а также изменения плаценты. Для написания обзора было использовано 5 источников литературы, опубликованных в международных базах цитирования Medline, Pubmed, Web of Science, Google Scholar, Scopus, а также опубликованные в ВАК, РИНЦ фундаментальные исследования и монографии отечественных авторов.

Результаты и их обсуждение. Основными результатами анализа работ можно назвать отсутствие передачи SARS-CoV2 вертикальным путём, что свидетельствует о непроницаемости гемоплацентарного барьера для вируса. Важным наблюдением в ходе исследований оказалось отсутствие SARS-CoV2 в организме плода (отрицательный тест), но его наличие в плаценте (положительный в плаценте) [3].

В абсолютном большинстве случаев у инфицированных матерей рождались здоровые дети. Были лишь единичные случаи, когда ребенок заразился от матери, но, вероятно, передача вируса происходила воздушно-капельным путем непосредственно в операционной [1]. Тем не менее полагают, что в определенных условиях, если произошел «прорыв» гемоплацентарного барьера, инфекция несет в себе опасность для плода, вызывая изменения по типу «цитокинового шторма» [2].

Состояние плацент, их морфологические признаки свидетельствуют о том, что гипоксия у ребенка при родах развивалась в тех случаях, когда в течение беременности наблюдалась кислородная недостаточность или воздействовали другие повреждающие факторы [2].

Также у пациенток наблюдались нарушения кровотока в пуповине, которые сопровождались повышенным тромбообразованием. В результатах исследований в данной группе был определен более высокий процент инфарктов, тромбозы хориальных сосудов, субамниотические и межворсинчатые гематомы.

Патологические изменения плацент наблюдаются у большинства пациенток, принявших участие в исследованиях. У рожениц с тяжелым течением заболевания в

плаценте обнаруживался повышенный уровень отложений фибрина вокруг ворсинок или на хорионе.

У матерей, которые заболели в третьем триместре и выздоровели к моменту родоразрешения, были найдены большие зоны аваскулярных ворсинок, при этом у одной из пациенток в ворсинках дополнительно определялся обширный инфаркт [3].

В числе патологий плаценты также отмечается отек ворсинок и ретроплацентарная гематома [5]. Не исключается, что гематомы могут являться следствием медицинского вмешательства во время родов [4].

Заключение. В результате исследований было выявлено, что наибольшую опасность для плода представляет высокая вероятность гипоксии, которая влечет за собой нарушения в системе свертывания крови и является следствием множественных тромбозов сосудов, гематом различной этиологии, а также инфарктов ворсинчатого дерева.

Плацента защищает плод от вируса, поэтому подавляющее большинство детей рождается здоровыми, однако заражение детей имело место быть при контактах заболевшей матери с ребенком в операционной.

Патологии плаценты разной степени выявляются практически у всех исследуемых беременных, что влечет за собой необходимость усиления антенатального наблюдения за женщинами с диагнозом COVID-19.

Библиографический список

1. Гурбанова Дж.Ф., Гаджиева Ф.Р. Влияние COVID-19 на беременность и послеродовой период // *European science*. 2021. №3 (59). С. 45-47.

Влияние новой коронавирусной инфекции COVID-19 на систему «мать-плацента-плод» / Низяева Н.В., Ломова Н.А., Долгополова Е.Л. и др. // *Вестник РГМУ*. 2021. №2. С. 27–34.

Placental Pathology in COVID-19 / Shanes E.D., Mithal L.B., Otero S. et al. // *American journal of clinical pathology*. 2020; 154(1): 23-32.

Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement / Khong T.Y., Mooney E.E., Ariel I. et al. // *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2016; 140(7): 698-713.

Second-Trimester Miscarriage in a Pregnant Woman With SARS-CoV-2 Infection / Baud D., Greub G., Favre G. et al. // *JAMA*. 2020; 323(21): 2198-2200.

АПРОБАЦИЯ НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ АКСЕНИЧНЫХ КУЛЬТУР ЦИАНОБАКТЕРИЙ

**Гальперина А.Р., доцент, кандидат биологических наук
ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет»,
г. Астрахань, Россия**

Введение. Биологические коллекции являются не только банками хранения генофонда живых организмов, но и ведущими научно–исследовательскими центрами. По данным Всемирной федерации коллекций культур (World Federation for Culture Collection – WFCC, <http://www.wfcc.info>) в России зарегистрировано всего 22 биологические коллекции, из которых только 7 содержат в фондах штаммы водорослей и цианобактерий [1]. Цианобактерии являются не только объектами фундаментальной науки: неотъемлемым компонентом биоразнообразия различных экосистем, модельными организмами в экологии, фотобиологии, генной инженерии, но и широко применяются для решения ряда прикладных биотехнологических задач (аквакультура, биотопливо, биоремедиация, производство удобрений и биологически активных веществ противовирусного, антибактериального, противомикозного действия, синтез вторичных метаболитов: экзополисахаридов, витаминов,

токсинов, ферментов, лекарственных препаратов и др.). Поэтому необходимость и важность создания, сохранения и развития альгологических коллекций не вызывает сомнения [2].

Особый интерес вызывают аксеничные культуры цианобактерий. Однако нужно отметить, что при выделении данных культур не удается добиться их полной свободы от бактерий, так как последние прочно связаны с сильно развитыми слизистыми оболочками этих цианобактерий. Процесс разделения их трудоёмок, длителен и порой неэффективен. Поэтому в настоящее время предлагается ряд комбинированных методов выделения аксеничных культур, которые включает в себя использование методов химической стерилизации, применение ультрафиолетового излучения и антибактериальных и антифунгальных антибиотиков. **Целью работы** являлась апробация комбинированных методов получения аксеничных культур цианобактерий.

Материалы и методы. В экспериментальных исследованиях использовали комбинированные методы получения аксеничной культуры цианобактерий, сочетающие в себе методы химической стерилизации (применение водных растворов фенола 0,1% и спирта 1,0%), воздействия ультрафиолетового облучения (253,7 нм), обработка антибактериальными и антифунгальными антибиотиками (левомицетин, ампициллин, нистатин).

Объектом исследований являлось альгологически чистое коллекционное цианобактериальное сообщество на основе нитчатых цианобактерий рода *Leptolyngbya*. Сообщество хранится в лабораторных условиях при постоянном освещении 1500 лк и температуре 22-25 °С.

В ходе эксперимента использовали разные варианты получения аксеничных культур цианобактерий:

- вариант А (обработка раствором фенола 0,1% - 2 ч; обработка раствором этилового спирта 1,0% - 2 ч; облучение ультрафиолетом 10 мин; обработка левомицетином (50 мкг/мл) и ампициллином (50 мкг/мл) – 20 мин; обработка нистатином (50 мкг/мл) – 20 мин);

- вариант В (обработка раствором фенола 0,1% - 2 ч; обработка раствором этилового спирта 1,0% - 2 ч; облучение ультрафиолетом 10 мин; обработка левомицетином (50 мкг/мл), ампициллином (50 мкг/мл) и нистатином (50 мкг/мл) – 20 мин);

- вариант С (обработка смесью растворов фенола 0,1% и этилового спирта 1,0% - 4 ч; облучение ультрафиолетом 10 мин; обработка левомицетином (50 мкг/мл) и ампициллином (50 мкг/мл) – 20 мин; обработка нистатином (50 мкг/мл) – 20 мин);

- вариант D (обработка смесью растворов фенола 0,1% и этилового спирта 1,0% - 4 ч; облучение ультрафиолетом 10 мин; обработка левомицетином (50 мкг/мл), ампициллином (50 мкг/мл) и нистатином (50 мкг/мл) – 20 мин).

Результаты и их обсуждение. При прямом микроскопировании тяжелой коллекционного сообщества отмечено, что цианобактерии представлены трихомами синезеленого цвета, клетки в трихомах цилиндрические 1,5-2,0×3,8-5,2 мкм у поперечных перегородок не перешнурованы, конечные клетки слегка закругленные, влагалища слизистые, толщиной 0,5-0,8 мкм, слегка расплывающиеся. Бактерии-ассоцианты представлены грамположительными короткими округлыми палочками 1,3-1,5×1,5-1,7 мкм, а также грамположительными кокками. Бактерии-ассоцианты, выделяемые на питательных средах, представлены грамположительными палочками и кокками. Наибольшая численность отмечалась у автохтонных органотрофов – $1,2 \cdot 10^6$ КОЕ/г, наименьшая – у автохтонных олиготрофов – $2,0 \cdot 10^4$ КОЕ/г. Помимо бактериальных форм в состав цианобактериального сообщества входили микромицеты рода *Aspergillus*.

В результате апробации комбинированных методов получения аксеничных культур цианобактерий отмечено, что варианты В и С приводят к полному подавлению жизнедеятельности цианобактериальных клеток. Это выражалось в обесцвечивании трихом и распадении их структуры на отдельные клетки. Варианты А и D позволяли сохранить жизнеспособность цианобактерий.

При этом использование варианта А привело к изменению цвета трихом на светлый желто-зеленый, а также их разрушению на отдельные фрагменты.

Применение варианта D не оказало негативного действия на цианобактерии: трихомы сохранили свой цвет и структуру.

Прямое микроскопирование тяжелой выявило наличие грамположительных палочек в обоих вариантах.

При изучении микроорганизмов, выделенных на плотных питательных средах, отмечено, что в варианте A и D автохтонные олиготрофы представлены грамположительными палочками в количестве 10^4 КОЕ/г; автохтонные органотрофы в варианте A представлены грамположительными палочками разного размера с численностью $2,4 \cdot 10^5$ КОЕ/г; в варианте D обнаружены грамположительные палочки (10^4 КОЕ/г) и плесневые микромицеты рода *Aspergillus* ($2 \cdot 10^4$ КОЕ/г).

Таким образом, в ходе эксперимента выявлено, что из 4 вариантов получения аксеничных культур цианобактерий варианты B и C полностью подавляют жизнеспособность цианобактериальных клеток.

Применение варианта A позволяет избавиться от мицелиальной составляющей сообщества и уменьшить численность бактерий-спутников до 4 раз. Использование варианта D сохраняет клетки цианобактерий в максимально активном состоянии, а также снижает численность бактерий-спутников до 30 раз, мицелиальные ассоцианты при этом сохраняются.

Заключение. Использование комбинированных методов, сочетающих в себе химическую стерилизацию, облучение ультрафиолетом и обработку антибактериальными и антифунгальными антибиотиками не позволяет получить культуру цианобактерий полностью свободную от микроорганизмов-спутников. При этом, возможно использовать два варианта обработки: для снижения количества бактерий или микромицетов в цианобактериальном сообществе.

Библиографический список

1. Москаленко С.В. Альгологическая коллекция Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН (ACSSI): состояние и перспективы развития // Вопросы современной альгологии. 2015. № 1 (8). С. 50-56. С. 58-59.

2. Темралеева А.Д., Минчева Е.В., Букин Ю.С., Андреева А.М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (*Chlorophyta*): учебное пособие. Кострома: Костромской печатный дом, 2014. 215 с.

ВОЗМОЖНОСТИ ОПТИМИЗАЦИИ АНАЛИЗА ДАННЫХ МЕТАГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ 16S рРНК В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Годовалов А.П., кандидат медицинских наук,

Карпунина Т.И., профессор, доктор биологических наук

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь, Россия

Введение. В последнее время стремительно возрастает потребность в оптимизации подходов к оценке микробного разнообразия биотопов человека, особенно в свете участия микробных ассоциаций в патогенезе ряда заболеваний. Исторически для оценки состава микрофлоры использовался культуральный метод. Однако известно, что более 70% бактерий не культивируются на питательных средах. Альтернативой выступают молекулярно-генетические методы, среди которых не последнее место занимает секвенирование 16S рРНК микроорганизмов. Известно, что ген 16S рРНК очень консервативен, но содержит, в том числе, переменные видоспецифичные участки, что придает ему свойство универсального средства для анализа таксономической принадлежности и родства представителей микробиоты [4]. Применительно к задачам медицинской микробиологии самостоятельный

интерес заключается в получении информации не только, а, зачастую, не столько о составе микробного сообщества, сколько о его функциональном потенциале, в частности, способности синтезировать факторы патогенности, отдельные метаболиты, а также элементы антибиотикорезистентности.

Цель исследования: оценить возможности секвенирования 16S рНК в раскрытии функциональных особенностей микроорганизмов.

Материалы и методы. Для исследования использовали образцы вагинального содержимого, полученного из заднего свода влагалища с помощью мерной ложки Фолькмана от 15 женщин, и пробы эякулята от 15 мужчин – их половых партнеров – при бесплодном браке. Метагеномное секвенирование 16S рНК осуществляли на платформе Illumina MiSeq, с использованием набора MiSeq Reagent Kits v3 (600-Cycle Kit), согласно рекомендациям производителя. Библиотеки для секвенирования участков V3-V4 гена 16S рНК были приготовлены согласно 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina. Данные загружали на сервер www.mg-rast.org в виде файлов с расширением fasta [5]. Полученные прочтения обрабатывались и классифицировались в соответствии с базой данных Cluster of Orthologous Groups (COG) of proteins [6] и базой SEED Subsystems [3]. Биоинформационный анализ полученных данных проводили с помощью сервера MG-RAST, который с 2008 года служит в качестве хранилища нуклеотидных последовательностей, а также как инструмент анализа метагеномных данных (и метаданных) – аннотации и постаннотационной обработки [2, 3].

При проведении статистического анализа данных использовали χ^2 -критерий. Для оценки качественных признаков рассчитывали показатель OR (odds ratio – отношение шансов). Значимость показателя уточняли на основании оценки границ 95% доверительных интервалов (CI – confidence interval).

Результаты исследования и их обсуждение. Подходы, примененные в настоящем исследовании, позволяют дифференцировать риды на две группы: пригодные для оценки таксономического разнообразия и для поиска совпадающих с аннотированными в базах данных последовательностей, характеризующих функциональные особенности микроорганизмов.

При анализе таксономического состава установлено, что в большом числе случаев в образцах, полученных от мужчин и женщин, детектировали генетические маркеры микроорганизмов родов *Moraxella*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* и некоторых других. В то же время, у женщин статистически значимо чаще обнаруживали маркеры микроорганизмов рода *Morganella*, *Shewanella*, *Gardnerella*, *Peptoniphilus*. У мужчин чаще, чем у женщин, обнаруживали признаки порфиромонад.

Среди всех сиквенсов пригодными для поиска информации о функциональной активности оказалось 0,011±0,003% для образцов от женщин и 0,018±0,005% - для образцов от мужчин ($p>0,05$). При сопоставлении с базой данных COG показано, что 43,3±8,9% ридов содержали последовательности, ответственные за клеточный метаболизм, 8,3±5,5% – за хранение информации и процессинг, 17,6±3,5% – за формирование клеточных структур и сигналинг. Очевидно, что эта база систематизирует последовательности генов в достаточно крупные группы, а для более детального анализа мы использовали базу SEED Subsystems. В ходе анализа отсортированных ридов показано присутствие таких групп последовательностей, которые ответственны за синтез клеточной стенки и капсулы (50% образцов; от 2,5 до 14,3% на один образец), подвижность и хемотаксис (17% образцов; 7,1% на один образец), стресс-ответ (33% образцов; от 7 до 20% на один образец), а также области, предположительно содержащие фаги, профаги, транспозоны и плазмиды (17% образцов; 7,1% на один образец).

В образцах эякулята генетические маркеры бактерий, участвующие в ответе на стрессовые факторы, встречаются в 7,5 раз чаще, чем в образцах цервико-вагинального отделяемого (OR 7,5; 95% CI 1,7-76,8). Аналогичная ситуация установлена для маркеров деления клеток и их жизненного цикла. Генетические участки, участвующие в метаболизме

железа и его захвате, среди сиквенсов от мужчин и женщин встречаются в равной доле. Маркеры, участвующие в экспрессии клеточной стенки и капсулы, транспорте соединений через мембрану, подвижности и хемотаксисе распределены у мужчин и женщин равномерно.

Согласно ранее установленным данным о том, что среди представителей микрофлоры эякулята преобладают антагонистические взаимоотношения [1], логичным представляется более частое обнаружение генов стрессорного ответа, которые задействованы в выживании ассоциантов и, вероятно, в противостоянии между отдельными таксонами.

Заключение. В целом, представляется, что анализ результатов секвенирования 16S рРНК микроорганизмов может отвечать двум подходам. Первый, скрининговый, нацелен на изучение таксономического разнообразия биотопа, а второй, основанный на сопоставлении отсортированных ридов с базами данных (COG, SEED и др.), позволяет целенаправленно выявлять те последовательности, которые представляют наибольший интерес для решения конкретных задач. Однако, необходимо помнить, что секвенирование 16S рРНК не исчерпывает всей генетической информации. Поэтому, для формирования полного представления о функционально-метаболической активности микробиоты с учетом факторов патогенности, необходимо использовать и разные молекулярно-генетические технологии, и более широкий набор баз данных для сравнения детектированных последовательностей.

Библиографический список

1. Годовалов А.П., Карпунина Т.И. Микрoэкологический подход к оценке особенностей микробиоты эякулята в профилактике снижения фертильности // Профилактическая медицина. 2020. Т. 23. № 3. С. 108-112.
2. Keegan K.P., Glass E.M., Meyer F. MG-RAST, a Metagenomics Service for Analysis of Microbial Community Structure and Function // Methods Mol Biol. 2016. № 1399. P. 207-33.
3. Kent W.J. BLAT - the BLAST-like alignment tool // Genome Res. 2002. № 12(4). P. 656-664.
4. Kwak J., Park J. What we can see from very small size sample of metagenomic sequences // BMC Bioinformatics. 2018. № 19(1). P. 399.
5. Meyer F., Paarmann D., D'Souza M. et al. The metagenomics RAST server - a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes // BMC Bioinformatics. 2008. № 9. P. 386.
6. Overbeek R., Begley T., Butler R.M. et al. The subsystems approach to genome annotation and its use in the project to annotate 1000 genomes // Nucleic Acids Res. 2005. № 33. P. 5691-5702.

АНАЛИЗ РЕЗИСТЕНТНОСТИ S. AUREUS

Данилин А.А., студент; Карташова С.А., студент

Научный руководитель – Гуляев П.Е.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань, Россия

Введение. Стафилококки — грамположительные кокки, которым в чистой культуре свойственно скопление в виде гроздьев винограда (характерно деление в разных плоскостях). Неподвижные, не образуют спор, могут образовывать микрокапсулу. Стафилококки растут на простых питательных средах (мясопептонный агар — МПА, мясопептонный бульон — МПБ), однако являются галофильными [1]. Основные группы факторов патогенности стафилококков: адгезины, микрокапсула, протеин А, медиаторы межмикробного взаимодействия, секретируемые вещества. На сегодняшний день существуют крайне устойчивые штаммы *S. aureus* — метициллин (оксациллин) устойчивые золотистые стафилококки (MRSA). Появление MRSA обуславливается началом использования

антимикробных препаратов, после чего золотистый стафилококк развил с помощью естественного отбора или приобрел посредством горизонтального переноса генов множественную лекарственную устойчивость к бета-лактамам [2-4]. Бета-лактамы (β -лактамы) — группа антибиотиков широкого спектра, в которую входят цефалоспорины и некоторые пенициллины, а также карбапенемы и монобактамы. Помимо MRSA выделяют ванкомицин устойчивый золотистый стафилококк (VRSA). Считается, что устойчивость *S. aureus* к ванкомицину достигнута благодаря последовательным мутациям, приводящим к более толстой клеточной стенке. Такая изменчивость золотистого стафилококка объясняет актуальность в изучении его чувствительности и резистентности к антимикробным препаратам (как антибиотикам, так и бактериофагам) [3].

Для рациональной антимикробной терапии важно изучить этиологическую структуру и резистентность микроорганизмов, вызывающих воспалительные заболевания и осложнения. В связи с этим необходимо проводить мониторинг резистентности микрофлоры в различных отделениях и стационарах. Кроме того, необходимо учитывать, что для профилактики и лечения заболеваний, вызываемых стафилококком, применяются не только различные антибиотики, но и бактериофаги, средства народной медицины [1].

Цель исследования: изучить и сравнить антибиотикорезистентность *S. aureus* к антибиотикам, стафилококковому бактериофагу и препарату «Хлорфиллипт» (эвкалипта листьев экстракт).

Материалы и методы. Была получена чистая культура *S. aureus* на скошенном столбике МПА. Забор материала проводился из носовых полостей студентов ФГБОУ ВО КГМУ МЗ РФ. Для дальнейшего разведения инокулята в кроличьей плазме приготовили стандарт мутности по Макфарланду, для стандартизации количества микроорганизмов. Далее разводили часть чистой культуры в растворе кроличьей цитратной плазмы для проведения коагулазного теста (дифференцировки коагулазоположительного стафилококка (*S. aureus*) от коагулазотрицательного). Далее наносили приготовленный инокулят на МПА с помощью стерильной бактериологической петли, равномерно размазывали стерильным шпателем. Затем в чашку Петри «А» помещали диски с антибиотиками, а на поверхность МПА в чашке Петри «Б» наносились полосы жидкого стафилококкового бактериофага и препарата «Хлорфиллипт». Использовались следующие антибиотики: ванкомицин (группа гликопептидов), амоксициллин (группа полусинтетических пенициллинов), кларитромицин (группа макролидов), ципрофлоксацин (группа фторхинолонов) и фуразолидон (группа нитрофуранов). После того, как диски были помещены на поверхность МПА чашки Петри были убраны в термостат на 24 ч при температуре 37°C на 24 часа.

Результаты и их обсуждение. После окончания инкубации чашки были размещены на поверхности рабочего стола кверху дном для измерения зон задержки роста. Измерения делались с помощью линейки (таблица 1 (по данным ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) и таблица 2 (по данным EUCAST)): S – чувствительность, R – резистентность.

Данные о чувствительности и резистентности оценивались согласно следующим нормативам: рисунки 1 и 2 для таблиц 1 и 2 соответственно.

Амоксициллин	S \geq 20; R \leq 19
Ванкомицин	S \geq 15
Кларитромицин	S \geq 18; R \leq 13
Ципрофлоксацин	S \geq 21; R \leq 15
Фуразолидон	S \geq 18; R \leq 14

Рис. 1. Чувствительность стафилококков к антибиотикам.

Амоксициллин	слишком большое количество резистентных штаммов		
Ванкомицин	дискосвая диффузия ненадёжна и поэтому не применяется		
Кларитромицин	слишком большое количество резистентных штаммов		
Ципрофлоксацин	S>=50; R<21		
Фуразолидон	не используется для данных целей		

Рис. 2. Интерпретация данных по зонам ингибирования роста.

Таблица 1 – Анализ резистентности по данным НИИ им. Пастера

№ чистой культуры	Амоксициллин	Ванкомицин	Кларитромицин	Ципрофлоксацин	Фуразолидон	Бактериофаг	Хлорфилипт
1	0/R	15/S	0/R	10/R	0/R	S	S
2	23/S	25/S	35/S	30/S	20/S	R	S
3	25/S	20/S	32/S	35/S	20/S	S	S
4	38/S	16/S	29/S	25/S	20/S	S	S
5	17/R	16/S	15/SR	22/S	16/SR	S	S
6	12/R	16/S	24/S	25/S	23/S	R	S
7	40/S	20/S	33/S	19/SR	25/S	R\S	S
8	S	15/S	S	20/SR	20/S	S	S
9	26/S	18/S	0/R	28/S	22/S	R	R
10	25/S	19/S	32/S	31/S	23/S	S	S
11	20/S	18/S	23/S	21/S	0/R	S	S
12	18/R	18/S	33/S	27/S	23/S	S	S
13	33/S	16/S	30/S	25/S	20/S	S	S
14	38/S	13/R	0/R	27/S	16/SR	R	S

Таблица 2. Анализ резистентности по данным EUCAST

№ чистой культуры	Амоксициллин	Ванкомицин	Кларитромицин	Ципрофлоксацин	Фуразолидон	Бактериофаг	Хлорфилипт
1	0/R	15	0/R	10/R	0	S	S
2	23	25	35	30/SR	20	R	S
3	25	20	32	35/SR	20	S	S
4	38	16	29	25/SR	20	S	S
5	17	16	15	22/SR	16	S	S
6	12	16	24	25/SR	23	R	S
7	40	20	33	19/R	25	R\S	S
8	S	15	S	20/R	20	S	S
9	26	18	0/R	28/SR	22	R	R
10	25	19	32	31/SR	23	S	S
11	20	18	23	21/SR	0	S	S
12	18	18	33	27/SR	23	S	S
13	33	16	30/R	25/SR	20	S	S
14	38	13	0/R	27/SR	16	R	S

Заключение. Была проанализирована резистентность культур *S. aureus* к пяти антибиотикам, стафилококковому бактериофагу, препарату «Хлорфилипт». Установлено, что резистентны 29% штаммов к амоксициллину, 7% штаммов к ванкомицину, 29% штаммов к кларитромицину, 21% штаммов к ципрофлоксацину (по данным EUCAST от 2022 г.: 21% абсолютно резистентен, 79% частично резистентны), 29% штаммов к фуразолидону, 36% штаммов к стафилококковому бактериофагу, 7% к препарату «Хлорфилипт». При этом препарат «Хлорфилипт» эффективен только при местном, локальном применении.

Библиографический список

1. Баязитова Л.Т. Фенотипические и генотипические особенности антибиотикорезистентности амбулаторных и госпитальных штаммов *Staphylococcus aureus*/ Тюпкина О.С., Чазова Т.А.// Казань: Практическая медицина. 2016. Т. 5. №97. С. 25-29.
2. Вернер А.О., Спирина А.А. Чувствительность и резистентность *Staphylococcus aureus* к антимикробным препаратам // Студенческий форум. – 2021. – С. 10.

3. Федянин С.Д., Окулич В.К. Мониторинг резистентности стафилококков к антибиотикам у пациентов с гнойными ранами //Вестник фармации. 2020. №. 4 (90). С. 65-70.
4. ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Определение чувствительности *Staphylococcus* spp. URL:https://www.dntpasteur.ru/metodic2_6_4/ .Дата обращения : 29.04.2022.
5. ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Определение чувствительности *Staphylococcus* spp. Набор дисков для определения чувствительности к противомикробным препаратам URL: https://www.dntpasteur.ru/i9_1_1/ Дата обращения : 29.04.2022.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoints and dosing of antibiotics URL: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ Дата обращения : 29.04.2022.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ НА СОХРАННОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

**Жураева Р.Н., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук;
Зайнитдинова Л.И., профессор, доктор биологических наук; Эргашев Р.Б.
Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан**

Введение. Создание и поддержание коллекций микроорганизмов как способа сохранения биоразнообразия является актуальной фундаментальной и прикладной проблемой во всем мире. В последние годы в большинстве коллекций микроорганизмов используют методы лиофилизации, низкотемпературного замораживания и криоконсервации. Лиофилизация обеспечивает для широкого круга микроорганизмов большую стабильность, чем общеизвестные способы высушивания и периодических пересевов. Метод лиофилизации зависит от качества используемых клеток, от того, насколько они жизнеспособны и в каких условиях выросли [3, 6].

Согласно опубликованным данным, молочнокислые бактерии обладают огромным биотехнологическим потенциалом и широко используются в медицине, ветеринарии, пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве [1, 4, 5, 7]. Известно, что при длительном хранении клетки молочнокислых бактерий могут утрачивать способность к дальнейшему росту, а также терять пробиотические свойства. В связи с этим, особый научный интерес имеет изучение сохранности биотехнологического потенциала микроорганизмами, который отвечает за эффективность и надежность бактериальных препаратов при длительном хранении.

Материалы и методы. Объектами исследований служили бактерии длительное время (10-24 года) хранящиеся в лиофильно-высушенном состоянии в коллекции промышленно-важных микроорганизмов Института микробиологии АН РУз – *Bifidobacterium adolescentensis* 109, *Bifidobacterium bifidum* 134, *Lactobacillus acidophilus* 212, *Streptococcus thermophilus* 237, *Lactococcus lactis sp lactis* 275.

Изучались морфолого-культуральные свойства штаммов. Определение оптимальных и предельных температур роста изучали на MRS и средах - бульон для бифидобактерий, агар для бифидобактерий (НIMEDIA). Активность свертывания молока определяли по продолжительности образования сгустка. Способность исследуемых штаммов к росту при повышенных концентрациях хлорида натрия определяли методом, описанным в МУК 4.2.2602—10. Устойчивость испытуемых штаммов к действию желчи определяли по МУК 4.2.2602—10. Для определения антимикробной активности молочнокислых бактерий использовали тест-культуры из коллекции культур микроорганизмов Института

микробиологии АН РУз (*Bacillus subtilis*-5, *Escherichia coli*-221, *Pseudomonas aeruginosa*-225, *Staphylococcus aureus*-91, *Candida albicans*-247). Оценку антагонистической активности осуществляли на 3-5 сутки инкубации по диаметру стерильных зон в бактериальном газоне, образующихся вокруг лунок [2].

Результаты и их обсуждение. Проанализирована жизнеспособность молочнокислых бактерий после хранения в лиофильновысушенном состоянии в течение 10-24 лет. Показано, что они сохраняют высокую жизнеспособность, что титр молочнокислых и бифидобактерий после длительного хранения колеблется в пределах $1,2 \cdot 10^5$ - $17 \cdot 10^9$ КОЕ/мл.

Исследуемые штаммы МКБ хорошо росли при внесении 4-6,5% NaCl в среде культивирования, накопление биомассы через 48 часов роста составило 68-72% по сравнению с контролем (среда без внесения NaCl) (рис. 1).

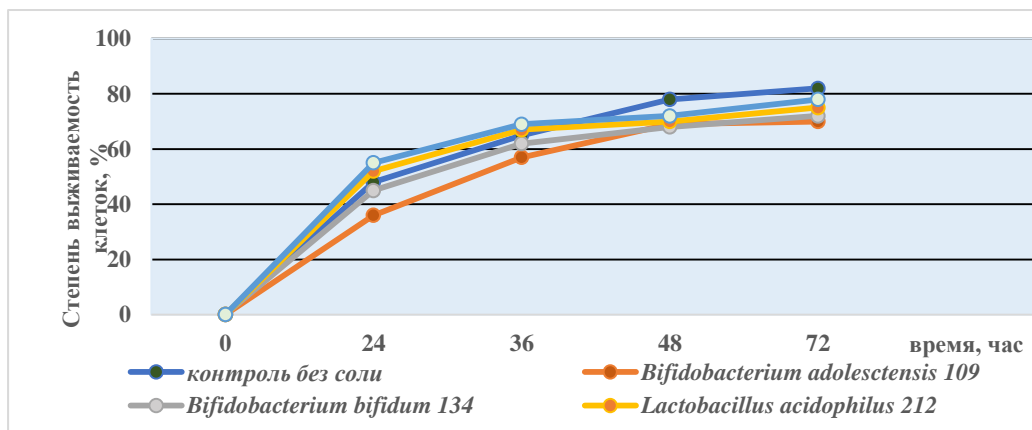


Рис. 1. Влияние хлорида натрия на выживаемость клеток молочнокислых бактерий

Изучена выживаемость штаммов при наличии бычьей желчи в жидкой среде МРС в концентрациях 0,2% и 0,4%. Выявлено, что при концентрации желчи 0,2-0,4% наблюдается стимуляция роста у всех штаммов молочнокислых бактерий, возможно, это связано с активацией ферментных систем, отвечающих за метаболические процессы бактерий. Степень выживаемости при 0,2 % желчи составляет 60-78%, а при концентрации 0,4% - 57-73% в зависимости от штамма(рис.2).

Получены данные о выживаемости исследуемых штаммов при стрессовых значениях рН и в присутствии 20-40% желчи являющихся максимальными концентрациями, с которыми встречаются клетки бактерий в кишечнике. Выявлено, что значение рН 3,0 является ингибирующим для всех штаммов, процент выживаемости колеблется в пределах 0,4-9,0%. Увеличение рН до 9,0 не является существенным стрессовым фактором для тестируемых штаммов молочнокислых бактерий.

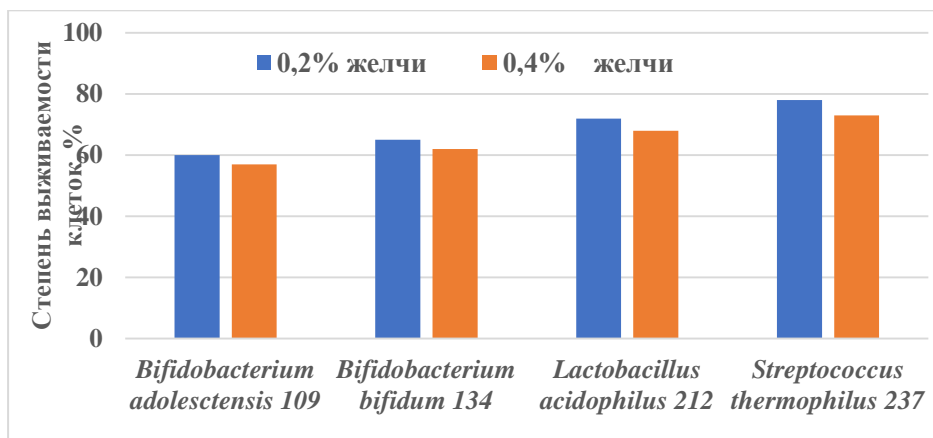


Рис. 2. Выживаемость клеток молочнокислых бактерий в присутствии желчи.

Способность молочнокислых бактерий подавлять рост патогенных бактерий в кишечнике человека является важным в сохранении баланса микрофлоры кишечника и в подавлении избыточного роста патогенных бактерий. Нами изучено отношение МКБ бактерий к условно-патогенным микроорганизмам после хранения в лиофильно – высушенном состоянии. Выявлено, что метод лиофилизации сохраняет такую важную особенность как антибактериальная активность, штаммы подавляли рост и развитие условно-патогенных микроорганизмов (зона подавления роста патогенов составляла от 10 до 25 мм). Максимальная бактерицидная активность отмечена у штаммов *Lactobacillus acidophilus* 212, *Streptococcus thermophilus* 237 по отношению к *Escherichia coli* (зона подавления роста составляла 23-25 мм). При этом у штамма 212 по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* зона лизиса составляла 22 мм.

Заключение. Таким образом, показано, что изученные штаммы молочнокислых бактерий сохраняют свои ценные свойства, такие как пробиотические свойства - устойчивость к действию стрессовых факторов NaCl 6,5%, pH 6,5-9,0, при наличии бычьей желчи в жидкой среде MRS в концентрациях 0,2% и 0,4%, а также антагонистическую активность к условно-патогенным микроорганизмам после длительного хранения в течение 10 лет и более в лиофильно-высушенном состоянии.

Библиографический список

1. Гришель А.И., Кишкурно Е.П. Пробиотики и их современная роль в медицине // Вестник фармации. 2009. № 1. С.90-93.
2. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: Изд. МГУ, 1995. 205с.
3. Охупкина В.Ю. Методы поддержания микробных культур. Часть 2. Лиофилизация // Теоретическая и прикладная экология 2009. №4. С.21-32.
4. Никифорова А.П., Хазагаева С.Н., Артюхова С.И. Исследование биохимической активности штамма *Lactobacillus sakei* LSK-104 // Вестник ВСГУТУ. 2019. № 4(75). С. 62-68.
5. Рогожина Т.Н., Ганина Г.С., Комолова В.И. Пробиотические культуры и биологически активные белки молока. Новый функциональный комплексный компонент // Молочная промышленность. 2012. № 5. С.30-31.
6. Uzunova-Donova T., Donev T. Anabiosis and conservation of microorganisms // Journal of culture collections. 2005. V. 4. P. 17-28.
7. Zagorec M., Champomier-Vergis M-C. *Lactobacillus sakei*: A starter for sausage fermentation, a protective culture for meat products // Microorganisms. 2017. 5, 56. P.1-13. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030056>.

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА МИКРООРГАНИЗМАМИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РАСТЕНИЯ

Зайнитдинова Л.И., профессор, доктор биологических наук; Лазутин Н.А., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук; Жураева Р.Н., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук; Мавжудова А.М., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук; Хегай Т.Б.

**Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан**

Введение. В последние годы внимание исследователей привлекает возможность продукции наночастиц биологическим методом и наиболее выгодным является использование культур микроорганизмов [6]. Полученные таким синтезом наночастицы металлов открывают новые возможности их инновационного применения в различных

областях промышленности и сельского хозяйства [2]. Наночастицы серебра (AgNP) – один из наиболее часто используемых наноматериалов в различных областях, особенно в сельскохозяйственном секторе. Однако применение нанотехнологий имеет возможные риски и экологические последствия и требует значительного изучения. О положительном или отрицательном влиянии наночастиц на клетки растений и растительный организм известно очень немного, и эти данные весьма противоречивы, хотя существует множество наноразмерных частиц, с которыми растения могут вступать в контакт в естественных условиях [3]. Так, обработка семян *Boswellia ovalifoliolata* препаратом Ag НЧ заметно ускоряла прорастание и рост саженцев [5]. Есть данные, где гидропонному воздействию наночастиц серебра различного размера подвергались различные растения (тополь *Populus deltoides* × *nigra* и пшеница *Arabidopsis thaliana*) и при этом наблюдалось стимулирующее действие на длину корней, сырую массу и эвапотранспирацию обоих растений в узком диапазоне сублетальных концентраций [4].

В связи с этим, особый интерес представляют дополнительные исследования для оптимизации синтеза и биофункционализации НЧ для применения в сельском хозяйстве, а также для более глубокого выяснения механизмов повышения устойчивости агроэкосистем и здоровья человека.

Материалы и методы. Наночастицы серебра получали путем внесения раствора AgNO_3 (конечная концентрация раствора составляла 100 мг/л Ag^+) в культуральную жидкость бактерий *Pseudomonas stutzeri* и *Bacillus sp.* Образование серебряных наночастиц фиксировали визуально: по окрашиванию растворов в характерные для них желтый и бурый цвета, а также с использованием УФ-спектроскопических методов и АСМ-исследований.

Объектами исследования служили семена пшеницы, маша и хлопчатника, культуры микроорганизмов *Pseudomonas stutzeri* и *Bacillus sp.* и НЧ серебра.

Для изучения оценки воздействия НЧ серебра на всхожесть и прорастание семян, проводили обработку согласно описанных методов [1]. После указанной обработки семена (100 штук) переносились в чашки Петри с увлажненной фильтровальной бумагой, проращивали при температуре $20\text{-}25^\circ\text{C}$. Контрольные семена были замочены в воде и культуральной жидкости *Pseudomonas stutzeri* *Bacillus sp.*, не содержащие НЧ. Энергию прорастания и всхожесть семян определяли на 3 и 7 сутки.

Результаты и их обсуждение. Проведенный нами ранее скрининг микроорганизмов по способности синтезировать наночастицы серебра позволил отобрать наиболее перспективные штаммы *Pseudomonas stutzeri* и *Bacillus sp.*, которые показали высокую синтезирующую способность (рис. 1).

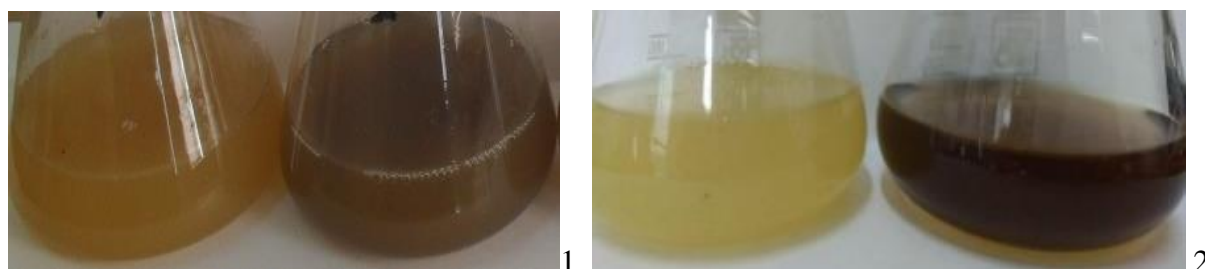


Рис. 1. Образование наночастиц *Pseudomonas stutzeri* (1) и *Bacillus sp.*(2) (среда МПБ, 48 часов).

АСМ-исследования и гистограмма распределения показывают, что образуются овальные и сферические наночастицы серебра размером от 5 до 100 нм (рис. 2).

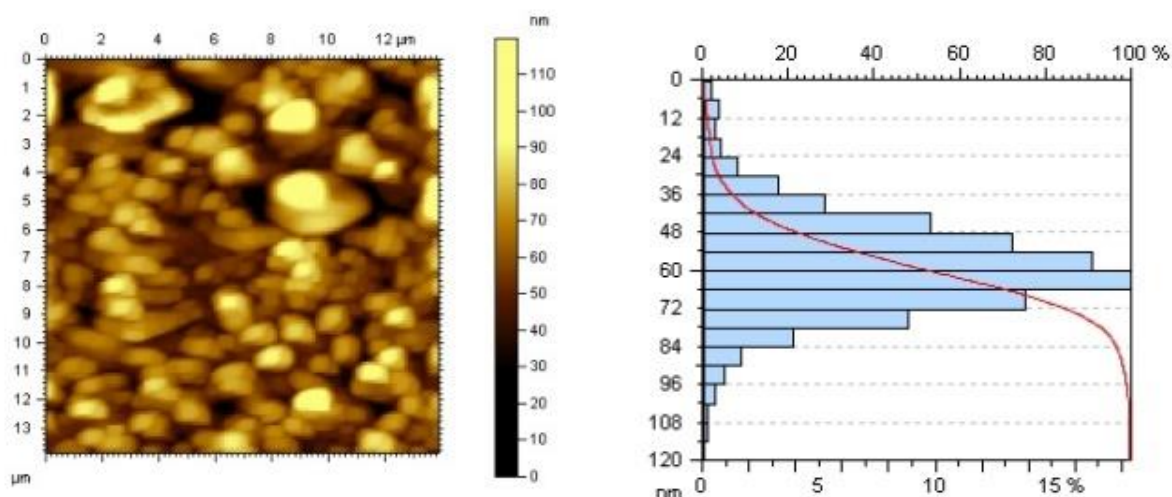


Рис. 2. АСМ-снимок и гистограмма распределения НЧ серебра.

Полученными растворами культуральных жидкостей исследуемых микроорганизмов содержащих НЧ серебра была произведена предпосевная обработка семян пшеницы, маша и хлопчатника. Исследования показали, что обработка семян пшеницы культуральной жидкостью бактерий *Pseudomonas stutzeri* с НЧ серебра так и *Bacillus sp.* с НЧ серебра стимулирует прорастание семян. Установлено, что замочка семян пшеницы бактериальными суспензиями с НЧ увеличивает энергию прорастания семян. Так, в контроле энергия прорастания через сутки составляла 38%, в опытных вариантах она колебалась от 42% до 48–52% (рис. 3). Энергия прорастания семян через 3 суток составила для контрольного образца 82%, опытных образцов 98% и 97% соответственно.

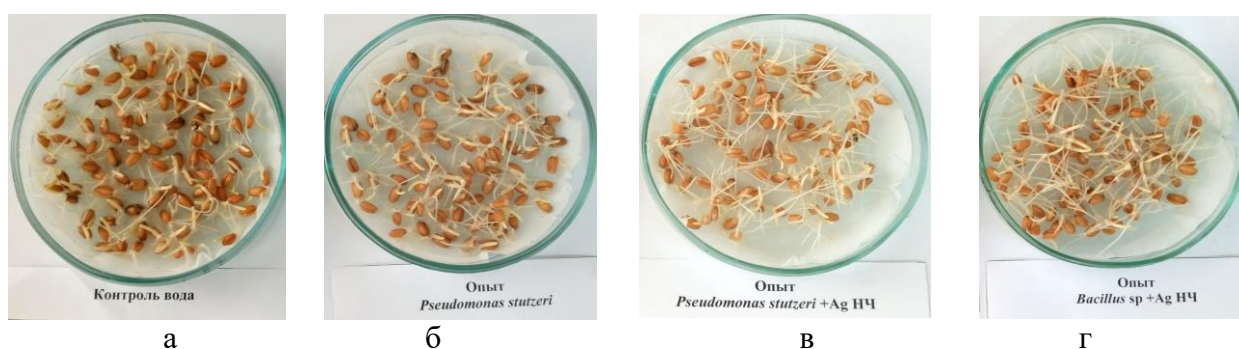


Рис. 3. Всхожесть семян пшеницы: а – контроль, вода; б – *Pseudomonas stutzeri*; в – *Pseudomonas stutzeri* с НЧ (Ag); г – *Bacillus sp.* с НЧ (Ag).

Также отмечено стимулирующее действие НЧ серебра, синтезированных *Pseudomonas stutzeri* на прорастание семян маша и хлопчатника (рис. 4).



Рис. 4. Прорастание семян маша (а) и хлопчатника (б) после обработки наночастицами серебра.

В процессе прорастания обработанных семян установлено, что *Pseudomonas stutzeri* с НЧ и *Bacillus* с НЧ оказывают положительное стимулирующее действие на рост корней и стеблей растения по таким показателям, как длина стебля и корня, масса.

Более плотное развитие и увеличение длины корневых волосков инокулированных растений объясняется тем, что использованные штаммы бактерий с НЧ являются потенциальными продуцентами фитогормонов, необходимых для стимуляции корней растений, а также вследствие воздействия полученных НЧ и увеличения ими всхожести семян.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о важности понимания взаимодействия AgNP с растениями, которые являются краеугольными камнями большинства экосистем. Необходимо также отметить, что требуются более глубокие исследования для установления воздействия наноматериалов на рост растений и агроэкосистемы, а также для разработки интеллектуальных приложений нанотехнологий для улучшения сельскохозяйственных культур. Наши исследования также продемонстрировали положительное действие обработки семян пшеницы наночастицами, синтезированными микроорганизмами. При обработке семян пшеницы, маша и хлопчатника, полученными биогенными наночастицами наблюдалось увеличение всхожести семян, высоты стебля, длины корня, массы сухого вещества корней и надземной части проростков.

Библиографический список

1. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / под. ред. Г.С.Муромцева. М.: Колос, 1983. 653с.
2. Cabello R., Vega-Baudrit J., Zuluaga R. Statistical Approach to Regulation of Nanotechnology: Need, Advantages and Disadvantages. // Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2020. 11, p.14-32. doi: [10.4236/jbnb.2020.111002](https://doi.org/10.4236/jbnb.2020.111002)
3. Ilaria Sanzari, Antonietta Leone, Alfredo Ambroson. Nanotechnology in Plant Science: To Make a Long Story Short Front. // Bioeng. Biotechnol. 2019. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00120>
4. Jing Wang, Yeonjong Koo, Anne Alexander. Phytostimulation of poplars and Arabidopsis exposed to silver nanoparticles and Ag⁺ at sublethal concentrations // Environ Sci. Technol. 2013. 47(10):5442-9. doi: 10.1021/es4004334.
5. Savithramma N., Ankanna S., Bhumi G. Effect of nanoparticles on seed germination and seedling growth of *Boswellia ovalifoliolata* - an endemic and endangered medicinal tree taxon // Nano Vision. 2012. 2: 61-68.
6. Thakkar K.N., Mhatre S.S., Parikh R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles // Nanomedicine. 2010. 6(2), P.257–262. doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002.

АНАЛИЗ ЛИПИДНОГО СОСТАВА БАКТЕРИЙ STAPHYLOCOCCUS SONNII VKM-3165 НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПЕРИОДИЧЕСКОГО РОСТА

Коробов В.П., доцент, кандидат медицинских наук; **Кононова Л.И.,** ведущий инженер;

Полюдова Т.В., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Пермь, Россия

Введение. Бактерии разных видов имеют богатый состав мембранных липидов, который не является постоянным и зависит от окружающих условий. Согласно общей стратегии, липидный спектр бактерий изменяется в зависимости от фазы роста и условий окружающей среды, факторы которой влияют на регуляцию синтеза фосфолипидов [6].

Бактериальные мембраны отличаются большим разнообразием амфифильных липидов, включая распространенные фосфолипиды фосфатидилглицерол, фосфатидилэтаноламин и кардиолипин, менее распространенные фосфатидилхолин и фосфатидилинозитол, а также множество других мембранных липидов, таких как орнотиновые липиды, гликолипиды, сфинголипиды или гопаноиды [3]. При развитии бактериальной периодической культуры изменяется состав и количество питательных веществ, накапливаются продукты метаболизма, меняется рН среды и уровень кислорода, при этом липидный состав бактерий претерпевает изменения. Выживание микробных популяций в динамичных условиях естественных сред обитания возможно, в том числе, благодаря мембранной адаптации [6].

Целью исследования явилось рассмотрение липидных изменений в клетках *Staphylococcus cohnii* ВКМ-3165 в разные фазы периодического роста методом тонкослойной хроматографии.

Материалы и методы. Бактерии *S. cohnii* ВКМ-3165 выращивали на питательной среде LB с азацией при 37°C до логарифмической или стационарной фаз роста. После достижения культурой необходимой стадии роста, клетки осаждали центрифугированием (Sigma-3K30 (США), 12000g, 15 мин), дважды промывали 10 mM трис-НСl-буфером (рН 7) и суспендировали в нем. Экстракцию липидов осуществляли по методу Блайя и Дайэра, модифицированному для микроорганизмов из дважды отмытой биомассы бактерий [1]. Полученные хлороформные фракции высушивали на концентраторе (Eppendorf 5301, Германия). Сухие осадки растворяли в 20 мкл смеси хлороформ-метанол (1:1, об/об), определяли содержание в них липидного фосфора [1] и хранили при минус 18°C. Разделение смеси липидов проводили тонкослойной хроматографией в герметичной стеклянной камере, насыщенной парами растворителей на пластинках с силикагелем Sorbfil (Сорбполимер, Россия) при комнатной температуре в системе растворителей хлороформ-метанол-вода (65:25:4, об/об). Идентификацию липидов проводили путем сравнения их подвижности с подвижностью образцов чистых липидов (Sigma, США), а также с помощью специфической окраски хроматограмм [1]. Хроматограммы сканировали и обрабатывали при помощи компьютерной программы «ДенситоАнализ», разработанной Шандренко и др. (Институт экологии и токсикологии им. Л.И.Медведя МЗО Украины).

Результаты и их обсуждение. Бактерии *S. cohnii* ВКМ 3165 являются высокочувствительными к действию антимикробных соединений. При ответе на действие антибактериальных агентов клетки *S. cohnii* реагируют усилением дыхательной активности, падением трансмембранного потенциала, появлением активных форм кислорода и активацией пептидогликангидролаз [2]. Однако, чувствительность к антибактериальным соединениям снижается в стационарной фазе развития бактерий. Экспериментально показано, что фосфолипиды *S. cohnii* представлены основными, типичными для стафилококков, липидами: фосфатидилглицеролом (ФГ) и кардиолипином (КЛ), а также в значительном количестве обнаружен диглюкозилдиглицерид. Гликолипиды моноглюкозилдиглицерид и фосфогликолипид, а также неидентифицированные лизоформы проявлялись минорными фракциями (рис.1). Липидный состав клеток *S. cohnii* ВКМ 3165 существенно различался в зависимости от стадии периодического роста культуры. Так, в лог-фазе развития в клетках *S. cohnii* ФГ был представлен двумя фракциями, в то время как ФГ из клеток стационарной фазы, проявляется однородным пятном на хроматограмме (рис 1Б, В). Фракции ФГ бактерий логарифмического роста обладали близкими хроматографическими характеристиками. Этот эффект может быть связан с наличием предшественников ФГ (ФГ+), отличающихся длиной цепей жирных кислот или степенью их насыщения. Предшественники ФГ являются основой для синтеза как самого ФГ, так и для КЛ [6, 7], содержание которого в стационарной стадии роста *S. cohnii* снижается в 2 раза по сравнению с клетками лог-фазы (с 15% до 7%) (рис.2).

Количество диглюкозилдиглицерида в бактериях стационарной фазы возрастает с 12% до 17% от общего числа полярных липидов. Известно, что этот гликолипид, наряду с ФГ, является субстратом для синтеза липотейхоевых кислот [7]. Количественная оценка

уровней содержания в клетках ФГ и КЛ показала, что при переходе развития бактерий *S. cohnii* ВКМ-3165 в стационарную фазу происходило увеличение содержания в них ФГ и снижение количества КЛ. Однако, согласно литературным данным, для грамположительных бактерий показана обратная динамика этих соединений при периодическом росте. Обычно ФГ расходуется на синтез тейхоевых кислот и КЛ, при этом его количество на поздних стадиях развития сокращается, соответственно возрастает уровень КЛ [4]. Известно, что КЛ оказывает защитное действие от агентов, повреждающих цитоплазматическую мембрану, и способствует выживанию бактерий в различных стрессовых условиях, которые, в том числе, возникают в стационарной фазе периодической культуры.

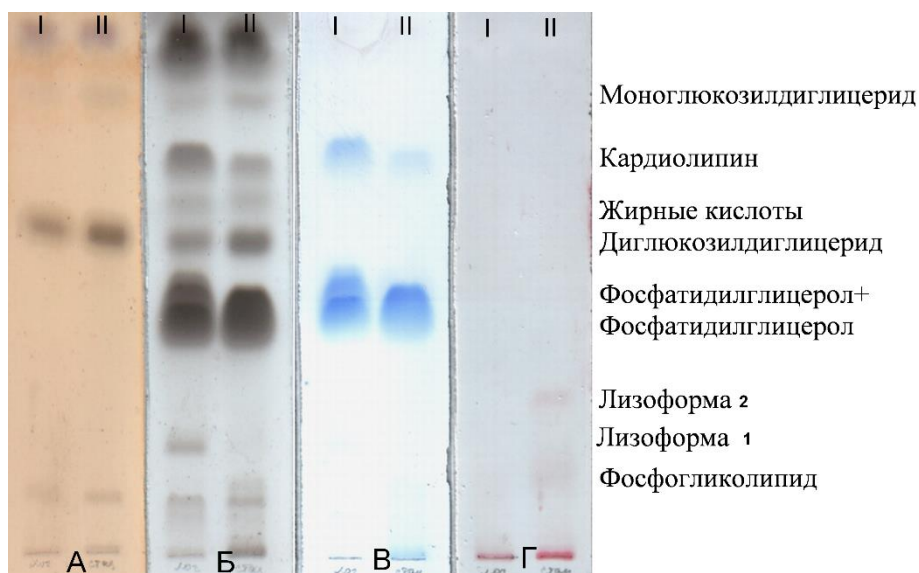


Рис. 1. Одномерная хроматограмма полярных липидов *S. cohnii* ВКМ-3165 в логарифмической (I) и стационарной (II) стадиях роста. Специфическая окраска: А – гликолипиды, Б – общие липиды, В – фосфолипиды, Г – аминокислотосодержащие липиды.

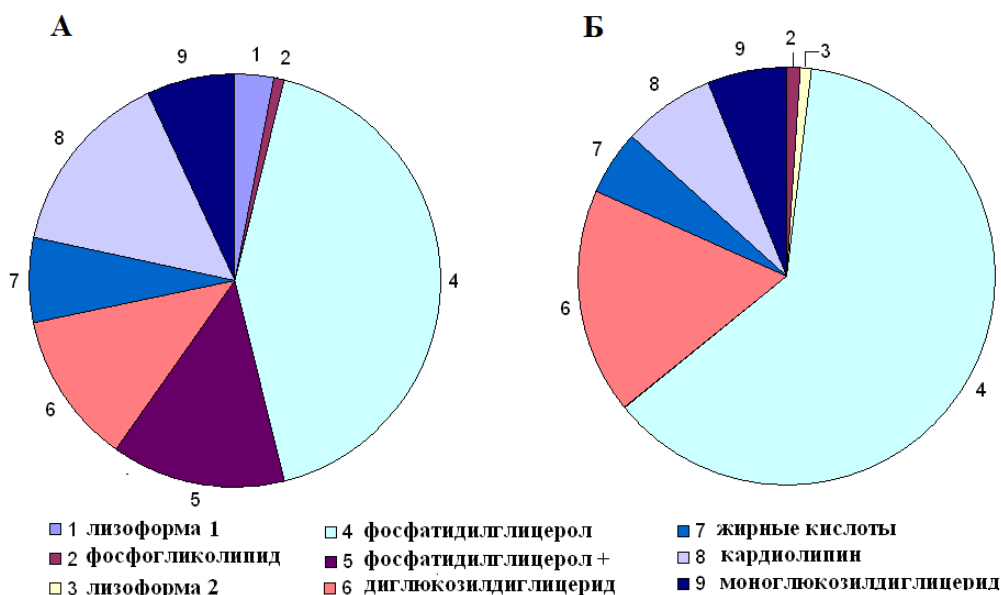


Рис. 2. Содержание отдельных фракций липидов от общего количества полярных липидов клеток *S. cohnii* ВКМ-3165 логарифмической (А) и стационарной (Б) стадий роста.

Мембраны *S. cohnii* ВКМ-3165 логарифмической стадии содержат неаминированную лизоформу 1 (рис. 1, 2). В то же время, в клетках *S. cohnii* ВКМ-3165 стационарной фазы роста появляется аминокислотная лизоформа, несущая положительный заряд. Это также является важной защитной адаптацией бактерий, которая позволяет им противостоять действию катионных соединений, например, таких как дефенсины [5]. В стационарной фазе у *S. cohnii* наблюдалось незначительное снижение уровня свободных жирных кислот, что может свидетельствовать об ингибировании биосинтеза липидов при истощении питательных веществ.

В настоящем исследовании с применением классических методов тонкослойной хроматографии была показана возможность идентификации полярных липидов бактерий *S. cohnii* ВКМ-3165. Количественная оценка состава липидов бактерий позволила выявить мембранные адаптации к меняющимся условиям роста, которые могут способствовать появлению резистентности бактерий к катионным антимикробным соединениям. Выявленные особенности адаптации липидома *S. cohnii* в стационарной фазе указывают на различие метаболических путей при истощении питательных веществ даже у близкородственных бактерий [4].

Работа выполнена в рамках государственного задания «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды», регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119112290009-1.

Библиографический список

1. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. Москва : Мир, 1975. 322 с.
2. Коробов В.П., Лемкина Л.М., Полюдова Т.В. Механизм антибактериального действия лантибиотика варнерина // Микробиология. 2022. Т.91 (2). С. 217-225.
3. Lopez-Lara I.M., Geiger O. Bacterial lipid diversity // Biochim Biophys Acta. Mol Cell Biol Lipids. 2017. V. 1862(11). P. 1287-1299.
4. Luo Y., Javed M.A., Deneer H. Comparative study on nutrient depletion-induced lipidome adaptations in *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus epidermidis* // Scient Reports. 2018. V.8.
5. Peschel A., Jack R.W. et al. *Staphylococcus aureus* resistance to human defensins and evasion of neutrophil killing via the novel virulence factor Mprf is based on modification of membrane lipids with l-lysine // J Experimental Medicine. 2001. V.193 (9). P.1067-1076.
6. Sohlenkamp C., Geiger O. Bacterial membrane lipids: diversity in structures and pathways // FEMS Microbiol Rev. 2016. V. 40 (1). P. 133-59.
7. Tan B.K., Bogdanov M. et al. Discovery of a cardiolipin synthase utilizing phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol as substrates // Proc Natl Acad Sci USA. 2012. V.109(41). P. 16504-16509.

РОЛЬ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА В ОБЕСПЕЧЕННОСТИ СПОРТСМЕНОВ НЕКОТОРЫМИ ВИТАМИНАМИ

**Кобелькова И.В.^{1,2}, кандидат медицинских наук, Коростелева М.М.^{1,3}, кандидат
медицинских наук, Кобелькова М.С.**

**¹ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»; ² Академия постдипломного
образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА; ³ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы
народов», Россия, г. Москва**

Введение. Потенциал микрофлоры в плане синтеза витаминов имеет большое значение, однако изучен недостаточно. Особенно актуальным роль микробиота в обеспеченности витаминами представляются у спортсменов, отличающихся высокими

физиологическими потребностями в связи с повышенным расходом этих соединений на фоне физических нагрузок.

Материалы и методы. Поиск научных статей в отечественных и зарубежных базах данных по ключевым словам «спортсмены», «витамины», «микробиом», «метаболизм», «специализированные пищевые продукты» «пищевой статус» в период с 2010 по 2021 гг.

Результаты и обсуждение. Magnusdottir et al. оценили геном 256 распространенных бактерий кишечного микробиома человека в отношении влияния на пути биосинтеза некоторых витаминов, установлено, что 40-65% из изученных штаммов способны продуцировать В1, В2, В3, В5, В6, В7, В9, В12 [1]. Прототрофы — это бактерии, способные к образованию витаминов *de novo*, а виды бактерий, которые не способны сами синтезировать необходимые соединения, определяются как ауксотрофы. Эти бактерии используют витамины, вырабатываемые прототрофами и поступающие из рациона питания хозяина, такой симбиоз между бактериями с различными типами питания играет важную роль в гомеостазе кишечной микробиоты. Рибофлавин и ниацин являются витаминами, наиболее часто синтезируемыми кишечной микрофлорой, известно 166 штаммов продуцентов рибофлавина и 162 ниацина. Установлено, что эталонное суточное потребление (RDI) пиридоксина за счет бактериального синтеза может быть удовлетворено на 86%, фолата - на 37%, кобаламина - 31%, ниацина - 27%, биотина - 4,5%, рибофлавина - 2,8%, тиамин - 2,3% и пантотеновой кислоты - на 0,78%. Однако, эти данные не учитывают долю витаминов, которая может быть утилизирована самой микробиотой. Введение в рацион питания здоровых взрослых лиц пробиотических штаммов *Bifidobacterium adolescentis* DSM 18350, *Bifidobacterium adolescentis* DSM 18352 и *Bifidobacterium pseudocatenulatum* DSM 18353 привело к значительному увеличению концентрации фолиевой кислоты в фекалиях, а 14-ти дневный курс лечения антибиотиками оказал негативное влияние на синтез витамина В12 кишечными бактериями [2].

Таким образом, витамины, синтезированные кишечными бактериями, играют значительную роль в физиологии, биохимии особенно лиц с высокой физической активностью. А нарушение этого процесса связано с различными клиническими симптомами. У пациентов с сахарным диабетом 2 типа выявлены аномалии в геноме кишечной микрофлоры, связанные с биосинтезом ферментов и транспортеров витаминов В и К2. Пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника отличаются более низкой экспрессией генов, связанных с биосинтезом кобаламина (В₁₂) и тиамин (В₆), по сравнению со здоровыми лицами в контрольных группах, что согласуется с данными о пониженных уровнях витаминов группы В в плазме таких больных [3].

С другой стороны некоторые витамины принимают участие в регуляции качественного и количественного состава кишечного микробиома. Дефицит витамина D снижает видовое разнообразие микрофлоры, а воздействие на кожу ультрафиолетового света, напротив, повышает. Дефицит витамина А и витамина Е также отрицательно влияет на состав кишечного микробиома [4, 5].

Заключение. Витамины, синтезированные кишечным микробиомом, представляют собой альтернативный источник этих соединений для человека, что может иметь особое значение при наличии алиментарного гиповитаминоза. Важно подчеркнуть, что эффект от введения витаминов является синергетическим, реализуется при их поступлении в составе традиционного рациона питания или специализированных пищевых продуктов в количествах, не превышающих верхний допустимый уровень. При обогащении рационов пробиотиками следует учитывать сложное взаимодействие между продуцентами и ауксотрофами витаминов, поэтому в клинической практике представляется целесообразным разработку диагностических инструментов оценки этих взаимосвязей и обеспеченности витаминами.

Библиографический список

1. Magnúsdóttir S., Ravcheev D., de Crécy-Lagard V., Thiele I. /Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. //Front Genet. 2015. № 6. P:148. doi: 10.3389/fgene.2015.00148.
2. Pérez-Cobas A.E., Artacho A., Knecht H., Ferrús M.L., Friedrichs A et al. /Differential effects of antibiotic therapy on the structure and function of human gut microbiota. //PLoS One. 2013. 8, №11. P. e80201. doi: 10.1371/journal.pone.0080201.
3. Ramos C., Gibson G.R., Walton G.E., Magistro D., Kinnear W., Hunter K. /Systematic Review of the Effects of Exercise and Physical Activity on the Gut Microbiome of Older Adults. //Nutrients. 2022. V. 14. №3, P. 674. doi: 10.3390/nu14030674.
4. Yamamoto E.A., Jørgensen T.N. /Relationships Between Vitamin D, Gut Microbiome, and Systemic Autoimmunity.// Front Immunol. 2020. V. 10 P. 3141. doi: 10.3389/fimmu.2019.03141.
5. Hrubša M, Siatka T, Nejmanová I, Vopršalová M, Kujovská et al. /On Behalf Of The Oeonom. Biological Properties of Vitamins of the B-Complex, Part 1: Vitamins B1, B2, B3, and B5.// Nutrients. 2022. V.14 № 3 P. 484. doi: 10.3390/nu14030484.

РОЛЬ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ В МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА СПОРТСМЕНОВ

**Кобелькова И.В.^{1,2}, кандидат медицинских наук, Коростелева М.М.^{1,3}, кандидат
медицинских наук, Кобелькова М.С.**

**¹ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»; ² Академия постдипломного
образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА; ³ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы
народов», Россия, г. Москва**

Введение. Учитывая тот факт, что резкое повышение доли простых углеводов в структуре суточной энергетической ценности рационов питания современного человека приводит к росту алиментарно зависимых заболеваний, для пищевой промышленности представляет интерес поиск стратегий по снижению количества добавленного сахара, в том числе за счет применения подсластителей. Изменение химической структуры углеводного профиля может вызывать нарушения в качественном и количественном соотношении микрофлоры кишечника.

Углеводы традиционно рассматриваются в качестве основных источников энергии для обеспечения высокой работоспособности, особенно в питании спортсменов, отличающихся высокими энерготратами и, соответственно, высокой потребностью в высококалорийном рационе питания. Однако существует ряд спортивных дисциплин, предъявляющих жесткие требования к определенной массе тела [1]. В связи с этим представляется актуальным изучить как количественное изменение субстратов, вступающих в метаболические процессы, в том числе в микрофлоре кишечника, влияет на эволюционно сложившиеся условия ее обитания.

Материалы и методы. Поиск научных статей в отечественных и зарубежных базах данных по ключевым словам «спортсмены», «микробиом», «сахарозаменители», «метаболизм», «видовое разнообразие» в период с 2010 по 2021 гг.

Результаты и их обсуждение. Известно, что 5–30% этих подсластителей достигают просвета толстого кишечника и непосредственно влияют на микрофлору [2]. Микроорганизмы могут регулировать свои метаболические пути, адаптируясь к измененному пулу пищевых веществ, и изменять скорость транскрипции соответствующих белков. Так, у мышей, получавших рацион, в котором углеводный компонент был представлен фруктозой, концентрации бутирата и пропионата в образцах фекалий были ниже, а сукцинат, лактат, таурин, тирозин, треонин, фенилаланин и ксилоза выше, чем у

мышей, получавших глюкозу [4]. Введение аспартама значительно увеличивало количество *Bifidobacterium* и *Blautia coccoides* и уменьшало соотношение *Bacteroides/Prevotella* [3]. Ацесульфам калия вызывает изменение метаболитов, синтезируемых микробиомом, таких как бутират и пируват. Циклакат и сукралоза могут изменять соотношение между масляной и пропионовой кислотами. Известно, что масляная кислота снижает резистентность к инсулину, нормализует показатели липидного профиля. Прием сахарина приводит к росту числа *Bacteroidetes*, *Turicibacter* и *Clostridiales* и уменьшает количество *Firmicutes* [2].

Длительное потребление стевии оказывает влияние на микробиом тонкого кишечника лабораторных животных. У 21-дневных мышей введение в рацион стевиозидов повышало уровень лептина, С-пептида, IL-6 и IL-17. Данный сахарозаменитель преимущественно изменяет соотношение представителей рода *Bacillus* (*Bacillus aerius*, *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis* и *Bacillus safensis*), также отмечен эффект в отношении *Streptococcus saliviroxodontae*, *Oceanobacillus sojajae* и *Staphylococcus lugdunensis*.

Эритрит (Е-968) вызывает значительное увеличение концентрации масляной и пентановой жирных кислот, что указывает на его потенциальное влияние на кишечный микробиом человека. Гидрогенизированный изомальт и изомальтит (Е-953) приводят к росту численности *Escherichia/Shigella* и *Streptococcus*, на фоне уменьшения альфа-разнообразия и концентрации *Prevotella*, *Faecalibacterium* и *Lachnospiraceae incertae sedis*. Лактитол (Е-966), Мальтит (Е-965), маннит (Е-421) и мальтитол увеличивали количество бифидобактерий, лактобактерий и SCFA по сравнению с контролем [2, 4].

Доказано, что некоторые сахарозаменители могут оказывать токсическое действие на представителей кишечного микробиома. Например, ксилит замедляет рост бактерий в полости рта, что объясняет его частое включение в состав зубных паст и жевательной резинки. Гликозиды стевии оказывают бактериостатическое действие на некоторые штаммы *Lactobacillus reuteri*; сукралоза ингибирует рост и активирует повреждение ДНК *E. Coli* [2].

Заключение. Избыточное потребление сахарозаменителей может вызывать значительные изменения состава кишечного микробиома, которые в свою очередь оказывают влияние на адаптационный потенциал спортсмена и его профессиональную результативность.

Библиографический список

1. Кобелькова И.В., Коростелева М.М., Кобелькова М.С. Коррекция пищевого поведения у спортсменов // Спорт и массовая культура в веке, взаимосвязь понятий; культурно-спортивные события. Сборник научных материалов. Отв. редактор Ю.А. Читаева. Санкт-Петербург, 2021. С. 11-14. DOI: 10.51623/907478190_21_11
2. Di Rienzi SC, Britton RA. Adaptation of the Gut Microbiota to Modern Dietary Sugars and Sweeteners. *Adv Nutr.* 2020;11(3):616-629. doi:10.1093/advances/nmz118
3. Plaza-Diaz J, Pastor-Villaescusa B, Rueda-Robles A, Abadia-Molina F, Ruiz-Ojeda FJ. Plausible Biological Interactions of Low- and Non-Calorie Sweeteners with the Intestinal Microbiota. *Nutrients.* 2020 ;12(4):1153. doi: 10.3390/nu12041153.
4. Silva JCP, Mota M, Martins FO, Nogueira C, Gonçalves T, Carneiro T, Pinto J, Duarte D, Barros AS, Jones JG, Gil AM. Intestinal Microbial and Metabolic Profiling of Mice Fed with High-Glucose and High-Fructose Diets. *J Proteome Res.* 2018;17(8):2880-2891. doi: 10.1021/acs.jproteome.8b00354.

СУТОЧНЫЕ КОЛЕБАНИЯ АКТИВНОСТИ МИКРОБИОМА: СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЗМОМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Кобелькова И.В.^{1,2}, кандидат медицинских наук, Коростелева М.М.^{1,3}, кандидат
медицинских наук, Кобелькова М.С.

¹ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», ² Академия постдипломного
образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА, ³ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы
народов», Россия, г. Москва

Введение. Состав микробиома кишечника уникален для каждого человека, при этом наблюдаются ежедневные колебания. Известно, что рацион является ключевым модифицируемым фактором, влияющим на состав кишечного микробиома, что указывает на высокий потенциал применения нутритивных стратегий для манипулирования микробным разнообразием и его метаболической активностью.

Материалы и методы. Поиск научных статей в отечественных и зарубежных базах данных по ключевым словам «спортсмены», «микробиом», «суточные ритмы», «метаболизм», «специализированные пищевые продукты», «биологически активные вещества» в период с 2010 по 2021 гг.

Результаты и их обсуждение. Суточные колебания в качественном и количественном составе микробиома и его метаболической активности обнаружены в ряде экспериментальных и клинических исследований. В течение дня количество бутират-продуцирующих бактерий *Lachnospira*, *Roseburia* и *Eubacterium* возрастает из-за поступления с пищей достаточного количества пищевых веществ. Содержание других микроорганизмов с более широким спектром гидролаз, расщепляющих углеводы с образованием ацетата и лактата (*Eggerthella*), устойчивых к действию желчных кислот (*Oscillospira* и *Bilophila*), увеличивается в ночное время по мере истощения субстратов питания [1].

Смена светлого и темного времени суток является важным сигналом для осуществления регуляции суточных ритмов как хозяина, так и представителей микрофлоры. Недостаточное воздействие солнечного света, необходимого для синтеза 25-гидроксивитамина D в коже, может опосредованно влиять на кишечную микробиоту. Витамин D3 увеличивает секрецию слизи, которая служит ареалом обитания для *Akkermansia muciniphila*, и защищает от колонизации условно-патогенными микроорганизмами (адгезивно-инвазивная *Escherichia coli*) [2].

Известно, что недостаточная продолжительность, низкое качество и различные нарушения сна (апноэ во сне, нарколепсия) связаны с увеличением массы тела, нарушением энергетического баланса, чувствительности к инсулину. Эффект воздействия антибиотика миноциклина на здоровых студентов (n=19), нивелирующий колебания количественного состава и метаболической активности микрофлоры на человека, приводил к увеличению продолжительности фазы медленного сна. Дефицит сна вызвал изменение соотношения основных представителей микрофлоры кишечника, приводя к снижению количества *Actinobacteria* и *Bacteroidetes* на 50% и 20%, соответственно, увеличивая содержание *Firmicutes* на 20%. Такой профиль микробиома часто встречается у больных, страдающих ожирением. Чрезмерный рост грамположительных молочнокислых бактерий приводит к накоплению d-лактата, предотвращение его чрезмерного накопления может улучшить ряд неврологических симптомов. На фоне приема эритромицина в течение 6 дней 22 пациентами с синдромом хронической усталости, отмечено снижение количества *Enterococcus faecalis*, что коррелировало с улучшением качества сна и субъективных показателей настроения [3].

Известно, что рацион питания влияет на разнообразие кишечного микробиома. Пищевые волокна и полисахариды увеличивают содержание бутират-продуцирующих семейств: *Lachnospiraceae* (*Roseburia*), *Eubacteriaceae* (*Eubacterium rectale*) и *Ruminococcaceae* (*Ruminococcus bromii*), по сравнению с долей *Alistipes*, *Bacteroides* и *Bilophila*, расщепляющих преимущественно белки. Способность микробиома кишечника

метаболизировать биологически активные вещества, входящие в состав не только традиционного рациона, но и специализированных пищевых продуктов (СПП), биологически активных добавок (БАД) и фармакологических препаратов представляет значительный интерес. Известно, что циркадные колебания влияют не только на организм хозяина, в том числе и на активность ферментов печени, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков, но и на микрофлору [4, 5]. Известно, что микробные циркадные ритмы модулируют долгосрочный иммунитет после вакцинации. *Akkermansia muciniphila*, муцин-деградирующая комменсальная бактерия обладает профилактическим действием в отношении развития язвенного колита, сахарного диабета 1 типа и ожирения, повышает клиническую эффективность терапии блокаторами иммунных контрольных точек у онкобольных [6]. Учитывая суточные колебания количества этих микроорганизмов, своевременное введение СПП - источников пребиотиков может повысить эффективность различных методов профилактики и лечения некоторых заболеваний и пограничных состояний.

Заключение. Суточным ритмам подвержена способность дальнейшего превращения активных компонентов, следовательно, направленное изменение и/или учет циркадных ритмов микробиома может оказывать важное влияние на эффективность терапии путем оптимизации рациона с помощью БАД. Представляется актуальным дальнейшее изучение механизмов, регулирующих периферические суточные ритмы микробиома и возможности их модификации для оптимизации адаптационного потенциала

Библиографический список

1. Parkar S.G., Kalsbeek A., Cheeseman J.F. / Potential Role for the Gut Microbiota in Modulating Host Circadian Rhythms and Metabolic Health. //Microorganisms. 2019. V.7. № 2. P. 41. doi:10.3390/microorganisms7020041
2. Кобелькова И.В., Коростелева М.М., Никитюк Д.Б. Хронопитание как инструмент оптимизации адаптационного потенциала спортсменов // Современные вопросы биомедицины. 2022. Т. 6. № 1. С. 42-48 doi:10.51871/2588-0500_2022_06_01_17
3. Jackson M.L., Butt H., Ball M., Lewis D.P., Bruck D. /Sleep quality and the treatment of intestinal microbiota imbalance in Chronic Fatigue Syndrome: A pilot study. //Sleep Sci. 2015. № 8. P. 124–133. doi: 10.1016/j.slsci.2015.10.001.
4. Pearson J.A., Wong F.S., Wen L. /Crosstalk between circadian rhythms and the microbiota // Immunology. 2020. V. 161 № 4. P:278-290. doi:10.1111/imm.13278
5. Gibbs J., Ince L., Matthews L., Mei J., Bell T. et al./ An epithelial circadian clock controls pulmonary inflammation and glucocorticoid action. // Nat Med. 2014. V. 20. №8. P. 919-26. doi: 10.1038/nm.3599.
6. Routy B., Le Chatelier E., Derosa L., Duong C.P.M., Alou M.T. et al. /Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. //Science. 2018. V. 5. № 359(6371). P. 91-97. doi: 10.1126/science.aan3706.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ СЛИЗИ УЛИТОК *ASCHATA FULICA*

**Комиссарова А.А., студент; Новак А.И., доцент, доктор биологических наук
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Рязань, Россия**

Введение. Секрет эпителиальных желез улиток содержит гликозаминогликаны, коллаген, эластин, гликолевую кислоту, аллантиин, натуральные антибиотики, белки, пептиды, гемоцианин, витамины А, Е, С, ферменты, кальций и микроэлементы (цинк, железо, медь) [3, 4]. Большинство из этих компонентов обеспечивают эластичность и

упругость кожи человека, поэтому слизь улиток оказывает на нее регенерирующее воздействие, способствует удалению шрамов и морщин [1].

Несмотря на то, что улитки обитают в почве, случаи поражения покровов возбудителями бактериальных и грибковых инфекций у них не описаны. Антимикробную активность проявляют белки, имеющие меньшие размеры, чем гемоцианин, или короткие пептиды [4]. Их бактериостатический эффект особенно выражен в отношении грамотрицательных бактерий, включая *Pseudomonas aeruginosa*. Кроме того, компоненты слизи улиток подавляют рост грибов рода *Candida* [4].

По мнению D. Bortolotti [2], бактерицидные свойства слизи моллюсков обусловлены присутствием в ней лектинов, которые склеивают бактериальные клетки и лишают их способности проявлять патогенные свойства.

Очищенные белки из слизи улиток, проявляющие антимикробную активность, можно добавлять в средства для лечения глубоких ран или ожогов, а также применять в виде спрея при инфекциях легких [1].

В вышеуказанных работах описаны исследования слизи садовой улитки *Helix aspersa*. Бактерицидные и фунгицидные свойства слизи улиток *Achatina fulica* практически не изучены, хотя именно эти улитки используются в большинстве косметических салонов для выполнения процедур по омоложению кожи.

С целью определения спектра антимикробной активности слизи африканских улиток *Achatina fulica* изучили состав микроорганизмов в смывах субстрата из террариума.

Материалы и методы. Выполнены микробиологические исследования субстрата из разных слоев: образец № 1 – взят с поверхности, по которой постоянно перемещаются улитки; образец № 2 – со дна террариума, куда улитки периодически закапываются. Контроль – чистый увлажненный субстрат.

Для определения состава микрофлоры сделаны смывы опытных и контрольного образца, выполнены посевы глубинным методом на питательный агар и среду Сабуро в чашках Петри. Культивировали посевы на агаре в течение 24 часов при температуре 37 °С, на среде Сабуро – 72 часа при 25 °С. Для выявления стафилококков делали посевы на желточно-солевом агаре.

Результаты и их обсуждение. По истечении времени культивирования оценили результаты. На желточно-солевом агаре в образцах № 1, 2 и в контроле образовались колонии ярко желтого цвета. При микроскопическом исследовании обнаружены грамположительные кокки, собранные гроздьями. Лецитиназная активность не проявилась. Пробы на плазмокоагулазу были отрицательными. На основании этого можно сделать вывод об отсутствии *Staphylococcus aureus*.

По результатам посева на питательный агар глубинным методом в контроле по культуральным признакам выявлено 4 разновидности колоний бактерий (рис. 1).

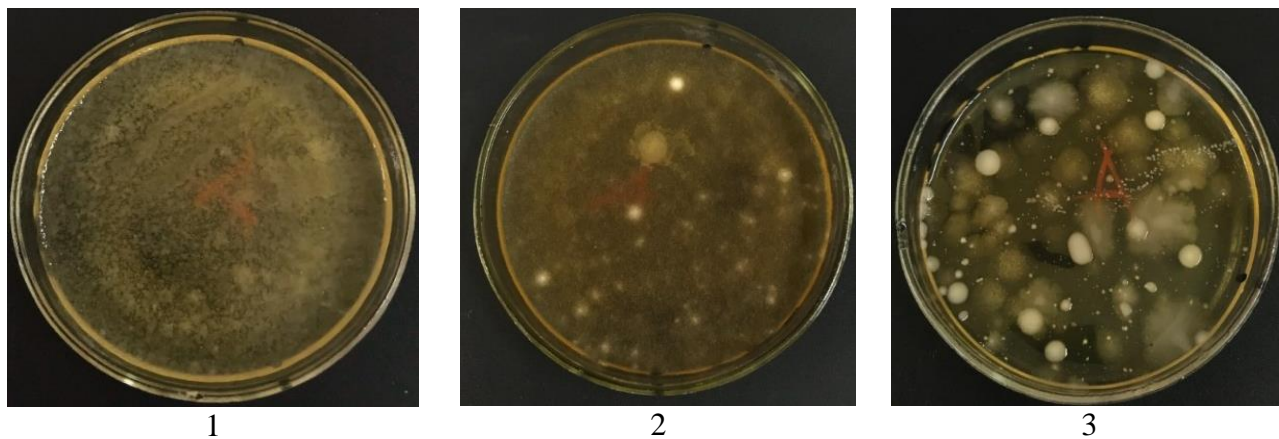


Рис. 1. Результаты посева глубинным методом на мясопептонном агаре:
1 – проба № 1; 2 – проба № 2; 3 – контроль.

Поверхность агара была полностью покрыта колониями трех типов, белые колонии округлой формы выросли в толще среды (анаэробы). В пробе № 1 сформировалось два вида колоний в виде тонкой плёнки на поверхности среды. Анаэробы отсутствовали. В пробе № 2 зафиксировано три вида колоний, один из которых – в толще среды (анаэробы).

При посеве на среду Сабуро (табл. 1) в контрольном образце обнаружены дрожжевые грибы *Saccharomyces cerevisiae* (колонии белого цвета, крупные, блестящие, выпуклые), плесневые грибы *Mucor* sp. (пушистый мицелий с черными спорангиями) и *Aspergillus* spp. (плоский мицелий черного цвета).

В образце № 1 практически всю поверхность питательной среды заполнил мицелий плесени из рода *Mucor*. По краям на свободном от плесени субстрате идентифицировано два вида дрожжевых грибов: *S. cerevisiae* и *Brettanomyces bruxellensis*. Появление колоний *B. bruxellensis* вероятно связано с характером кормления улиток, так как эти дрожжи в естественной среде локализуются на кожуре фруктов.

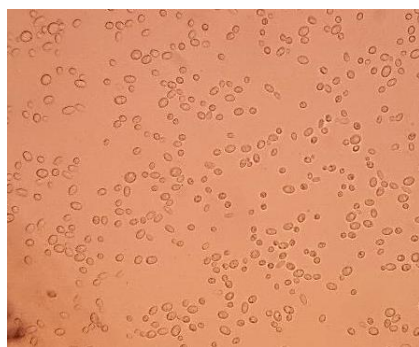
В образце № 2 центральную зону поверхности среды занимали плесневые грибы из рода *Aspergillus*: *A. niger* (черного цвета) и *A. alliaceus* (желтые с белым краем и черным центром). По периферии чашки тонкой полоской располагалась плесень из рода *Mucor*. Дрожжевые грибы не обнаружены, что может свидетельствовать об антагонизме с плесневыми грибами.

Таблица 1 – Результаты микроскопической идентификации грибов

Проба № 1	Проба № 2	Контроль
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Mucor</i> sp.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Mucor</i> sp.
<i>Mucor</i> sp.	<i>A. alliaceus</i>	<i>Aspergillus</i> spp.



1



2



3

Рис. 2. Микрофотографии дрожжевых и плесневых грибов:

1 – *Saccharomyces cerevisiae*; 2 – *Brettanomyces bruxellensis*; 3 – *Aspergillus* spp.

Заключение. Таким образом, слизь улиток *Achatina fulica* оказывает фунгицидное действие на грибы рода *Aspergillus*, а также способствует уменьшению общей численности бактерий и элиминации анаэробов.

Библиографический список

1. Троценко Т.В. Ранозаживляющие и ремоделирующие свойства секрета улитки и косметических средств на его основе Endocare – SCA® Biorepare Technology // Косметика и медицина. 2017. № 1. С. 84-90.

2. Bortolotti D., Trapella C., Bernardi T., Rizzo R. Letter to the Editor: Antimicrobial properties of mucus from the brown garden snail *Helix aspersa* // Br. J. Biomed. Sci. 2016. V. 73(1). P. 49-50.

3. Dolashka P., Dolashki A., Van Beeumen J. et al. Antimicrobial activity of molluscan hemocyanins from *Helix* and *Rapana* snails // *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2016. V. 17(3). P. 263-270.
4. Pitt S.J., Graham M.A., Dedi C.G., Taylor-Harris P.M., Gunn A. Antimicrobial properties of mucus from the brown garden snail *Helix aspersa* // *Br. J. Biomed. Sci.* 2015. V. 72(4). P. 174-181.

АНТИКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА

Кузиева Н.Х., стажер-исследователь, Абдулмянова Л.И., доктор биологических наук, старший научный сотрудник

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. Во всем мире спрос на антикоагулянтные соединения еще больше возрос во время пандемии COVID-19. Это привело к нехватке и увеличению их стоимости. Сегодня в качестве антикоагулянтов широко применяют гепарин, клексан, варфарин и др. Однако, многие из них наряду с высокой стоимостью обладают и рядом побочных эффектов.

На современном этапе эндофитные грибы признаны неисчерпаемым источником различных биологически активных соединений. А в последнее время начали появляться данные по вторичным метаболитам эндофитных грибов, обладающих антикоагулянтными свойствами. Однако, в нашей республике ранее данная тема не исследовалась. В этой связи, поиск и изучение антикоагулянтных свойств эндофитных грибов лекарственных растений Узбекистана является своевременной и актуальной.

С древних времен основным фармацевтическим сырьем были растения. Растения также являются местом обитания эндофитных грибов – микроорганизмов, бессимптомно живущих внутри различных органов растений. В последние десятилетия установлено, что эндофитные грибы обладают способностью синтезировать идентичные или аналогичные метаболиты растения-хозяина, относящиеся к различным классам веществ: терпеноиды, стероиды, ксантоны, хитоны, фенолы, изокумарины, бензопирононы, тетралоны, цитохалазины, энниатины [2]. Данные метаболиты проявляют противораковые, антифунгальные, антибактериальные, антикоагулянтные и другие свойства.

Растительный мир Узбекистана насчитывает более 4230 видов сосудистых растений, 1154 вида которых обладают лечебными свойствами [7]. Хрен обыкновенный (*Armoracia rusticana*), Гинкго двулопастный (*Ginkgo biloba*), Ромашка аптечная (*Matricaria chamomilla*) эндемичный вид семейства *Apiaceae*, распространенные на территории республики, являются растениями, снижающими способность крови свертываться [3].

В этой связи нами исследован антикоагулянтный потенциал эндофитных грибов, выделенных из вышеперечисленных растений и сохраняемых в лаборатории биохимии и биотехнологии физиологически активных соединений Института микробиологии Академии наук Республики Узбекистан.

Материалы и методы. Для определения антикоагулянтной активности экстрактов вторичных метаболитов эндофитных грибов, культуры выращивали на картофельно-декстрозном бульоне, на качалке при 180 об/мин, температуре 28°C в течение 7-10 дней. Биомассу отделяли центрифугированием при 6000 об/мин. и сохраняли в холодильнике при -20°C.

Для определения антикоагулянтной активности экстракцию вторичных метаболитов из биомассы эндофитных грибов проводили по Langetal. с модификациями Nazalin etal [4]. Для этого 10 г биомассы гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера, переносили в коническую колбу, содержащую 40 мл этилового эфира уксусной кислоты, и оставляли на

сутки на качалке при комнатной температуре для перемешивания. Затем смесь отфильтровывали через бумажный фильтр (ватман бумага №1) и добавляли Na₂SO₄ из расчета 40 мкг/мл для удаления водного слоя.

Из половины полученного суммарного этилацетатного экстракта внесением гексана в соотношении 1:1 получали гексановую фракцию. Далее смеси упаривали на роторном испарителе, сухой остаток (этилацетатной и гексановой фракции) растворяли в 1,5 мл диметилсульфоксида (ДМСО). Готовые экстракты сохраняли при температуре +4°C.

Коагуляционные исследования в приготовленных экстрактах: протромбиновое время (РТ), частично активированное тромбoplastиновое время (аРРТ), тромбиновое время (ТВ) проводили на аппарате HumaClot Junior (Human GmbH, Висбаден, Германия). В качестве контроля использовали 3 мл крови, взятых у здорового человека в растворе 3,8% цитрата натрия. Данный раствор центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 минут для отделения плазмы. Этилацетатные и гексановые фракции анализировали по отношению к плазме крови при разбавлении в соотношении 1:5 и времени инкубации 15 секунд.

Для определения протромбинового времени (РТ) смесь из 50 мкл плазмы и 10 мкл экстракта инкубировали, добавляли 100 мкл реагента (Human GmbH, Висбаден, Германия) и тестировали в аппарате при 37°C.

Для определения частично активированного тромбoplastинового времени (аРРТ) к 50 мкл плазмы и 10 мкл экстракта добавляли 50 мкл реагента 1 (Human GmbH, Висбаден, Германия), инкубировали, затем вносили 50 мкл реагента 2 (CaCl₂) и тестировали в аппарате при 37°C.

Для определения тромбинового времени (ТВ) 75 мкл плазмы и 15 мкл экстракта инкубировали, добавляли 75 мкл реагента (Human GmbH, Висбаден, Германия) и тестировали в аппарате при 37°C [5, 6].

Результаты и их обсуждение. Для исследования антикоагулянтных свойств отобрано 4 штамма эндофитных гриба: 7AR - из Хрена обыкновенного (*Armoracia rusticana*), GB9S - из Гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba*), 17MC - из Ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla*) и A87S эндемичный штамм из семейства *Apiaceae*.

Как видно по результатам, представленным в таблице 1, накопление биомассы в исследуемых культурах различно и варьирует от 18,3 до 27,2 г/л. Содержание полученных вторичных метаболитов также различно. Так, у штаммов 7AR и A87S, вторичные метаболиты в равной степени экстрагируются и этилацетатом, и гексаном. У штамма GB9S выход метаболитов в гексановую фракцию в 2 раза выше, а у 17MC – почти в 3 раза выше в этилацетатную.

Таблица 1 – Количество сырой биомассы и сухих экстрактов эндофитных грибов

Штаммы	Содержание биомассы (г/л)	Этилацетатная фракция (мг)	Гексановая фракция (мг)
7AR	18.3	310	320
GB9S	25.5	200	430
17MC	19.2	400	130
A87S	27.2	300	310

Для определения антикоагулянтных свойств полученных фракций коагуляционные тесты - протромбиновое время (РТ), частично активированное тромбoplastиновое время (аРРТ) и тромбиновое время (ТВ) проводили в сравнении с гепарином в качестве положительного контроля. В качестве отрицательного контроля использовали ДМСО (табл. 2).

Таблица 2 – Результаты коагулограммы фракций вторичных метаболитов эндофитных грибов

1:5;15 секунд инкубация	PT			aPTT	TT
	Вр.	PTI(%)	INR(МНО)		
Нормал	11.6	104.0	0.97	31.9	16.3
Гепарин	>81	-	-	>241	>301
ДМСО	16.1	60.8	1.40	100.8	100.1
Этилацетатная фракция					
7AR	3.0	86.3	1.10	>241	>301
GB9S	15.7	63.4	1.36	105.5	>301
17MC	28.5	28.5	2.62	>241	>301
A87S	6.1	60.8	1.40	4.2	>301
Гексановая фракция					
7AR	>81	-	-	>241	219.3
GB9S	20.9	41.3	1.86	>241	>301
17MC	17.8	51.6	1.56	0.5	>301
A87S	45.8	17.2	4.41	>241	>301

Показатель протромбиновое время (PT) состоит из 3 показателей: протромбиновое время (PT) в секундах, протромбиновый индекс (PTI) в процентах, международное нормализованное отношение (INR).

Нормальные значения коагулограммы у здорового человека Протромбиновое время (PT) составляет: 9,0-15,0 сек, протромбиновый индекс (PTI): 78-142%, международное нормализованное отношение (INR): 0,85-1,15, частично активированное тромбопластинное время (aPPT): 25,4-35,0 сек, тромбиновое время (TT): 10,3-16,6 сек. [1].

В результате исследований установлено, что гексановая фракция штамма 7AR, выделенного из Хрена обыкновенного, обладает таким же показателем протромбинового времени, что и гепарин, и не дает образовываться сгусткам. Гексановая фракция штамма A87S, выделенного из эндемика семейства *Apiaceae*, замедляет образование сгустка почти в 3 раза, и обладает значением INR на уровне 4,41. Принимая во внимание, что при лечении варфарином — целевой уровень INR 2,0—3,0, исследования антикоагулянтных свойств метаболитов штамма A87S весьма перспективно.

Частично активированное тромбопластинное время (aPPT) на уровне гепарина показали фракции 5 штаммов: этилацетатная- 7AR и 17MC, гексановая-7AR, GB9S и A87S.

Удлинение показателя тромбиновое время (TT), указывающего на нарушения конечного этапа свертывания, зависит от количества и качества фибриногена, а также присутствия в крови антикоагулянтов прямого действия. По полученным результатам тромбинового времени (TT) можно предположить наличие во всех фракциях всех исследованных культур эндофитных грибов вторичных метаболитов с антикоагулянтными свойствами.

Заключение. Таким образом, полученные результаты показывают, перспективность исследований антикоагулянтных свойств эндофитных грибов растений Узбекистана. Вторичные метаболиты штаммов: 7AR из Хрена обыкновенного (*Armoracia rusticana*), 17MC из Ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla*) и A87S из эндемика семейства *Apiaceae*, обладают достаточно высоким потенциалом для разработки антикоагулянтных препаратов.

Библиографический список

1. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. “Клиническое оценка результатов лабораторных исследований”, 2000, Москва-Медицина, 244-272.
2. Bacon C.W., Mhite J.F. *Microbial Endophytes*. Marcel Dekker, New-York, p. 85-117.
3. Bone K “Potential interaction of *Ginkgo biloba* leaf with antiplatelet or anticoagulant drugs: what is the evidence?” (2008) *Mol Nutr Food Res* 52(7):764-771.

4. Hazalin N.A., Ramasamy K., Lim S.M., Wahab I.A., Cole A.Lj, Majeed A.A. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. BMC Complementary and alternative medicine. 2009, 9:46-49.

5. Mahdi Alikhani Pour, Soroush Sardari, Ali Eslamifar, Abid Azhar, Mohammad Rezvani and Milad Nazari “Cheminformatics-Based Anticoagulant Study of Traditionally Used Medicinal Plants”, 2017, Iranian Biomedical Journal 21(6): 400-405.

6. Muhammad Akram, Abid Rashid “Anti-coagulant activity of plants: mini review” (2017) J Thromb Thrombolysis 44: 406–411.

7. Nowak A., Nowak S., Nobis M. Distribution patterns, ecological characteristic and conservation status of endemic plants of Tajikistan – a global hotspot of diversity. // J. Nat. Conserv., 2011. 19: 296-305.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ВЕКТОРА НА ОСНОВЕ ПРОМОТОРА ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТ ДЕГИДРОГЕНАЗЫ *PICNIA PASTORIS*

Мистерова А.В., аспирант

ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», г. Киров, Россия

Введение. Платформа для производства биофармацевтических субстанций на основе метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* на сегодняшний день активно исследуется зарубежными учеными, но при этом не используются в российской биотехнологической промышленности. *P. pastoris* сочетают в себе преимущества бактериальных экспрессионных платформ (быстрый рост на простых средах) и клеток высших эукариот (возможность эффективной секреции правильно фолдированного, активного целевого белка в культуральную жидкость). Однако экспрессия рекомбинантного белка чаще всего производится с промотора алкогольоксидазы 1 (pAOX1), что имеет серьезные недостатки, среди которых - использование метанола в качестве индуктора синтеза белка и единственного источника углерода. Вследствие этого культивирование в промышленном масштабе трудноосуществимо из-за высокой токсичности и пожароопасности метанола. В связи с этим актуальной становится разработка экспрессионных кассет с использованием других промоторов, которые позволили бы создать масштабируемый, эффективно реализуемый в промышленности биопроцесс. Конститутивный промотор глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (pGAP) обладает наибольшей активностью среди аналогов и позволяет вести культивирование с использованием глицерина или глюкозы [2]. Таким образом, **цель** данной работы – сконструировать экспрессионную кассету, включающую промотор pGAP, с целью дальнейшего создания штаммов-продуцентов рекомбинантных белков на основе клеток дрожжей *P. pastoris*. В задачи работы входит дизайн, оптимизация и сборка нуклеотидной последовательности промотора pGAP, и клонирование его в экспрессионный вектор pVR2PDGF, несущий в себе ген потенциально важной для регенеративной медицины молекулы рекомбинантного тромбоцитарного фактора роста человека rhPDGF-BB [1, 3].

Материалы и методы. В качестве вектора экспрессии использовали pVR2PDGF (Герасимов А.С. и др.), аналогичный коммерческому вектору pPICZα (Invitrogen, США), содержащий последовательность промотора pAOX1. Информация о нуклеотидной последовательности гена GAP была получена в рецензируемой базе данных NCBI GenBank [4]. В качестве промотора pGAP была взята последовательность из 493 нуклеотидов, находящихся перед геном, кодирующим фермент GAP. Оптимизация GC-состава производилась с использованием утилиты NCBI Blast Nucleotide [5]. Для последующего удобного клонирования в целевой вектор последовательность pGAP была объединена со следующей за ней последовательностью сигнального пептида AMF. Синтез праймеров

производился ЗАО «Евроген». Сборка нуклеотидной последовательности рGAP-AMF производилась методом ПЦР в две стадии при помощи высокоточной ДНК-полимеразы *Phusion* (Thermo Fisher Scientific, США). На первой стадии в качестве матрицы использовали смесь олигонуклеотидов (по 1 мкМ каждого); продукт первой стадии использовался в качестве матрицы для второй стадии сборки. Параметры проведения реакции ПЦР указаны в таблице 1.

Таблица 1 – Состав реакционной смеси для первой стадии ПЦР

№	Компоненты реакции	Количество, мкл	На 10 реакций, мкл
1	Смесь олигонуклеотидов (1 мкМ)	0,5	5
2	Phusion ДНК-полимераза	0,05	0,5
3	10 мМ dNTP	0,4	4
4	5× Буфер HF	4	40
5	5М бетаин	4	40
6	MQ	11,05	110,5
7	Итого	20	200

На второй стадии ПЦР проводили с двумя фланкирующими олигонуклеотидами, содержащими уникальные сайты рестрикции *PacI* и *XhoI*. Параметры проведения реакции ПЦР указаны в таблице 2.

Визуализация результатов ПЦР производилась при помощи электрофореза в 1,5% агарозном геле. Собранный фрагмент рGAP-AMF вырезали из геля и очищали с помощью набора MinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN, Германия). Клонирование очищенного фрагмента в целевой вектор проводили по уникальным сайтам рестрикции *PacI* – *XhoI* с использованием T4 ДНК лигазы (Thermo Fisher Scientific, США). Контроль реакции осуществляли методом электрофореза в 1% агарозном геле. Полученную лигазную смесь хранили при -20°C для дальнейшей наработки.

Результаты и их обсуждение. В ходе оптимизации нуклеотидной последовательности был снижен GC-состав фрагмента с 63 до 44%, снижено число редких кодонов для *P.pastoris* с 18 до 4, а также были удалены сайты рестрикции *BamHI* и *BglII*. Для сборки фрагмента рGAP-AMF на первой стадии ПЦР был произведен подбор оптимальной температуры отжига (температурный градиент от 35 до 55°C), а также состава реакционной смеси: было изучено влияние буферного раствора (Thermo Fisher HF или GC), наличия в реакционной смеси бетаина (1 М), диметилсульфоксида (2%) и PEG-4000 (5%), а также концентрации исходной матрицы (смеси олигонуклеотидов) на точность сборки. Наилучший результат наблюдался при использовании стандартного буфера HF и добавлении бетаина до концентрации 1М при температуре отжига 42°C и количестве олигонуклеотидов 0,5 мкл.

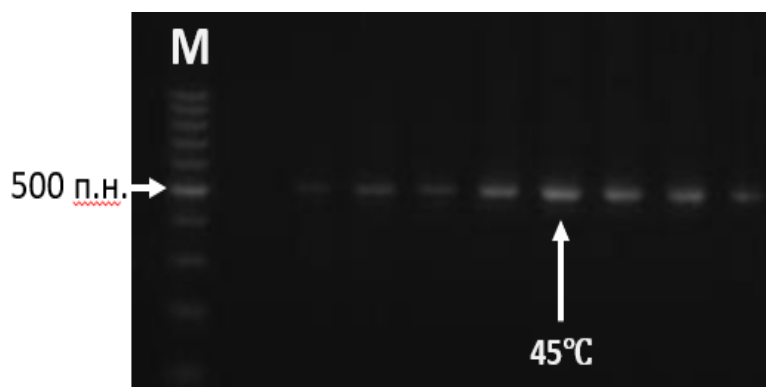


Рис. 1. ПЦР 2: сборка фрагмента рGAP-AMF. М – маркер молекулярных масс ДНК (#SM0241, Thermo Fisher Scientific, США).

Примечание: Стрелкой указаны наиболее оптимальные условия сборки.

На второй стадии использовали полученный ПЦР-продукт с первой стадии в качестве матрицы и также проводили подбор оптимальной температуры отжига фланкирующих праймеров; оптимальная температура отжига составила 45°C (рис.1).

Условия реакции указаны в таблице 2.

Таблица 2 – Состав реакционной смеси для второй стадии ПЦР

№	Компоненты реакции	Количество, мкл	На 10 реакций, мкл
1	ПЦР-продукт 1	1	10
2	Phusion ДНК-полимераза	0,05	0,5
3	10 mM dNTP	0,4	4
4	5× Буфер HF	4	40
5	Праймер pGAP_f	0,15	1,5
6	Праймер AMF_r	0,15	1,5
7	MQ	14,25	142,5
8	Итого	20	200

В результате сборки получили фрагмент pGAP-AMF размером 556 п.н., содержащий на концах сайты рестрикции PacI и XhoI. После очистки концентрация фрагмента составила ок. 240 нг/мкл. Полученный очищенный фрагмент и вектор рестрицировали эндонуклеазами PacI и XhoI, при этом правильно рестрицированный вектор выделяли из геля и очищали перед лигированием. На этапе рестрикции из вектора были удалены последовательности промотора pAOX1 и сигнального пептида AMF (рис. 2а) и заменены на последовательность pGAP-AMF (рис. 2б). Очищенный фрагмент лигировали в вектор pGAP_PDGF при помощи T4 ДНК-лигазы.

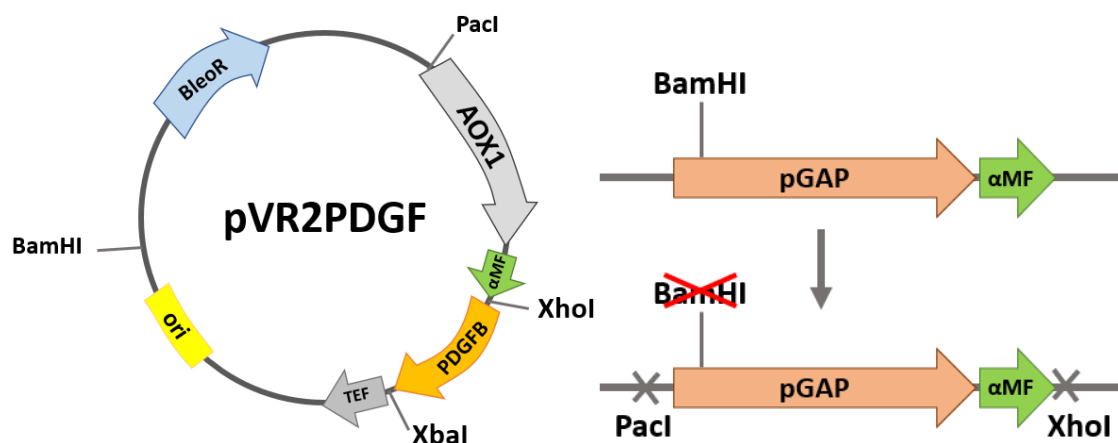


Рис. 2. а - карта экспрессионного вектора pVR2PDGF. На карте указаны: сайты рестрикции PacI, XhoI, XbaI, BamHI; BleoR – ген устойчивости к селективному маркеру зеоцину, AOX1 – промотор алкогольоксидазы-1 *P.pastoris*, αMF – сигнальный пептид альфа-препрофактор *S.cerevisiae*, PDGFβ – рекомбинантный ген тромбоцитарного фактора роста человека PDGFβ, TEF – терминатор транскрипции, ori – бактериальный ориджин репликации; б – схема клонирования целевого фрагмента. На схеме указаны: pGAP – последовательность промотора pGAP, αMF – последовательность сигнального пептида, сайты рестрикции – BamHI, PacI, XhoI.

Заключение. Полученные в ходе сборки последовательность промотора рGAP и вектор на его основе помогут создать эффективный штамм-продуцент тромбоцитарного фактора роста человека rhPDGFBB – перспективной терапевтической молекулы для регенеративной медицины. Полученный вектор рGAP_PDGFBB и штамм-продуцент на его основе может открыть дорогу для разработки эффективного и масштабируемого биопроцесса, в котором будут учтены положительные особенности дрожжей *P. pastoris* и устранена необходимость в использовании метилового спирта.

Библиографический список

1. Kaigler D., Avila G., et al. Platelet-Derived Growth Factor Applications in Periodontal and Peri-Implant Bone Regeneration [Text] // Expert Opin.Biol.Ther. 2011. Mar; 11(3): 375–38.
2. Looser V., Bruhlmann B., et al. Cultivation strategies to enhance productivity of *Pichia pastoris*: A review. Biotechnol Adv. 2015 Nov 1;33(6 Pt 2): 1177-93.
3. Nagai M.K., Embil J.M. Becaplermin: recombinant platelet derived growth factor, a new treatment for healing diabetic foot ulcers [Text] // Expert OpinBiol Ther. 2002. 2(2): 211-8.
4. NCBI Blast Nucleotide [Электронный ресурс] // Доступ к программе: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn>
5. NCBI GenBank [Электронный ресурс] // Доступ к ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОСНОВНЫХ ПАТОГЕНОВ ПАЦИЕНТОВ УРОНЕФРОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Митина О.П.¹, Гусева Т.М., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук², Канина И.В.²

¹ГБУЗ МО «Каширская ЦРБ», г. Кашира, ²ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия

Введение. В амбулаторной практике одними из наиболее частых заболеваний, при которых назначение антибактериальной терапии обязательно, являются инфекционно-воспалительные заболевания мочевыводящих путей. Для эффективности эмпирической терапии должны применяться препараты с учетом локального фенотипа чувствительности ведущих уропатогенов. Необоснованное и неадекватное использование антибиотиков, антибактериальная терапия без бактериологического посева мочи и определения чувствительности выделенной микрофлоры к антибиотикам, неправильная комбинация препаратов стали причиной появления штаммов с поли- и панрезистентностью [1-5]. Таким образом, проблема антибиотикорезистентности уропатогенов является актуальной и диктует поиски рационального решения выбора антибактериальной терапии у пациентов уронефрологического профиля.

Материалы и методы. Исследовано 617 образцов мочи от амбулаторного контингента уронефрологического профиля в городском округе Кашира. Посев биоматериала производился в соответствии с клиническими рекомендациями ФЛМ «Бактериологический анализ мочи» 2014 г., с применением хромогенного HiCrom UTI агара. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств. Чувствительность к антимикробным препаратам тестировалась диско-диффузионным методом с применением агара Мюллера-Хинтона и интерпретацией по EUCAST 2020 г., версия 10.

Результаты и их обсуждение. Выявлено 273 штамма микроорганизмов, из которых основные возбудители инфекционно-воспалительных заболеваний мочевыводящих путей - *Escherichia coli* (68,5%) и *Klebsiella pneumoniae* (12%).

При анализе антибиотикорезистентности ведущих уропатогенов выявлено следующее. Наибольшая активность в отношении *E. coli* выявлена у фосфомицина - 91,7% чувствительных штаммов (110 из 120), у фурадонина - 91,7% (133 из 145), гентамицина - 92,3% (143 из 155). Наименьшая активность у ампициллина, всего выявлено 16% чувствительных штаммов (28 из 179). Также чувствительность штаммов *E. coli* определялась к амикацину - 88% чувствительных (14 из 16), к амоксиклаву - 71% (96 из 135), к цефалоспорином III поколения - 70% (125 из 179), фторхинолонам 59% (82 из 139).

В отношении *K. pneumoniae* наибольшая активность выявлена у аминогликозидов. Чувствительность к гентамицину выявлена у 82% штаммов (27 чувствительных из 33), к амикацину - у 82% штаммов (9 из 11). *K. pneumoniae* показали высокий уровень чувствительности к цефалоспорином III поколения 73% (24 из 33). 9 штаммов оказались резистентны к цефалоспорином III поколения. Они были протестированы на чувствительность к цефепиму и показали 100% устойчивость, 3 штамма оказались продуцентами ферментов карбапенемаз, резистентными к имипенему и меропенему. В отношении фторхинолонов активность *K. pneumoniae* составила 63,6% (21 чувствительный штамм из 33). Чувствительность к амоксиклаву составила 45,5% (15 из 33). К ампициллину *K. pneumoniae* природно резистентна.

Заключение. При подозрении на уропатологию и назначении эмпирической терапии оценка локального фенотипа резистентности ведущих патогенов необходима для исключения из препаратов выбора антибактериальных средств, к которым отмечается высокий уровень резистентности.

Библиографический список

1. Бочкарев А.Ю., Костюков С.В., Шаматрина Е.И., Меринов Д.С. Антибиотикорезистентность у урологических пациентов с воспалительными заболеваниями верхних мочевыводящих путей // Экспериментальная и клиническая урология. 2019. №2. С. 106-110.
2. Кузьмичев Б.Ю., Орлова Е.А., Умерова А.Р., Дорфман И.П., Бузина О.Р. Анализ антибиотикорезистентности у больных урологического профиля // Научно-методический электронный журнал «Концепт». 2016. Т. 15. С. 676-680.
3. Кульчавеня Е.В., Чередниченко А.Г., Неймарк А.И., Шевченко С.Ю. Частота встречаемости госпитальных уропатогенов и динамика их чувствительности // Урология. 2015. №2. С. 13-16.
4. Рафальский В.В. Антибиотикорезистентность возбудителей неосложненных инфекций мочевых путей в Российской Федерации // Вестник урологии. 2018. №6(3). С.50-56.
5. Рязанцев В.Е., Власов В.В., Румянцев Ф.В., Киушкин В.О. Динамика антибиотикорезистентности у больных урологического профиля // Эффективная фармакотерапия. 2020. Т. 16. № 3. С. 8-13.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РУК В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Мишутина М.В., Мартынов М.А., Канина И.В., аспирант кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия

Введение. В клинической практике существует собирательное понятие «респираторные вирусные инфекции», включающее в себя ряд заболеваний, преимущественно с воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями передачи. Однако существует третий путь передачи респираторных инфекций – контактно-бытовой, хотя чаще его ассоциируют с фекально-оральными инфекциями и инфекциями кожных покровов. Согласно последним данным, контактно-бытовой путь передачи превалирует и занимает существенное место в распространении респираторных инфекций, в том числе и новой коронавирусной инфекции.

Представители семейства *Coronaviridae* spp. способны сохранять жизнеспособность на окружающих предметах до 72 часов [5]. При касании контаминированными руками лица возможна адсорбция вируса на слизистых оболочках и развитие патологического процесса. Именно поэтому применение антисептических средств в настоящее время широко распространено и актуально. На современном рынке представлен ряд антисептических препаратов с разным составом и механизмом действия, при этом основная задача химиотерапевтических препаратов – снижение или предотвращение контаминации кожи. Немаловажным остаётся требование к абсолютной безопасности и отсутствию токсичности для организма человека [1-5].

Целью исследования является определение эффективности кожных антисептических средств различного химического состава в профилактике инфекций с контактно-бытовым механизмом передачи.

Материалы и методы. В исследовании использовано 5 наименований антисептических средств, антисептическое действие которых испытано на микрофлоре рук 10 студентов. Участие в работе имело добровольный характер, все участники получили развернутую информацию о целях и методах исследования.

Отбор проб для бактериологического исследования производился с поверхности рук студентов методом отпечатков согласно приказу № 535 «Об унификации микробиологических методов исследований». Посев производился на питательные среды для культивирования соответствующих микроорганизмов в следующей последовательности: до использования антисептика, после использования и через два часа после обработки рук препаратом. В контрольной группе (№ 5) обработка антисептическим составом не проводилась. По истечении времени инкубации оценивали результаты при помощи макроскопических и микроскопических методов исследования. Идентификация выделенных культур осуществлялась по морфологическим и культуральным особенностям.

Результаты и их обсуждение. Величина общего микробного числа в контрольной группе составила 56 КОЕ/см², повторное исследование через 15 минут и 2 часа без использования антисептика показало значительную контаминацию кожи: 125 и 170 КОЕ/см² соответственно. Полученные данные отображены в таблице.

По результатам исследования все образцы в той или иной степени обладают бактерицидной активностью и могут быть использованы в качестве профилактических средств для индивидуальной защиты от контаминации поверхности рук микроорганизмами. Наибольшая степень активности выявлена у образца №1, уровень контаминации после использования которого снизился на 20%. При этом по истечении длительного времени экспозиции количество микроорганизмов вновь возросло до исходного уровня. Таким

образом, использование антисептических препаратов должно производиться систематически, с интервалом в 1-2 часа для достижения наиболее высоких результатов деконтаминации.

Таблица 1 – ОМЧ при использовании различных групп антисептиков

№ группы	Величина ОМЧ, КОЕ/см ²		
	До использования	Непосредственно после использования	Через 2 часа после использования
1	114	24	135
2	11	1	2
3	94	32	46
4	10	0	7
5	56	-	-

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что антисептические препараты значительно снижают уровень микробной контаминации. В связи с этим, применение антисептических средств является важной мерой профилактики, в том числе, в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции. Данные опроса студентов РязГМУ имени академика И.П. Павлова показывают, что многие используют кожные антисептики для обработки рук. Однако применение их 1-2 раза в день недостаточно, так как число микроорганизмов на поверхности кожи приближается к исходному уровню в течение короткого промежутка времени.

Библиографический список

1. Красильников А.П. Справочник по антисептике. Минск: Вышэйш. шк., 1995. 367 с.
2. Палий А.П., Родионова Е.А. Способ гигиенической дезинфекции кожи рук. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. № 2 (148). 2017. С. 139.
3. Зверьков А.В., Зузова А.П. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия: Научно-практический журнал. Смоленск: Межрегиональная ассоциация общественных объединений «Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии». 2013. Т. 15. № 4. С. 41-48.
4. Рекомендации по мытью и антисептике рук. Перчатки в системе инфекционного контроля / Под ред. академика РАЕН Л.П. Зуевой. СПб, 2000. 20 с.
5. Grice E.A., Segre J.A. The skin microbiome. Nat Rev Microbiol. 2011;(9): 244-253. doi: 10.1038/nrmicro2537.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СИНБИОТИКА

Николаева О.Н., кандидат биологических наук

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», г. Уфа, Россия

Введение. В современных экологических условиях, при усилении производства продукции животноводства и лекарственного влияния, отмечается тенденция к увеличению диапазона патологических расстройств, которые сопровождаются нарушением микробиомного равновесия различных полостей макроорганизма [3].

Известно, что применение антибиотиков для профилактики и лечения болезней молодняка крупного рогатого скота становится менее эффективно и небезопасно, вследствие появления устойчивых к антибиотикам видоизмененных микроорганизмов, их накопления в желудочно-кишечном тракте и проявления из-за этого аллергических реакций организма животных. В этих случаях дополнительным способом борьбы с инфекциями является использование лекарств на основе живых микроорганизмов, которые выступают антагонистами болезнетворных микроорганизмов, а также являются инструментами, которые подавляют антагонистическую микрофлору; всё это должно способствовать балансу естественной микрофлоры кишечника или предотвратить его нарушение [1, 2, 4].

Цель исследования – изучение влияния синбиотика (лактобактерии (*L. plantarum* 8P-A3)+ водные экстракты травы большого чистотела (*Chelidonium majus* L.) и плодов обыкновенного барбариса (*Berberis vulgaris*) на динамику оппортунистической и облигатной микрофлоры микробиома кишечника новорожденного телят.

Материалы и методы. Объектом исследований были новорождённые телята чёрно-пестрой породы. Животные были подобраны для опытов по принципу парных аналогов.

В работе использовался синбиотик на основе лекарственного растительного сырья и лактобактерий (микробная живая масса лактобактерий (*L. plantarum* 8P-A3), выращенная на сывороточно-молочной среде, с добавлением водных экстрактов травы большого чистотела (*Chelidonium majus* L.) и плодов обыкновенного барбариса (*Berberis vulgaris*), с содержанием жизнеспособных клеток $7,4-9,3 \times 10^9$ КОЕ/мл). Телята контрольной группы содержались в условиях принятой технологии содержания и кормления; вторая группа с кормом получала синбиотик с 1-го по 10-й день и с 20-го по 30-й день жизни (20 мл на голову).

Изучение микробиома кишечника проводили путем высеивания и идентификации бактерий на питательных средах перед началом опыта, затем на 10-е, 20-е и 30-е сутки опыта. Статистическую обработку результатов исследования оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Уровень бифидофлоры и лактобактерий перед постановкой опыта у новорождённых телят – $4,85 \pm 0,2$ lg КОЕ/г – $5,65 \pm 0,1$ lg КОЕ/г и $3,5 \pm 0,06$ lg КОЕ/г – $4,1 \pm 0,04$ lg КОЕ/г, соответственно.

Применение синбиотика позволило достоверно увеличить титры лактобактерий и бифидобактерий, т.к. на 30-е сутки исследований у опытной группы телят данный показатель был на уровне $7,2 \pm 0,05$ lg КОЕ/г и $6,5 \pm 0,3$ lg КОЕ/г, соответственно.

При изучении проб фекалий от новорождённых телят было установлено, что состав условно-патогенной микрофлоры энтеробиоценоза включал энтерококки – от $4,4 \pm 0,2$ lg КОЕ/г до $4,8 \pm 0,01$ lg КОЕ/г; стафилококки - от $3,5 \pm 0,04$ lg КОЕ/г до $4,1 \pm 0,03$ lg КОЕ/г; клостридии – $4,6 \pm 0,12$ lg КОЕ/г – $5,2 \pm 0,03$ lg КОЕ/г; *Candida* - от $4,2 \pm 0,11$ lg КОЕ/г до $4,8 \pm 0,02$ lg КОЕ/г.

К 30-му дню исследований в опытной группе телят достоверно снижалось содержание стафилококка на $1,2$ lg КОЕ/г; энтерококков – на $1,3$ lg КОЕ/г; *Candida* - на $1,5$ lg КОЕ/г.

Заключение. Таким образом, применение синбиотика способствует восстановлению показателей микробиома кишечника.

Библиографический список

1. Андреева А.В., Николаева О.Н. Новые экологически безопасные препараты в ветеринарной практике // Российский электронный научный журнал. 2016. № 3(21). С. 266-283.

2. Антибиотики в сельском хозяйстве и последствия их использования / Е.В. Моргуль, С.Н. Белик, А.Р. Моргуль, В.Ю. Контарева // Селекция и технология производства продукции животноводства: Материалы международной научно-практической конференции, пос. Персиановский, 10 февраля 2021 года. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Донской государственный аграрный университет», 2021. С. 82-87.

3. Соколова К.Я. Дисбактериоз - одна из форм проявления экологически обусловленных заболеваний // Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний : Материалы научной конференции, посвященной 85-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, 26-27 мая 2006 года. Нижний Новгород: Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 2006. С. 231-235.

4. Шевелева С.А., Смотрина Ю.В., Быкова И.Б. Современные аспекты контроля антибиотикоустойчивости микробных загрязнителей пищи с учетом особенностей оценки связанного с ней риска здоровью. Часть 1 // Анализ риска здоровью. 2022. № 1. С. 58-71. – DOI 10.21668/health.risk/2022.1.06.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОГО СПЕКТРА ГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА МУЖЧИН ПРИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

**Оборин Д.А., Карпунина Т.И., профессор, доктор биологических наук,
Годвалов А.П., кандидат медицинских наук
ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика
Е.А. Вагнера» Минздрава России**

Введение. В последние годы регистрируется стабильно высокий уровень инфекционно-воспалительных заболеваний генитального тракта. Несмотря на многолетнюю историю изучения этих инфекций и значительные успехи в их диагностике и лечении, существенные изменения, затронувшие основные факторы инфекционного процесса – окружающую среду, макро- и микроорганизмы – требуют пересмотра и дополнительного изучения различных аспектов этой патологии. С точки зрения микробиологии, новые знания, полученные благодаря молекулярно-генетическим методам исследования, позволяют по-иному оценивать этиологическую роль микробиоты в развитии как острых, так и хронических инфекций в репродуктивных органах. Более продолжительное и успешное изучение цервика-вагинальной биоты позволяет исследователям утверждать, что наиболее важным предиктором клинических проявлений генитальной гонококковой инфекции у женщин, является именно качественный и количественный состав ее микрофлоры [4]. Однако, относительно мужской половой сферы, имеющаяся к настоящему моменту информация весьма фрагментарна, зачастую противоречива, особенно при сравнительной оценке как состава, так и функциональной активности микрофлоры при малосимптомных и клинически выраженных инфекционных процессах [2, 3]. В этой связи накопление и систематизация результатов молекулярно-генетического анализа микробиоты гениталий при разных клинических ситуациях у мужчин представляет, как научный, так и практический интерес.

Целью исследования явилось изучение микробного спектра в урогенитальном тракте мужчин при острых и хронических воспалительных заболеваниях с помощью метагеномного секвенирования 16S рРНК.

Материалы и методы. Нами были исследованы образцы эякулята мужчин с диагнозом острая генитальная гонококковая инфекция (ОГГИ) и хронический бактериальный простатит (8 и 15 соответственно). Диагноз ОГГИ был установлен по

клиническим данным и подтвержден с помощью ПЦР в реальном времени, для этого использовали тест-систему «Реал-бест ДНК *Neisseria gonorrhoeae*» (Россия), согласно инструкции. Хронический бактериальный простатит (ХБП) диагностирован согласно данным УЗИ.

Пробоподготовку образцов и выделение ДНК осуществляли согласно [1].

Метагеномное секвенирование 16S рНК осуществляли на платформе Illumina MiSeq, с использованием набора MiSeq Reagent Kits v3 (600-Cycle Kit), согласно рекомендациям производителя. Для секвенирования участков V3-V4 гена 16S рНК были использованы библиотеки согласно 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina.

При проведении статистического анализа данных использовали критерий χ^2 . Для оценки качественных признаков рассчитывали показатель OR (odds ratio – отношение шансов). Значимость показателей уточняли на основании оценки границ 95% доверительных интервалов (CI – confidence interval).

Результаты и их обсуждение. При метагеномном исследовании образцов от пациентов с ОГГИ маркеры бактерий рода *Neisseria* выявлены во всех пробах, причем в 40% из них доля *Neisseria* в совокупном бактериальном геноме составила треть, в 20% - десятую часть, а в оставшихся образцах была менее 1%. При этом с помощью ПЦР ДНК *N. gonorrhoeae* детектировали в 100% случаев. Однако, при секвенировании 16S рНК в тех же образцах маркеры *N. gonorrhoeae* обнаружены лишь в 80% проб.

У пациентов с ХБП при метагеномном исследовании гены нейссерий выявлены в 100%, а маркеры *N. gonorrhoeae* – в 20% случаев. При этом специфический ген *N. gonorrhoeae* в этих же образцах с помощью ПЦР не обнаружен. Сравнивая полученные с помощью двух методов результаты, можно предположить, что ПЦР, вероятно, дает положительный результат при наличии в образцах таксонов, имеющих гены высоко гомологичные таргетному. Кроме этого, в случае мутационных изменений в отдельных штаммах результат ПЦР также может быть положительным. С другой стороны метагеномное исследование нацелено на детекцию более консервативных генов, которые не учитываются при ПЦР. Не менее существенной проблемой метагеномного исследования является аналитический этап, в частности процесс сопоставления полученных данных с библиотекой для метагеномного секвенирования на платформе Illumina, что не редко вызывает трудности интерпретации при родовой и, особенно, при видовой идентификации, в первую очередь редко встречающихся представителей.

При сравнении микробного пейзажа эякулятов при остром и хроническом воспалительных процессах оказалось, что при остром наиболее встречаемыми бактериями были представители родов *Psychrobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium* (у 100% пациентов). При хронических вариантах у всех обследованных лиц обнаружены генетические маркеры *Enterococcus*, *Lactobacillus*, а также *Fingoldia*, *Mycobacterium*, *Streptomyces* и *Mycoplasma*. При ХБП появились в материале микроорганизмы, которых не было при ОГГИ, такие как *Morganella* в 23%, *Pseudoalteromonas* 38% обследуемых, *Moraxella* у 77%, *Bifidobacterium* у 33%, *Bacteroides*, *Clostridium* и *Escherichia* в 15,4%.

Уреа- и микоплазмы при ХБП детектировали в 11,5 раз чаще, чем при ОГГИ (OR=11,5; 95% CI 1,1-14,7).

Установлено, что при ОГГИ удельная доля аэробных таксонов составила 22,4%, а при ХБП - 27,4% ($p>0,05$). Облигатных анаэробов при ОГГИ обнаружили в 14,3%, против 28,5% случаев при ХБП ($p<0,05$). Для факультативных анаэробов характерна обратная ситуация (44,9% и 29,6% соответственно; $p<0,05$). Микроаэрофиллы выявляли у пациентов с ОГГИ в 18,4%, а у мужчин с ХБП - 14,5% образцов ($p>0,05$). При ХБП облигатные анаэробы встречались в 2,4 раза чаще, чем при ОГГИ (OR=2,4; 95% CI 1,1-5,7), в то время как факультативные анаэробы детектировали практически в два раза чаще при ОГГИ (OR=1,9; 95% CI 1,1-3,7). Это может быть связано с изменением pH в кислую сторону, т.е. ацидозом, что способствует развитию облигатных анаэробов. В тканях, инфицированных патогенными бактериями, часто обнаруживают дефицит кислорода, что может снижать выраженность

воспалительного процесса, увеличивать резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам, в конечном итоге приводит к хронизации инфекции [5].

Заключение. Таким образом, при воспалительных заболеваниях генитального тракта мужчин метагеномное секвенирование 16S рНК выявляет значительное разнообразие микроорганизмов, при этом обращает на себя внимание вариативность родовой принадлежности присутствующих в эякуляте бактерий при остром и хроническом воспалении. Однако, подтверждение клинического диагноза при использовании такого подхода вряд ли возможно, поскольку достоверность оценки детектируемых видов, частоты встречаемости, доли и происхождения отдельных генетических маркеров не обеспечивается этой технологией в должной мере. Вместе с тем, скрининг микробного разнообразия на такой основе представляет определенный интерес, но складывается впечатление, что потенциал использованной технологии недостаточно раскрыт и используется не в полной мере.

Библиографический список

1. Богун А.Г., Кисличкина А.А., Сизова А.А., Скрыбин Ю.П., Майская Н.В., Федорова В.А., Дятлов И.А. Применение алгоритмов метагеномного анализа для изучения сложных биологических образцов // Материалы IV Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума. 2018. С. 15-16.
2. Ворошилова Е.С., Зорников Д.Л., Иванов А.В., Почерников Д.Г., Панаева Е.А. Микробиота эякулята: кластерный анализ результатов, полученных при исследовании методом ПЦР-РВ // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2020. №5. С. 66-73.
3. Baud D., Pattaroni C., Vulliamoz N., Castella V., Marsland B.J., Stojanov M. Sperm microbiota and its impact on semen parameters // *Frontiers in Microbiology*. 2019. V. 12. P. 234.
4. Lovett A., Seña A.C., Macintyre A.N., Sempowski G.D., Duncan J.A., Waltmann A. Cervicovaginal microbiota predicts neisseria gonorrhoeae clinical presentation // *Frontiers in Microbiology*. 2022. V. 12. P. 790531.
5. Taylor C.T., Colgan S.P. Regulation of immunity and inflammation by hypoxia in immunological niches // *Nat Rev Immunol*. 2017. V.12. P.774-785.

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СИНТЕЗ ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ ОРХИДНЫХ

**Подставкаина А.В.; Воропаева О.В.; Борисова Г.Г., старший научный сотрудник, доктор географических наук; Малева М.Г., доцент, кандидат биологических наук
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия**

Введение. Индолил-3-уксусная кислота (ИУК) является основным ауксином растений, контролирующим многие важные физиологические процессы, включая увеличение и деление клеток, дифференцировку тканей, реакцию на свет и гравитацию [5]. Бактериальные продуценты ИУК, взаимодействующие с растениями, могут влиять на любой из этих процессов, изменяя в пространстве и времени пул ауксинов растений. Взаимодействия между бактериями, продуцирующими ИУК, и растениями приводят к различным эффектам со стороны растений, от патогенеза до фитостимулирования [3]. Тяжёлые металлы (ТМ) играют двойственную роль в процессах жизнедеятельности микроорганизмов. Некоторые из них, например, Mo, Cu, Mn, Zn, Ni, являются жизненно необходимыми в небольших количествах. Другие, такие как Cd, Pb, Sn, Hg, Ag, не выполняют физиологических функций. Однако, при высоких концентрациях, все эти

элементы, за счёт хорошей способности к комплексообразованию, являются токсичными для бактерий [1]. **Цель исследования** – оценить влияние ТМ (на примере Cu, Cd и Cr) на рост бактериальных штаммов, выделенных из ризосферы двух видов редких орхидей, и способность ризобактерий к синтезу ИУК.

Материалы и методы. Бактерии, выделенные из ризосферы орхидей *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser. (дремлик темно-красный) и *Platanthera bifolia* (L.) Rich. (любка двулистная), были проанализированы на способность к синтезу ИУК, которую оценивали по стандартной методике с использованием реактива Сальковского. Бактерии культивировали на среде LB с добавлением *L*-триптофана в течение 7 суток при температуре 28 °С. Клетки осаждали в центрифуге при 3000 об/мин в течение 6 минут, после чего к 100 мкл супернатанта добавляли равное количество реагента Сальковского (0,05 М FeCl₃ в 35%-й хлорной кислоте), дающего характерное розово-красное окрашивание с ИУК. Оптическую плотность измеряли через 30 минут на планшетном спектрофотометре (Infinite M200 Pro) при длине волны 530 нм. Концентрацию ИУК в супернатанте определяли с помощью калибровочной кривой, построенной с использованием раствора синтетической ИУК [2].

Для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК), при которой полностью подавляется рост исследуемых бактерий, штаммы культивировали на среде LB с добавлением солей ТМ в концентрации от 0 до 5000 мг/л (сульфаты меди, кадмия, хрома). Микроорганизмы культивировали в жидкой питательной среде в течение 48 часов при 28 °С. Влияние солей ТМ на рост микроорганизмов определяли с помощью фазово-контрастного микроскопирования методом «раздавленная капля» [4].

Штаммы, способные к синтезу ИУК и устойчивые к изучаемым ТМ, культивировали на среде LB с добавлением стерильного *L*-триптофана и одного из металлов. Для построения кривой роста выбранных штаммов, каждые 24 часа спектрофотометрически измеряли оптическую плотность растущей культуры при длине волны 600 нм. Динамику синтеза ИУК оценивали по стандартной методике, описанной выше, замеры проводили каждые 24 часа. В качестве контроля роста бактериальных культур и способности к синтезу ИУК использовали среду LB с добавлением стерильного *L*-триптофана без ТМ.

Результаты и их обсуждение. Из общего числа изучаемых бактерий, выделенных из ризосферы *E. atrorubens* и *P. bifolia*, было отобрано 4 штамма, которые активно продуцировали ИУК и обладали наибольшей устойчивостью к действию ТМ (табл. 1). В целом тенденции роста бактериальных штаммов и синтеза ИУК совпадали: при увеличении роста культуры увеличивался синтез ИУК. Наилучшей способностью синтезировать ИУК без добавления металлов обладал бактериальный штамм О-15 (49,2 мг/л). При этом остальные бактериальные штаммы (О-2, О-4 и О-6) продуцировали 34,7; 42,7 и 21,2 мг/л ИУК, соответственно.

Таблица 1 – Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) изученных металлов

Бактериальный штамм	МИК меди, мг/л	МИК кадмия, мг/л	МИК хрома, мг/л
О-2	3000	2000	3000
О-4	500	1300	1000
О-6	5000	2000	5000
О-15	3000	1000	4000

Из графиков (рис. 1-4) видно, что при добавлении в среду ТМ рост бактериальных культур заметно снижался (в среднем на 71 %). Синтез ИУК при добавлении меди и кадмия во всех вариантах был ниже контрольного (в среднем на 62 %). При добавлении хрома в одних случаях синтез повышался по сравнению с контролем (в среднем на 33 %), в других – понижался (в среднем на 32 %).

Уменьшение скорости роста и синтеза ИУК при добавлении ТМ может свидетельствовать о подавлении скорости метаболизма клеток. Увеличение синтеза ИУК при добавлении сульфида хрома, можно рассматривать как механизм адаптации к неблагоприятным условиям [5].

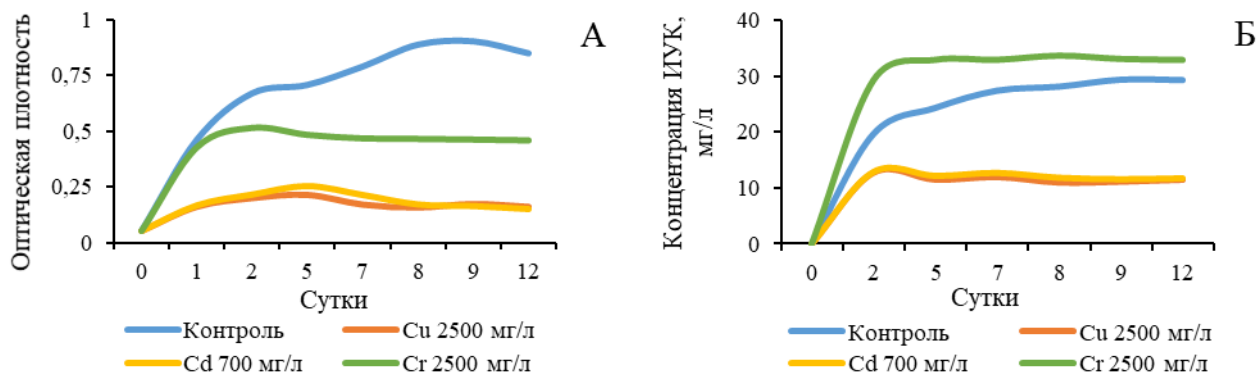


Рис. 1. Рост бактериального штамма О-2 (А) и синтез ИУК (Б).

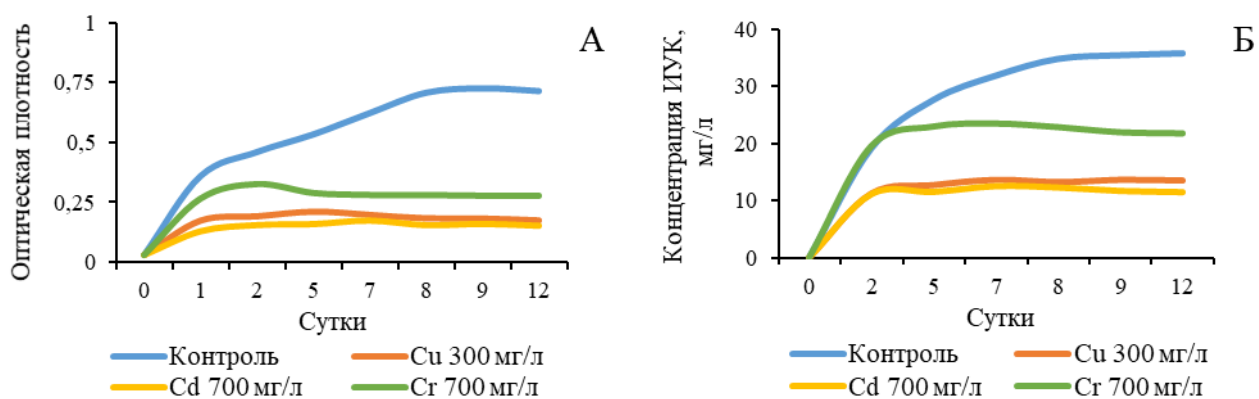


Рис. 2. Рост бактериального штамма О-4 (А) и синтез ИУК (Б).

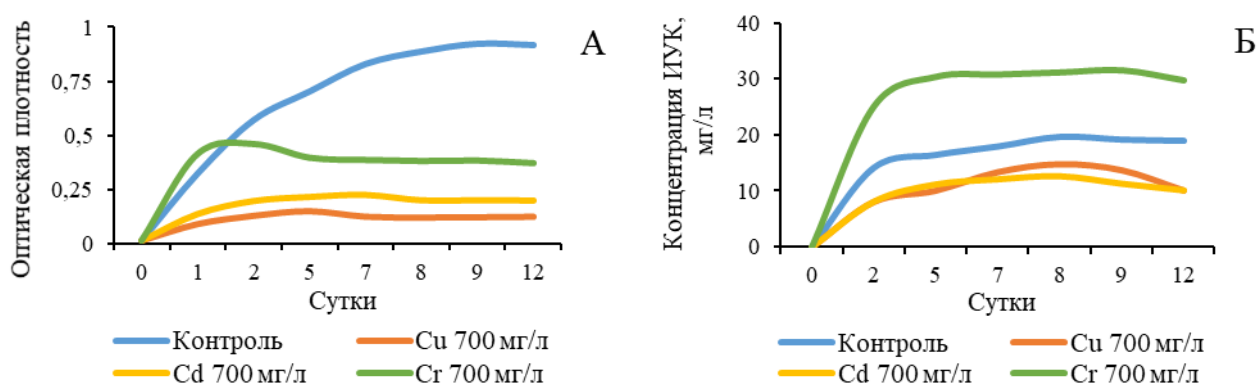


Рис. 3. Рост бактериального штамма О-6 (А) и синтез ИУК (Б).

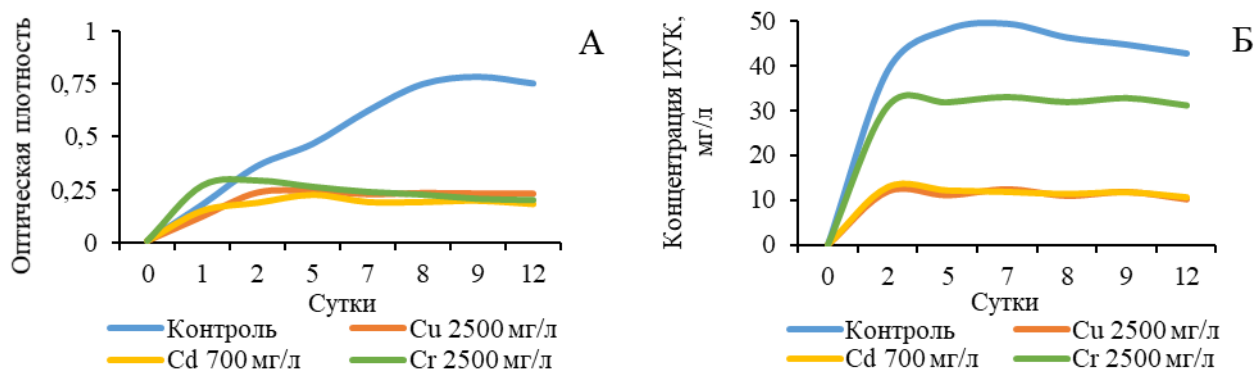


Рис. 4. Рост бактериального штамма O-15 (А) и синтез ИУК (Б).

Закключение. Анализ данных показывает, что в целом ионы изученных металлов в высоких концентрациях оказывали отрицательное действие на бактериальные культуры и замедляли, либо полностью прекращали рост микроорганизмов. При внесении в питательную среду таких металлов, как медь и кадмий, синтез ИУК ризосферными бактериями заметно снижался, в то время как сульфат хрома уменьшал продукцию ИУК в меньшей степени, а в некоторых случаях даже увеличивал его по сравнению с контролем. Синтез ауксинов в клетках ассоциативных ризобактерий является важнейшей адаптивной реакцией к стрессовым условиям, не только повышающей их конкурентоспособность, но и, вероятно, способствующей выживанию растений, в том числе редких видов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области в рамках научного проекта № 20-44-660011.

Библиографический список

1. Бузолёва Л.С., Кривошеева А.М. Влияние тяжёлых металлов на размножение патогенных бактерий // Успехи современного естествознания. 2013. № 7. С. 30-33.
2. Gordon S.A., Weber R.P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid // *Plant Physiology*. 1951. V. 26. № 1. P. 192-195.
3. Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling // *FEMS Microbiology Reviews*. 2007. V. 31. № 4. P. 425-448.
4. Syed A., Zeyad M.T., Shahid M., Elgorban A.M., Alkhulaifi M.M., Ansari I.A. Heavy Metals Induced Modulations in Growth, Physiology, Cellular Viability, and Biofilm Formation of an Identified Bacterial Isolate // *ACS Omega*. 2021. V. 6. P. 25076-25088.
5. Vacheron J., Desbrosses G., Bouffaud M.-L. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning // *Frontiers in Plant Science*. 2013. V. 4. P. 356.

ОЦЕНКА МИКРОФЛОРЫ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ

Приходько Я.В., Дрик М.А., Дегтярева Е.И., доцент,
кандидат биологических наук,
УО «Гомельский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Республики Беларусь,
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение. По определению ВОЗ, бесплодный брак — это брак, в котором не возникает беременности при регулярной половой жизни без применения каких-либо противозачаточных средств в течение 1 года и при условии детородного возраста супругов [1].

Бесплодие затрагивает миллионы людей репродуктивного возраста во всем мире и оказывает воздействие на их семьи. Установлено, что приблизительно 15% пар обращаются за медицинской помощью по поводу бесплодия. В 50% случаев в бездетной паре играет роль «мужской фактор» [4].

Урогенитальные инфекции ведут к возникновению воспалительных процессов в различных органах мочеполовой системы мужчины. Хронический воспалительный процесс в половых железах ведёт к нарушению сперматогенеза, изменению состава семенной жидкости, а также непроходимости семявыносящих протоков. Нередко воспалительный процесс протекает бессимптомно. В таких случаях с момента инфицирования до обращения к врачу по поводу бесплодия могут пройти годы, в течение которых инфекция не диагностируется и не лечится [2].

Нормофлора включает в себя *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. Сумма количества микроорганизмов нормофлоры – относительный показатель, снижение которого трактуется как дисбиоз.

Возбудителями заболеваний мочеполовой системы у мужчин могут быть как безусловные патогены, такие как *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, так и условно-патогенные микроорганизмы: *Gardnerella* vag., *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, которые в норме могут присутствовать в мочеполовых путях в количествах, не превышающих значение допустимой нормы 10^4 [3].

Материалы и методы. Проведен анализ 32 медицинских карт мужчин возрастом от 22 до 49 лет с бесплодием, на базе учреждения «ГОДМГЦ «Брак и семья». Материалом исследования послужил биоценоз урогенитального тракта. Исследовались соскобы из уретры мужчин, которые брались для выявления патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

Результаты и их обсуждение. У мужчин с бесплодием при оценке условно-патогенной микрофлоры, ассоциированной с бактериальным вагинозом, было выявлено, что *Gardnerella* vag. превышает абсолютное значение 10^4 у 28% (9) обследуемых, превышение данного значения для *Ureaplasma urealyticum* составляет 6% (2), а для *Ureaplasma parvum* 13% (4), *Mycoplasma hominis* не выявлена. *Enterobacteriaceae* spp./*Enterococcus* spp. превышает абсолютное значение у 19% (6) пациентов.

У исследуемых не было выявлено таких патогенов, как *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis*.

Дрожжевые грибы *Candida* spp. ниже порогового значения в 21% (7) случаев, у остальных пациентов 78% (25) – не выявлены.

При оценке транзиторной микрофлоры (*Lactobacillus* spp.) у 25% (8) пациентов было обнаружено превышение её пороговых значений. *Lactobacillus* spp. служит маркером наличия в половых путях транзиторной микрофлоры, попадающей в них от гетеросексуального полового партнера. Превышение пороговых значений транзиторной микрофлоры, может быть причиной острых воспалительных процессов нижних отделов урогенитального тракта или говорить о неправильной подготовке пациента к проведению исследования. Пороговое значение – не более 10 % от общей бактериальной массы [3].

Среди обследуемых, в 81% (26) случаев был выявлен дисбиоз, соответственно в 19% (6) случаев – нормоценоз, при этом у одного из пациентов с нормоценозом был обнаружен представитель семейства Enterobacteriaceae *Enterococcus* spp. в количествах, не превышающих пороговое значение.

Выяснилось, что возраст 25% (8) обследуемых находится в диапазоне от 22 до 29 лет, 59% (19) пациентов от 30 до 39 лет и 16% (5) от 40 до 49 лет. Наиболее часто встречаемым оказался возраст 30 (4 пациента) и 37 (4 пациента) лет (рис. 1).

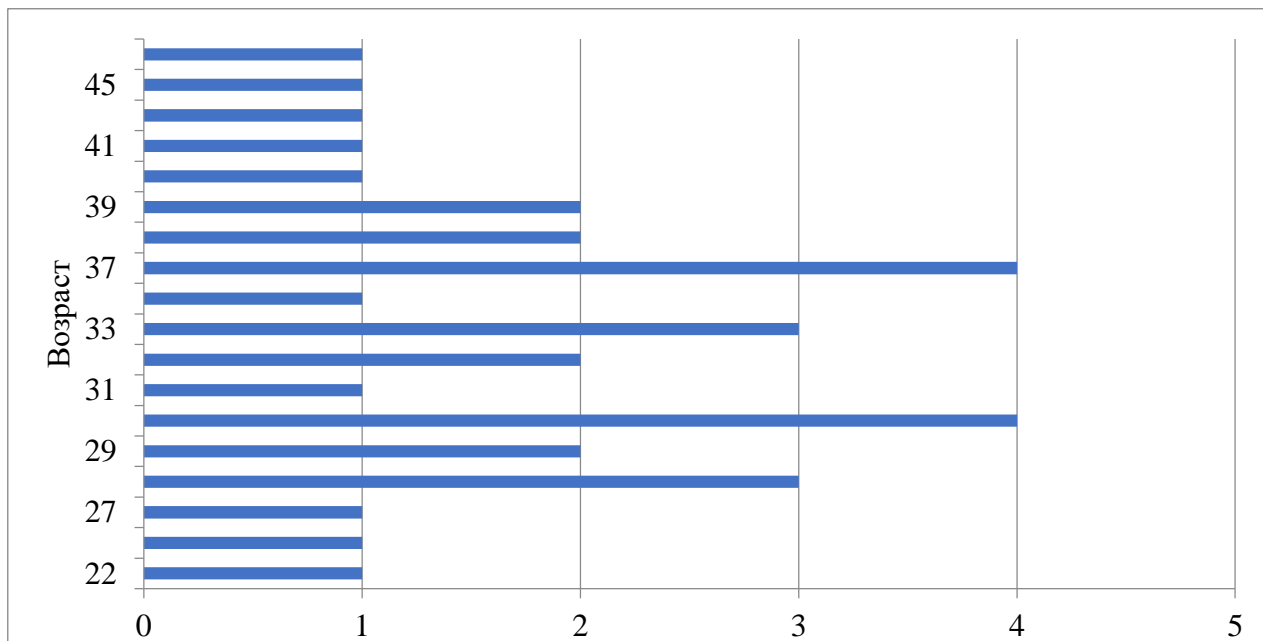


Рисунок 1. Частота встречаемости бесплодия среди мужчин различного возраста.

Заключение. При оценке биотопа урогенитального тракта у мужчин с бесплодием не было обнаружено таких абсолютных патогенов, как *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*.

При этом у абсолютного большинства обследуемых был выявлен дисбиоз. В видовом составе микроорганизмов уретры у пациентов преобладает *Gardnerella vag.*, на втором месте среди условных патогенов выявлены *Enterococcus* spp. сем. Enterobacteriaceae, на третьем – *Ureaplasma urealiticum*, *Ureaplasma parvum*.

Большинство обследованных мужчин имеют возраст в диапазоне 30-39 лет.

Библиографический список

1. Радзинский, В.Е. Бесплодный брак. Версии и контраверсии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 30 с.
2. Яковенко Е.М. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) и другие методы преодоления бесплодия. М., 2016. 280 с.
3. Липова Е.В., Чекмарев А.С., Болдырева М.Н. Новый метод диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний нижних отделов мочеполового тракта у мужчин (тест «Андрофлор®», «Андрофлор®Скрин»). М., 2017. 48 с.
4. World Health Organization. WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.

ВОЗМОЖНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛАКТОБАКТЕРИЙ КАК КОРРЕКТОРОВ НАРУШЕНИЙ МИКРОБНО-ТКАНЕВОГО КОМПЛЕКСА КИШЕЧНИКА

Сидоренко О.Д., профессор, доктор сельскохозяйственных наук;

Жукова Е.В., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук

ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Россия

Введение. В настоящее время открываются широкие перспективы использования географических раз молочнокислых бактерий и дрожжей заквасок национальных молочных продуктов. Физиолого-биохимические особенности лактобактерий позволяют применять их при изготовлении лечебно-профилактических молочных продуктов и препаратов обязательной коррекции нутриционной недостаточности пациентов с нарушениями пищеварения.

Основная **цель исследования** – поиск устойчивых природных лактобактерий с характерными особенностями метаболитов, способных восстанавливать качественный состав микробиоты желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), а при транзите - выживать и приживаться в микроразонах слизистой оболочки.

Материалы и методы. Для характеристики биохимических особенностей штаммов использовали современный анализатор Easy-Xytu, ИК-спектроскопию, ион-селективные микроэлектроды, диско-диффузный метод, световую микроскопию, гель-электрофоретический метод и MALDI-TOF масс-спектрометрию для видовой идентификации микроорганизмов

Результаты и их обсуждение. Установлены: приобретённая устойчивость лактобактерий национальных молочных продуктов, качественный состав, биохимическая активность; резистентность к антибиотикам молочнокислых бактерий и дрожжей обусловлены географическими и экологическими факторами. Впервые установлена зависимость физиологических особенностей лактобактерий от места обитания. География распространения молочнокислых бактерий активно влияет на их метаболизм: способность к синтезу пигментов, обладающих антимикробными свойствами и резистентностью к антибиотикам. Изменяется также качество молока - повышается биологическая ценность молочных продуктов. Лактобактерий южной зоны вполне можно рекомендовать при создании лечебно-профилактических продуктов питания и препаратов для коррекции и терапии заболеваний желудочно-кишечной системы [1].

Механизм адаптации микроорганизмов – важнейший биологический процесс, своеобразная парадигма биологии. Под этим феноменом понимают способность организма видоизменяться в направлении, увеличивающем их шансы на выживаемость и размножение в условиях данной среды (географической зоны планеты или ЖКТ здорового - больного человека – животного). Для молочнокислых бактерий заквасок национальных молочных продуктов характерны генетическое разнообразие, высокая адаптивность и широкий спектр мест обитания. Видовое богатство лактобактерий указывает на устойчивость заквасок к изменению внешних условий соответствующих географических зон и даже действию природных стрессов [2].

Трофические связи и физическая ориентация в пространстве среды, обуславливают быструю колонизацию, активность и резистентность клеток ассоциаций природной закваски. Характер распределения микроорганизмов в сгустке ферментированного молока определяет полидисперсность свежего молока.

Коллоидность, структура казеина, капелек жира, а также мицеллы и субмицеллы казеина, а точнее полимеры казеина, определяют развитие молочнокислых бактерий в процессе «сбраживания молока». Высокая концентрация дрожжей микробного сообщества некоторых природных заквасок в определённый период их активного метаболизма, может служить основанием для использования их в качестве продуктов специфической терапии [2, 4].

Концентрация микробной массы в процессе ферментации молока сопровождается снижением содержания многих элементов питания в зоне их расположения. Перенос веществ в стустке молока - вертикальное турбулентное движение (или турбулентная диффузия) служит определённым хемотаксисом для микроорганизмов. Со временем условия могут меняться и конкретный микроорганизм, как правило, обретает свою нишу. При этом микроорганизм существует не сам по себе, а в совокупности с другими популяциями молочнокислых бактерий [3].

Полиштаммовые закваски определяют спектр органолептических показателей молочных продуктов, т.е. формируют их вкус, запах, консистенцию, насыщенность биологически активными веществами (витаминами, аминокислотами, ферментами и т.п.). Дрожжи, например, стимулируют рост лактобактерий за счет снижения кислотности, продукции определённых ферментов и витаминов. Молочнокислые бактерии, обладающие протеолизом, являются важными агентами расщепления белковой молекулы. От их активности зависит степень распада белка, а от химической природы белковой молекулы – конечные продукты гидролиза.

Нами впервые наглядно показана протеолитическая активность географических рас лактобактерий национальных молочных продуктов [2]. Многочисленные органические кислоты гетероферментов играют важнейшую роль в основном обмене веществ; своему происхождению они обязаны окислительным превращениям углеводов, образуемым в определённой стадии процесса продуктов временной стабилизации. Являясь промежуточной стадией, процесс можно направить в различные стороны. Может происходить дальнейшее окисление углеводов до CO_2 и H_2O , а часть - служить основой для образования аминокислот и альдегидов, из которых далее синтезируются высокомолекулярные жирные кислоты и жиры. Эти исследования имеют определённую ценность при утрате баланса микроорганизмов в ЖКТ и нарушении пищевого обмена, т.е. для создания природных корректоров или пробиотиков [4].

Интродуцированные лактобактерии в новых условиях ЖКТ быстро адаптируются благодаря соответствующему набору ферментов и приживаются, образуя колонии. В этот период происходит коренная перестройка метаболических процессов, приводящих к новым типам метаболизма, глубоким изменениям в синтезе органических протекторов (сахаров, сахаро-спиртов, белков липидов и т.п.) и их выделения во внешнюю среду. Усиленный синтез низкомолекулярных органических соединений изменяет состояние ДНК. Например, в процессе анаэробного развития их метаболизм протекает по типу брожения (хотя они не являются строгими анаэробами); протеолитическая и липолитическая активность у них выражена слабо, а благодаря низкому рН не происходит протеолиз. Кроме того, изменение количества микроорганизмов и качественного состава микробиоты кишечника способствуют структурным изменениям слизистой оболочки отделов кишечника, состоянию местного иммунитета, что влияет на взаимодействие их с микробно-тканевым комплексом и, в целом, на функциональность пищеварительного тракта [5].

Метаболитное взаимодействие определяет устойчивость функционирующих нескольких видов лактобактерий молока и заквасок. Показано, что ферментированные молочные продукты, приготовленные на естественных закваска разных климатических зон, отличаются качественным составом микробного комплекса. Соответственно, разнообразием метаболитов, их адаптивностью и функциональной особенностью: антагонизмом к условным патогенам и патогенам ЖКТ, резистентностью к антибиотикам, пигментацией и другими важными биохимическими характеристиками [6].

Заключение. Таким образом, результаты исследований имеют не только теоретическое значение, они могут найти практическое применение в медицине и биотехнологии производства функциональных продуктов питания. Лактобактерии природных заквасок национальных молочных продуктов разных климатических зон являются арсеналом эффективных профилактических и лечебных средств в виде пробиотиков. Вполне реален переход от антибиотикотерапии к метаболитному безопасному

лечению дисбиозов и активному восстановлению собственной микрофлоры кишечника, вместо вынужденного заселения его штаммами чужой микробиоты. Можно рекомендовать лактотерапию в клиническую практику для разновозрастных групп людей.

Библиографический список

1. Сидоренко О.Д. Молочнокислые бактерии разных природно-климатических зон // Достижения науки и техники АПК. 2014. № 12. С. 63-66.
2. Сидоренко О.Д., Жукова Е.В. Техническая микробиология продукции животноводства. М.: Издательский Дом "Инфра-М", 2021. 224 с.
3. Сидоренко О.Д. Микробиологические основы природной закваски молока: Учебно-методическое пособие. М.: Издательский Дом "Инфра-М", 2022. 230 с.
4. Сидоренко О.Д., Пастух О.Н., Жукова Е.В. Стратегия регулирования состава географических рас лактобактерий молочного продукта // Безопасность и качество сельскохозяйственного сырья и продовольствия: Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции, Москва, 16 декабря 2020 года. М.: ЭйПиСиПабблишинг, 2020. С. 94-99.
5. Сидоренко О.Д., Жукова Е.В. Микробиологические основы заквасок молока. М.: ООО "Реарт", 2017. 132 с.
6. Microbial community of natural starter of fermented dairy product / O.D. Sidorenko, O.N. Pastukh, E.V. Zhukova, G.V. Garaeva // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Voronezh, 26-29 февраля 2020 года. Voronezh, 2021.
7. Сидоренко О.Д., Жукова Е.В., Пастух О.Н. Биологическая активность лактобактерий природных заквасок // Успехи современной науки. 2017. Т. 2. № 10. С. 34-37.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП

**Сидорова Д.Е., аспирант; Падий Д.А., Плюта В.А., кандидат биологических наук;
Хмель И.А., профессор, доктор биологических наук
ФГБУ «Институт молекулярной генетики» Национального исследовательского
центра «Курчатовский институт», г. Москва, Россия**

Введение. На сегодняшний день известно, что микроорганизмы способны продуцировать летучие вещества, в том числе летучие органические соединения (ЛОС), обладающие различной биологической активностью. ЛОС имеют небольшую молекулярную массу, низкую температуру кипения, высокое парциальное давление и в основном проявляют липофильность. Синтез летучих веществ позволяет поддерживать популяции бактерий и грибов в пределах биоценозов. Известно, что большинство ЛОС обладают различной биологической активностью: они могут стимулировать или подавлять рост и развитие других организмов, влиять на активность ферментов и на экспрессию генов, а также выполнять роль химических сигналов.

По сравнению с ЛОС растительного происхождения, микробные летучие вещества привлекли внимание исследователей заметно позже. Известно, что штаммы-продуценты ЛОС перспективны для биологического контроля заболеваний растений, а препараты на основе ЛОС могут быть использованы для фумигации с/х земель. ЛОС также могут оказывать антибактериальное и фунгистатическое действие на бактерии и грибы, что может использоваться для разработки пестицидов нового поколения, не нарушающих экологию. По этим причинам изучение летучих веществ, включая исследование механизмов их

действия и роли в конкурентных взаимоотношениях, представляет на сегодняшний день особенный интерес.

Материалы и методы. В данной работе изучалось действие следующих ЛОС: спирты (изоамиловый спирт, 2-фенилэтанол), кетоны (2-бутанон, 2-пентанон, 2-октанон, β -ионон - ненасыщенный кетон), терпены ((-)-лимонен и (+)- α -пинен). Перечисленные вещества продуцируются бактериями разных таксономических групп, в том числе стимулирующими рост растений ризосферными и почвенными бактериями родов *Pseudomonas* и *Serratia*.

Для изучения биологической активности ЛОС на бактерии использовались фитопатогенные бактерии *Agrobacterium tumefaciens* C58 и Chry5, выделенные из корончатых галлов черешни и хризантемы соответственно. Эти же штаммы являлись объектами исследования при изучении действия летучих веществ на образование биоплёнок и зрелые биопленки, а также на свимминг-миграцию агробактерий.

На модельном растении *Arabidopsis thaliana* изучалось влияние ЛОС на рост растений и на прорастание семян. Оценивались общая биомасса растений, сравнивались длины их корешков и размеры листьев.

Еще одним этапом работы было изучение действия ЛОС на жизнедеятельность плодовых мушек *Drosophila melanogaster*. Эффективность действия ЛОС на насекомых оценивали по следующим параметрам: количеству выживших насекомых, наличию отложенных личинок, появлению куколок, их жизнеспособности.

Во всех вариантах опытов между биологическими объектами и ЛОС был возможен только воздушный контакт; чтобы летучие вещества не улетучивались из системы, во всех опытах использовалась плотная герметизация парафильмом.

Результаты и их обсуждение. По полученным данным, ЛОС способны подавлять образование биоплёнок *A. tumefaciens* и убивать бактерии в зрелых биоплёнках, причем гибель бактерий, живущих в составе сформировавшихся зрелых биоплёнок, происходила при более высоких количествах ЛОС, чем при их образовании.

Изоамиловый спирт и 2-октанон оказывали наибольшее ингибирующее действие на рост *A. tumefaciens* - уже в присутствии 50 μ моль веществ КОЕ значительно снижалось (в 4 раза). Эти же вещества активно ингибировали образование биопленок (изоамиловый спирт 100 μ моль, 2-октанон 30 μ моль) и выживаемость клеток в них (оба вещества в количестве 200 μ моль). На зрелые биопленки они действовали в меньшей степени, чем на их образование. 2-Фенилэтанол действовал слабее на рост агробактерий (от 200 μ моль), кетоны не подавляли полностью жизнедеятельность клеток даже в больших количествах (до 400 μ моль) и практически не действовали терпены. В результатах опытов по изучению влияния ЛОС на миграцию клеток была обнаружена положительная корреляция между снижением выживаемости бактерий в биоплёнках и снижением их подвижности.

Заметное ингибирующее действие на рост растений *A. thaliana* оказывали изоамиловый спирт, 2-октанон, 2-фенилэтанол и β -ионон. Листики в присутствии этих ЛОС теряли свою зеленую окраску, а размеры корешков были меньше, чем в контрольном варианте. Интересно, что кетоны 2-бутанон и 2-пентанон в количестве 200 μ моль оказывали стимулирующее действие: биомасса растений увеличивалась в 1,5 раза относительно контроля, при этом листики были заметно крупнее и ярче в окраске. В присутствии 10 μ моль 2-октанона масса растения также увеличивалась, однако уже 20 μ моль этого кетона оказывали токсичное действие.

Прорастание семян сильнее всего ингибировал 2-фенилэтанол – уже при 25 μ моль не появлялось ни корешков, ни семядольных листиков. Такой же результат наблюдался в присутствии больших количествах изоамилового спирта (от 50 μ моль), 2-пентанона (от 200 μ моль) и β -ионона (от 400 μ моль).

(-)-Лимонен и (+)- α -пинен не оказывали заметного подавляющего действия в выше описанных опытах, однако эти терпены сильнее всего ингибировали жизнедеятельность мушек *D. melanogaster*. Даже в присутствии небольших количеств (10 μ моль) мухи и отложенные личинки погибали через 12-14 суток. В присутствии кетонов насекомые гибли

медленнее, однако было замечено, что с удлинением углеводородной цепи усиливалось подавление жизнедеятельности мух. Из всех представленных веществ слабее всего на мушек действовал 2-фенилэтанол.

Заключение. Таким образом, было показано, что исследуемые ЛОС могут по-разному действовать на организмов-представителей разных царств – оказывать антибактериальное действие, подавлять или стимулировать рост растений, влиять на жизнедеятельность насекомых. На сегодняшний день продолжается изучение механизмов действия летучих веществ, создаются базы данных по организмам-продуцентам ЛОС и обнаруживаются новые соединения в газовых пулах, выделяемых различными микроорганизмами.

ЛОС, образуемые микроорганизмами, и их биологическая активность – это новая и малоизученная область микробиологии, которая открывает новые аспекты жизнедеятельности микроорганизмов, новые пути их метаболизма и закономерности взаимодействия с другими организмами.

Работа частично финансировалась Фондом в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» - ИМГ на 2020-2022 годы (№ 121030200227-6).

МОДИФИКАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД КАК СПОСОБ УСКОРЕНИЯ РОСТА КОЛОНИЙ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Цейко З.А., Тапальский Д.В., доцент, доктор медицинских наук
УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение. Золотистый стафилококк является одним из главных этиологических факторов нозокомиальных инфекций и входит в группу ESCAPE – наиболее проблемных клинически значимых микроорганизмов с быстро формирующейся множественной устойчивостью к антибиотикам. Правильно подобранный состав питательной среды имеет ключевое значение для выделения микроорганизмов, получения чистой культуры, идентификации *Staphylococcus aureus*, а значит способствует быстрой и точной диагностике инфекционных заболеваний. Стандартное микробиологическое исследование длится от 3 до 5 суток, в течении которых проводится и суточная инкубация первичных бактериальных посевов. Сокращение времени проведения исследования должно способствовать снижению летальности и сокращению продолжительности госпитализации. Поэтому **целью** нашего исследования являлась оценка влияния ростовых и ингибирующих добавок, вносимых в питательные среды, на скорость роста колоний штаммов *Staphylococcus aureus* с целью сокращения времени проведения бактериологического исследования [1, 2].

Материалы и методы. Для проведения исследования из рабочей коллекции были отобраны 5 клинических штаммов метициллинрезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Питательный агар (HiMedia, Индия) использовали как базовую питательную среду. Для изучения влияния на скорость роста колоний ростовых и ингибирующих добавок тестировались модифицированные питательные среды с внесением 10% NaCl (питательная среда №2), 5% глюкозы (питательная среда №3), 2 мг/л дорипинема (питательная среда №4), витаминной добавки (Химмедсинтез, Беларусь) (питательная среда №5), 2% дрожжевого экстракта (питательная среда №6). В качестве контроля использовали питательный агар (ПА) без добавления ростовых и ингибирующих факторов (питательная среда №1).

Для приготовления суспензий с оптической плотностью 0,5 МакФарланд использовали суточные культуры исследуемых штаммов микроорганизмов. Оптическую плотность контролировали денситометром DEN-1B (Biosan, Латвия). Полученные суспензии последовательно разводили в 5000 раз стерильным 0,9% раствором натрия хлорида (расчетная концентрация $2 \cdot 10^3$ КОЕ/мл). По 50 мкл полученной микробной суспензии

высевали с помощью шпателя и спирального инокулятора на 90-мм полистироловые чашки Петри с исследуемыми питательными средами. Посевы инкубировали в термостате при температуре 35°C.

Рост колоний отслеживали с помощью IP-камеры ESCAM PT202, установленной в термостате, которая вела непрерывную 24-часовую трансляцию с записью. Считали, что минимальный диаметр колоний, достаточный для их дальнейшей идентификации с использованием время-пролетной масс-спектрометрии или автоматических микробиологических анализаторов, составляет идентификации, составляет 0,5 мм. Оценивали время от начала инкубации до появления первых видимых колоний и до достижения колониями диаметра 0,5 мм и 1,0 мм.

Диаметр колоний измеряли в программе Adobe Photoshop v.11. Статистическую обработку данных проводили в программах MS Excel. Полученные результаты представлены в виде Me [Q25; Q75], где Me – медиана, [Q25; Q75] – 25-й и 75-й квартиль.

Результаты и их обсуждение. Рост колоний *S. aureus* на ПА, в котором отсутствовали ростовые и ингибирующие добавки, наблюдался через 8,4 [8,2; 8,8] ч. от начала инкубации. На питательной среде с добавлением 5% глюкозы время инкубации колоний составило 10,1 [9,8; 10,2] ч. При внесении в среду витаминной добавки видимый рост колоний обнаруживался через 8,8 [8,6; 9,3] ч., а внесении 2% дрожжевого экстракта – через 9,3 [8,2; 8,8] ч.

Колонии штаммов *S. aureus* диаметром 0,5 мм на ПА без внесения добавок были отмечены через 10,8 [10,3; 10,8] часов от начала инкубации. Время инкубации колоний на средах с добавлением 5% глюкозы составило 11,25 [11,2; 10,3] ч., а на среде с внесением витаминной добавки – 10,2 [10,0; 10,6] часов. При добавлении в питательную среду дрожжевого экстракта время инкубации составило 10,3 [10,0; 10,8] часов.

Появление колоний диаметром 1 мм на питательной среде №1 было отмечено через 14,8 [14,5; 16,7] часов инкубации и через 14,6 [13,4; 15,1] на питательной среде №3. Диаметра 1 мм колонии на питательной среде №5 достигали через 12,7 [12,2; 13,8] часов инкубации в термостате, а на среде №6 – через 13,2 [12,3; 13,5] ч. инкубации (рис. 1).

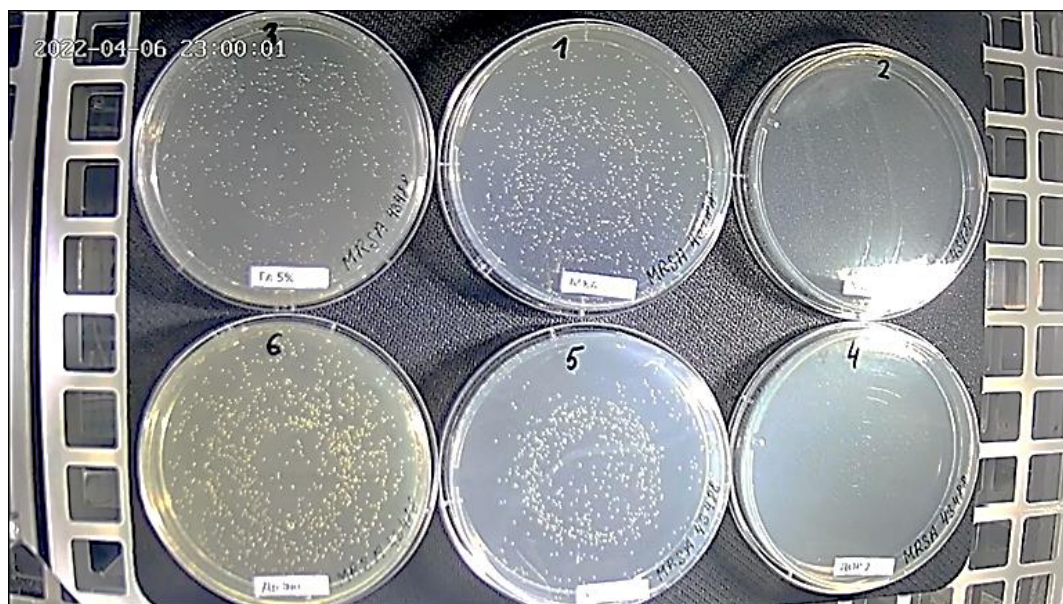


Рис. 1. Штаммы *S. aureus* через 13 часов от начала инкубации.
Диаметр колоний на чашках №5 и №6 составляет 1 мм.

При внесении в среду 10% хлористого натрия и 2 мг/л дорипенема по результатам суточной инкубации рост колоний отмечен не был.

Заключение. По результатам проведенного исследования отмечено, что набор биомассы быстрее происходит на средах с внесением витаминной добавки (питательная среда №5) и 2% дрожжевого экстракта (питательная среда №6). При использовании данных сред возможно получение пригодных для идентификации колоний штаммов *S. aureus* при меньшей продолжительности инкубации, благодаря чему может быть сокращено общее время проведения бактериологического исследования. Ингибирующие добавки в питательной среде значительно увеличивает время роста колоний штаммов *S. aureus*.

Библиографический список

1. Pendleton J.N., Gorman S.P., Gilmore B.F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens // *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2013. Vol. 11. P. 297-308.
2. Tangden T., Giske C.G. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control // *J. Intern. Med.* 2015. Vol. 277. P. 501-512.

ВЛИЯНИЕ ДИЕТЫ НА КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА

Чащина В.И., Прощенко Д.А., Копосова О.В.

**ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург, Россия**

Введение. Микроорганизмы кишечника составляют динамическую экосистему, которая оказывает значительное влияние на здоровье человека, модулируя риск развития некоторых хронических заболеваний, включая воспалительные заболевания кишечника, ожирение, сахарный диабет II типа, сердечно-сосудистые заболевания и рак. Данные Федеральной службы государственной статистики показывают, что распространенность ожирения с 2010 по 2020 год увеличилась на 64,4% [3]. Общая численность пациентов с сахарным диабетом в РФ, состоящих на диспансерном учете, на 01.01.2021 г., по данным регистра, составила 3,23% населения, из них сахарным диабетом II типа – 92,5% [1]. Основной причиной ожирения и, возможно, развития диабета II типа является потребление диеты с высоким содержанием жира, высоким содержанием сахара и низким содержанием клетчатки [4]. Потребляемая пища влияет на бактериальный состав микробиома кишечника, и микробиом кишечника играет жизненно важную роль в усвоении пищи, извлечении питательных веществ и энергии, а также в воспалении низкой степени, все из которых потенциально могут привести к ожирению и диабету II типа. Учитывая эту связь, может быть выявлена значительная терапевтическая польза в изменении микробного состава с помощью диеты. **Цель исследования** – изучить данные отечественных и зарубежных авторов по вопросам влияния диет на состав микробиоты человека.

Материалы и методы исследования. Для написания обзора было использовано 9 источников литературы, опубликованных в международных базах цитирования Medline, Pubmed, Web of Science, Google Scholar, Scopus, а также опубликованные в ВАК, РИНЦ фундаментальные исследования и монографии отечественных авторов. Отбор данных осуществлялся по ключевым словам: микробиота, диета, средиземноморская диета, сахарный диабет, вегетарианская диета.

Результаты исследования и их обсуждение. Желудочно-кишечный тракт человека содержит около 100 триллионов микроорганизмов, включая более 1000 видов бактерий [8]. *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Verrucomicrobia* в основном встречаются в составе нормальной кишечной флоры, где *Bacteroidetes* и *Firmicutes* составляют 90% от общего состава бактерий [4, 6]. Состав кишечной микробиоты может сильно варьировать у разных людей. Показано, что соотношение видов бактерий

Bacteroidetes и *Firmicutes* играет важную роль в поддержании здоровья и развитии заболеваний [4]. Считается, что диета объясняет более 50% микробных структурных вариаций у мышей и 20% у людей, сигнализируя о потенциале диетических стратегий в лечении заболеваний посредством модуляции кишечной микробиоты. Основными родами, составляющими тип *Firmicutes*, являются *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* и *Ruminococcus*. В то время как основными родами типа *Bacteroidetes* являются *Prevotella* и *Bacteroides*.

Влияние рациона животного происхождения на микробиом кишечника. Диета с высоким содержанием животного белка увеличивает количество *Bacteroides spp.*, *Alistipes spp.* и *Bifidobacterium spp.*, в то время как она уменьшает количество полезных бактерий *Lactobacillus spp.*, *Roseburia spp.* и *E. rectale*, влияющие на бактериальное разнообразие микробиома кишечника. У людей, потребляющих диету с высоким содержанием продуктов животного происхождения, по сравнению с людьми, потребляющими растительную диету, культуральное исследование ряда авторов [4, 7] продемонстрировало более низкое количество *Bifidobacterium adolescentis* и повышенное количество *Bacteroides* и *Clostridia*.

Важно отметить, что диеты на основе животных белков часто содержат много жира в дополнение к белку, которые также могут влиять на микробный состав. Исследования ряда авторов [4, 7] показали, что диета с высоким содержанием животных и насыщенных жиров может изменить микробиоту кишечника, увеличивая количество липополисахаридов (ЛПС), триметиламин-N-оксида (ТМАО) и уменьшая количество короткоцепочечных жирных кислот (SCFA) (рис. 1) В исследованиях [4] выдвигается идея о том, что бактериальный состав в результате диеты может быть связан с определенными заболеваниями, в частности с заболеваниями, возникающими из-за хронического низкосортного воспаления, такого как диабет II типа, так как высокое потребление белка увеличивает уровень инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1).

«Западная диета», состоящая из продуктов с высоким содержанием жиров и сахара, также связана с хроническим низкосортным воспалением, метаболическими заболеваниями и ожирением. Исследования на крысах показали, что потребление диеты с высоким содержанием жиров приводит к значительно меньшему количеству *Lactobacillus intestinalis* и непропорционально большому количеству видов, продуцирующих пропионат и ацетат, включая *Clostridiales*, *Bacteroides* и *Enterobacteriales*. Проницаемость кишечника для бактериальных ЛПС может быть важным триггером низкосортного системного воспаления. ЛПС обнаруживаются на наружной мембране грамотрицательных бактерий, таких как протеобактерии, и служат эндотоксином. ЛПС всасываются в капилляры кишечника, транспортируются хиломикронами. Увеличение циркулирующего ЛПС может быть связано с увеличением проницаемости кишечника, со снижением экспрессии зонулина окклюденс-1 (ZO-1), клаудина и окклюдина, которые создают кишечный барьер. Разрушение кишечного барьера приводит к транслокации ЛПС, что приводит к воспалению и резистентности к инсулину. ЛПС активирует толл-подобный рецептор 4 (TLR4). TLR4, который присутствует на большинстве клеток, а также на макрофагах, распознает патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP). Связывание ЛПС с TLR4 вызывает сигнальный каскад через экспрессию цитокинов, индуцируя воспалительный ответ. Хроническое низкосортное воспаление через экспрессию цитокинов связано с резистентностью к инсулину, приводящей к диабету II типа [4].

Влияние растительной диеты на микробиом кишечника. Исследования показывают, что высокие уровни видов *Prevotella* связаны с растительными пищевыми привычками. Было проведено исследование на детях из Буркина-Фасо и Италии, в котором изучалось влияние диеты на бактериальный состав. Европейские дети потребляли диету, аналогичную западной, с низким содержанием клетчатки, в то время как дети Буркина-Фасо (африканские дети) имели диету, богатую клетчаткой и резистентным крахмалом. Исследователи обнаружили, что дети Буркина-Фасо имели микробиом, обогащенный *Bacteroidetes*, а также родами *Prevotella* и *Xylanibacter*, в то время как они были истощены *Firmicutes*.

Влияние средиземноморской диеты на микробиоту кишечника. Средиземноморская диета ориентирована на растения, с высоким содержанием клетчатки и омега-3 жирных кислот и низким содержанием животного белка и насыщенных жиров. Было показано, что соблюдение этой диеты было связано с повышением уровня SCFA, *Prevotella* и *Firmicutes*, разрушающих клетчатку. В этом конкретном исследовании исследователи также обнаружили, что соотношение *Prevotella-to-Bacteroides* было выше у тех, кто придерживается средиземноморской диеты, что указывает на то, что диета с высоким содержанием натуральных волокон и резистентного крахмала положительно изменяет бактериальный состав человека. Авторы обнаружили, что микробиом участников исследования, потребляющих средиземноморскую диету, был значительно более разнообразным по сравнению с микробиомом участников, потребляющих западную диету. У них наблюдалось более высокое наличие лактобактерий, клостридий, фекалибактерий и осцилоспир, а также более низкое руминококков и копрококков. Эти результаты согласуются с исследованием на людях, проведенным Pagliai et al., в котором они обнаружили, что после 3-месячного вмешательства средиземноморской диеты у испытуемых наблюдалось значительное изменение состава микробиома кишечника, а также обилие *Enterorhabdus*, *Lachnoclostridium* и *Parabacteroides* с повышенной продукцией SCFAs. Диета также приводила к снижению уровня воспалительных цитокинов [4, 5].

Заключение. Существуют основные различия между микробиотой кишечника субъектов, получавших преобладающую западную диету, и субъектами с диетой, богатой волокнами. Диета, включающая потребление животных белков и жиров, связана с энтеротипом, в котором доминируют бактероиды, напротив, диета, богатая углеводами, связана с энтеротипом, в котором доминируют превотеллы. Потребление животного белка играет значительную роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника, поскольку оно может изменять состав микробиоты кишечника, увеличивая *Bacteroides spp.*, *Alistipes spp.* и *Bilophila spp.* и уменьшая полезные *Lactobacillus spp.*, *Roseburia spp.* и *E. rectale*. Диеты с низким содержанием жира и высоким содержанием клетчатки обладают способностью изменять микробный состав кишечника положительным образом, смещая среду микробиома в сторону полезных бактерий *Prevotella* и *Bacteroides*. Соблюдение средиземноморской диеты имело положительные ассоциации со здоровьем, включая выработку короткоцепочечных жирных кислот и противовоспалительные свойства, снижающие риск хронических воспалительных заболеваний, таких как диабет II типа.

Библиографический список

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Видулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021 // Сахарный диабет. 2021. №3.
2. Драпкина О.М., Самородская И.В., Старинская М.А., Ким О.Т., Неймарк А.Е. Ожирение: оценка и тактика ведения пациентов. Коллективная монография. М.: ФГБОУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России; ООО «Силиция-Полиграф». 2021. С. 174.
3. Смелов П.А., Никитина С.Ю. Заболеваемость населения по основным классам, группам и отдельным болезням // Здравоохранение в России. М.: Федеральная служба государственной статистики, 2021.
4. Beam A., Clinger E., Hao L. Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota // Nutrients. 2021; 3(8): 27-95.
5. Pagliai G., Russo E., Niccolai E., Dinu M., Di Pilato V., Magrini A., Bartolucci G., Baldi S., Menicatti M., Giusti B., et al. Influence of a 3-month low-calorie Mediterranean diet compared to the vegetarian diet on human gut microbiota and SCFA: The CARDIVEG Study // Eur. J. Nutr. 2020; 59: 2011-2024.

6. Sakkas H., Bozidis P., Touzios C., Kolios D., Athanasiou G., Athanasopoulou E., Gerou I., Gartzonika C. Nutritional Status and the Influence of the Vegan Diet on the Gut Microbiota and Human Health. // *Medicina (Kaunas)*. 2020; 56(2): 88.

7. Singh R.K., Chang H.W., Yan D., Lee K.M., Ucmak D., Wong K., Abrouk M., Farahnik B., Nakamura M., Zhu T.H., Bhutani T., Liao W. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. // *J. Transl Med.* 2017; 15(1): 73.

ОПЫТ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ В ОТНОШЕНИИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Черепанов Л.В., Рыженков М.В., Прощенко Д.А.

**ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург, Россия**

Введение. Последние тенденции свидетельствуют об увеличении распространенности внутрибольничной пневмонии, вызванной Грамотрицательными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), чаще всего *Pseudomonas aeruginosa*. Следовательно, терапевтическая эффективность современных методов лечения бактериальной внутрибольничной пневмонии становится все более ограниченной, что подчеркивает необходимость разработки новых и эффективных противомикробных препаратов, а также новых стратегий предотвращения возникновения резистентности.

Данные факты подтверждает проведенное ретроспективное исследование, в котором наблюдали за 740 пациентами с нозокомиальной пневмонией в 12 лечебных учреждениях пяти стран (США, n= 3; Франция, n= 2; Германия, n= 2; Италия, n = 2 и Испания, n= 3). Было установлено, что лечебные учреждения Германии (44,2%) и Испании (43,4%) имеют бактерии с самым высоким показателем множественной лекарственной устойчивости. Общая госпитальная смертность составила 35,7%, в т.ч. в США – 22,5%; во Франции – 37,6%; в Германии – 41,7%; в Испании – 46,9%; и в Италии – 46,3%. Показатели смертности у пациентов, вызванных штаммами с МЛУ, значительно выше в сравнении с таковыми без МЛУ [3].

Достойной альтернативой антибиотикотерапии могут стать бактериофаги, так как они являются видоспецифичными в отношении конкретной бактерии, то есть они не будут атаковать безвредные комменсальные микроорганизмы и клетки человека. Их безвредность подтверждается клиническими испытаниями, проведенными на моделях мышей. Мышам наносили три царапины размером 1 мм на роговице, и затем заселяли клетками *P. aeruginosa* штамм РА33. Штамм РА33 был получен от пациента с синегнойным кератитом в медицинской школе Кочи, Япония. После заражения, через 30 минут, роговицу обрабатывали фагом КРР 12. Фаг КРР12 относится к семейству *Myoviridae*, роду *Pbunavirus*, морфотипу А1. В результате исследования наблюдались незначительные изменения роговицы, которые по истечении 5 дней исчезли. [1]

Целью данного исследования стал анализ опыта применения бактериофагов в отношении *P. aeruginosa* на территории Российской Федерации и за рубежом.

Материалы и методы. Для написания данной работы было использовано 5 источников литературы, опубликованных в международных базах цитирования Medline, Pubmed, Web of Science, Google Scholar, Scopus, а также опубликованные в ВАК, РИНЦ.

Результаты и их обсуждение. В исследовании [4] анализировались 40 бактериофагов, выделенных из реки Мтквари (Кура), озера Лиси и Черепашьего озера в Тбилиси (Республика Грузия), а также использовались восемь клинических штаммов *P. aeruginosa*, предоставленных коллекцией культур Института Элиава, Республика Грузия. Было выявлено, что самую высокую литическую активность проявил бактериофаг РТ-1, принадлежащий к семейству *Myoviridae* (63% всех изолятов) в отношении штаммов *P.*

aeruginosa PS 112, PS 114, PS 317, M 317 и PS 573, так как имел широкий спектр хозяев в сравнении с другими. Самым восприимчивым к образованию бляшек вариант синегнойной палочки оказался PS 573 (литическая активность 98%).

Потенциал против биопленки очищенных бактериофагов ФРТ-18[b], ФРТ-20[a], ФРТ-1S[a], ФРТ-5[a] и ФРТ-2[b] был оценен на *P. aeruginosa* PS 573 отдельно и в комбинации с ципрофлоксацином. Исследование показало, что использование антибиотика совместно с бактериофагами значительно повышает эффективность противомикробного воздействия.

В другом исследовании [5] проводился анализ литической активности бактериофагов семейств *Myoviridae* (PA193 и PA204) и *Podoviridae* (PA222 и PA223), которые были предоставлены компанией AmpliPhi Biosciences, в отношении синегнойной палочки, которая была получена патологической лабораторией Adelaide Pathology Partners из эндоскопически управляемых синусовых мазков у пациентов. Равные концентрации каждого бактериофага объединяли для формирования бактериофагового коктейля (СТ-РА). Всего было собрано 47 изолятов *P. aeruginosa* из верхних и нижних дыхательных путей у 44 пациентов, страдающих хроническим риносинуситом и/или муковисцидозом на 3 континентах. 40 из 45 изолятов (89%) были лизированы с помощью СТ-РА. При индивидуальном тестировании 73, 53, 73 и 71% изолятов были чувствительны к бактериофагам PA193, PA204, PA222 и PA223 соответственно.

Резюмируя все вышесказанное, бактериофаговый коктейль СТ-РА проявлял подходящую антибиопленочную активность *in vitro*, т.к. применение коктейля, в отличие от отдельных фагов, было эффективно в отношении более широкого диапазона хозяев (89% от 45 тестируемых изолятов).

Исследование [2], в котором проводились испытания литической активности препаратов «Пиобактериофаг поливалентный» (г. Уфа), «Бактериофаг синегнойный» (г. Пермь), «Бактериофаг синегнойный» (г. Нижний Новгород), «Секстафаг» (г. Пермь), свидетельствует о том, что Россия не обладает эффективными препаратами в отношении синегнойной палочки. Было собрано 53 неповторяющихся изолята *P. aeruginosa*. Микроорганизмы были выращены на агаре Мюллера-Хинтона, а анализ литической активности бактериофагов проводился с помощью спот-теста. По результатам исследования отмечался низкий уровень литической активности доступных коммерческих препаратов. Наиболее эффективным оказался «Бактериофаг синегнойный» (г. Пермь), однако он проявлял достаточный уровень литической активности лишь в 17 из 53 изолятов (32,1%). Схожее по степени действие оказал препарат «Секстафаг» (г. Пермь) с эффективностью 30,2%. Остальные препараты лизировали меньшее количество изолятов.

Заключение. Бактериофаги, предоставляемые иностранными компаниями, имеют высокий уровень литической активности и являются перспективной альтернативой антибиотикотерапии при лечении инфекций, вызванных *P. aeruginosa*. Высокая литическая эффективность в отношении синегнойной палочки наблюдается тогда, когда используемых препаратов бактериофагов больше одного, то есть используется коктейль из бактериофагов. Объединение фага с антибиотиком является возможным продуктивным методом терапии.

Препараты бактериофагов российского производства обладают скудным по силе действием в сравнении с иностранными препаратами. Низкий уровень активности препаратов для фаготерапии может быть связан с отсутствием в производственных коллекциях предприятий актуальных бактериофагов.

Библиографический список

1. Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Богоявленский А.П., Березин В.Э. Фаги *Pseudomonas aeruginosa* – как альтернативный подход в антимикробной терапии // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2018. №3. С. 22-28.
2. Тапальский Д.В. Препараты бактериофагов и комбинации антибиотиков: *in vitro* активность в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa* ST235 с экстремальной

антибиотикорезистентностью // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016. №4. С. 242-247.

3. An international multicenter retrospective study of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance / Scott T Micek, Richard G Wunderink, Marin H Kollef et al. // Critical care. 2015; 19(1): 219-226.

4. Anti-biofilm potential of purified environmental bacteriophage preparations against early stage *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / R. Issa, N. Chanishvili, J. Caplin et al. // Journal of Applied Microbiology. 2019; 126(6): 1657-1667.

5. Activity of Bacteriophages in Removing Biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Chronic Rhinosinusitis Patients / Stephanie A. Fong, Amanda Drilling, Sandra Morales et al. // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2017; 7: 418.

СЕКЦИЯ 2. ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ В ВОСТОЧНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2019-2021 ГОД

Алибеккызы А., Косаева С.Б., Рахимжанова Ф.С., доцент, кандидат медицинских наук, Кайрханова Ы.О., доктор философии Phd, Акашева С.А.
Некоммерческое Акционерное Общество «Медицинский университет г. Семей», г. Семей, Республика Казахстан

Введение. Согласно прогнозам ВОЗ, в 2021 и 2022 годах число инфицированных и умерших от туберкулеза будет гораздо выше. Из-за пандемии в 2020 году многие заболевшие не смогли вовремя обратиться к врачу и получить диагноз. Именно с этим связано сокращение числа новых случаев с 7,1 млн. в 2019 году до 5,8 млн. – в 2020-м.

Материалы и методы. Работа основана на оценке впервые зарегистрированных случаев туберкулеза и состоящих на учете больных с активными формами туберкулеза в ВКО, из них 16 районов и 3 города за 2019-2021 год.

За 2019 год количество больных, состоящих на учете с активными формами туберкулеза составило 1057 человек, из них: взрослые – 1023; дети – 13; подростки – 21. За 2020 год составило 870 человек, из них: взрослые – 853; дети – 9; подростки – 8. За 2021 год составило 756 человек, из них: взрослые – 727; дети – 9; подростки – 20.

Результаты и их обсуждение. При сравнительном анализе полученных данных нами отмечено, что за 2019 год высокий показатель впервые выявленных случаев туберкулеза на 100 тыс. населения по ВКО был отмечен в районе Алтай – 73,79% (48 больных), в Шемонаихинском районе – 70,64% (31 больных), в Глубоковском районе – 59,63% (38 больных).

За 2020 год высокий показатель впервые выявленных случаев туберкулеза на 100 тыс. населения по ВКО был отмечен в районе Алтай – 59,95% (39 больных), в Глубоковском районе – 58,07% (37 больных), в Жарминском районе – 44,53% (17 больных), в Шемонаихинском районе – 43,30% (19 больных).

За 2021 год высокий показатель впервые выявленных случаев туберкулеза на 100 тыс. населения по ВКО был отмечен в Глубоковском районе – 64,34% (41 больных), в Шемонаихинском районе – 61,53% (27 больных), в районе Алтай – 58,42% (38 больных), в Жарминском районе – 52,39% (20 больных).

Количество смертности по туберкулезу составило: за 2019 год – 24 человека (1,7%); за 2020 год – 48 человек (3,5%); за 2021 год – 30 человек (2,2%).

Заключение. За 2019-2021 годы отмечается уменьшение количества больных, идет тенденция снижения состоящих на учете с активной формой туберкулеза по всем районам ВКО. По показателю впервые выявленных случаев туберкулеза на 100 тыс. населения, в 2020 году снизилось в отличии от 2019 и 2021 годом, из-за того что, финансовые и другие ресурсы были переориентированы с оказания противотуберкулезной помощи на борьбу с COVID-19, что ограничило возможность получения основных услуг. Второй проблемой являлась ограниченная возможность для обращения за помощью в условиях режима самоизоляции.

Библиографический список

1. Patient-centred care, social support and adherence to treatment/Companion Handbook to the WHO Guidelines for the Programmatic Management of Drug-Resistant Tuberculosis, 2017.
2. World Health Organization. Tuberculosis profile. Kazakhstan, 2015. URL: https://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO_HQ_Reports%2FG2%2FPROD%2FEXT%2FTBCountry.

3. World Health Organization. Стратегия ВОЗ «The End TB Strategy», URL: <http://www.who.int/tb/strategy/end-tb/ru>.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТАГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ, СОБРАННЫХ
НА ПРЕДПРИЯТИЯХ АПК, ДЛЯ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЙ
В РАМКАХ ВЕТЕРИНАРНОГО МОНИТОРИНГА
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ**

Богомазова А.Н., кандидат биологических наук^{1,2}; Крылова Е.В., кандидат биологических наук¹; Гордеева В.Д.^{1,2}; Тимофеева И.А.¹; Путинцева А.В.¹; Кирсанова Н.А.¹; Прасолова О.В., кандидат ветеринарных наук¹; Иванова О.Е.¹, кандидат ветеринарных наук¹; Солтынская И.В.¹

¹ ФГБУ Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов («ВГНКИ»);

² ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, г. Москва, Россия

Введение. Для борьбы с угрозой антибиотикорезистентности всемирными организациями ВОЗ, МЭБ и ФАО принят подход «Единое здоровье». Согласно этому подходу, необходим контроль распространения устойчивости к антибиотикам не только среди возбудителей инфекционных заболеваний человека, но также среди зоонозных бактерий и в окружающей среде. В данной работе мы изучали, насколько пробы, собранные в среде обитания продуктивных животных, являются репрезентативными для исследований методом ПЦР без этапа выделения бактериальных изолятов в рамках проведения ветеринарного мониторинга антибиотикорезистентности.

Материалы и методы. 53 пробы были отобраны в 2020 году в разных регионах России на животноводческих и птицеводческих комплексах, где выращивали крупный рогатый скот (КРС), овец, свиней, лошадей, кур, гусей и уток. Отбирали два типа образцов: образцы фекалий (34 образца) и образцы из окружающей среды, представленные смывами с клеток, стен, оборудования, а также подстилку (19 образцов). Выделение ДНК осуществляли сорбционным методом с применением коммерческих наборов реагентов. Исследования образцов на наличие генов резистентности к колистину (*mcr-1*), пенициллинам и цефалоспорином (СМУ, СТХ-М-1, СТХ-М-9), фторхинолонам (*qnrS*, *qnrB*), тетрациклинам (*tetA*, *tetM*, *tetO*) проводили методом ПЦР в режиме «реального времени». Положительные результаты выборочно подтверждали секвенированием по Сэнгеру. Приготовление библиотеки для таргетного секвенирования генов *16SpPHK* проводили с использованием набора реактивов NexteraXT согласно инструкции производителя. Секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit v3, обеспечивающего получение прочтений длиной 300 нуклеотидов.

Для анализа данных секвенирования 16S рРНК использовался пакет программ QIIME2 [2]. Для процессинга данных использовали протокол DADA2 [3]. Для каждой уникальной последовательности была определена представленность в исследуемых образцах, а также выполнен поиск против нуклеотидной базы данных NCBI. Для определения таксономического состава использовался наивный байесовский классификатор, обученный на базе данных последовательностей рибосомных генов Silva 132 99% OTUs [1]. Определение видовой принадлежности последовательностей выполнялось на разных уровнях (от царства до вида), и в соответствии с этим был описан состав образцов. Бактерии, представленные в количестве менее 1% от среднего количества ампликонов на образец, были исключены. Для оценки альфа- и бета-разнообразия метагеномных образцов использовались

метрики, основанные на филогенетическом анализе полученных ASV, анализ проводился по 1405 последовательностям, выбранным случайным образом из каждого образца. Для поиска ассоциаций между наблюдаемым альфа-разнообразием и источником материала применялся критерий Крускала-Уоллиса. Для сравнения таксономического состава между образцами использовались метрики unweighted UniFrac distance и Bray-Curtis distance. Анализ осуществлялся с помощью метода главных компонент (плагин Emperor) [5] и метода иерархической кластеризации, в качестве входных данных была использована матрица попарных расстояний между образцами. Для построения дерева был использован метод ближайших соседей, реализованный в пакете scikit-bio 0.5.6, для визуализации был использован веб-сервис iTOL [4].

Результаты и их обсуждение. Образцы значительно варьировали по числу ридов и числу идентифицированных таксонов в 16S-метагеномном анализе, при этом число ридов и идентифицированных таксонов достоверно коррелировали между собой ($r = 0.48$, $p=0.00002$). Были выявлены значимые различия между богатством сообществ у КРС и кур ($p = 0,0003$), а также у кур и свиней ($p = 0,001$). Различие по разнообразию образцов, собранных от разных животных, выражено также и в разнице по количеству идентифицируемых таксономических групп, например, семейств (рис. 1).

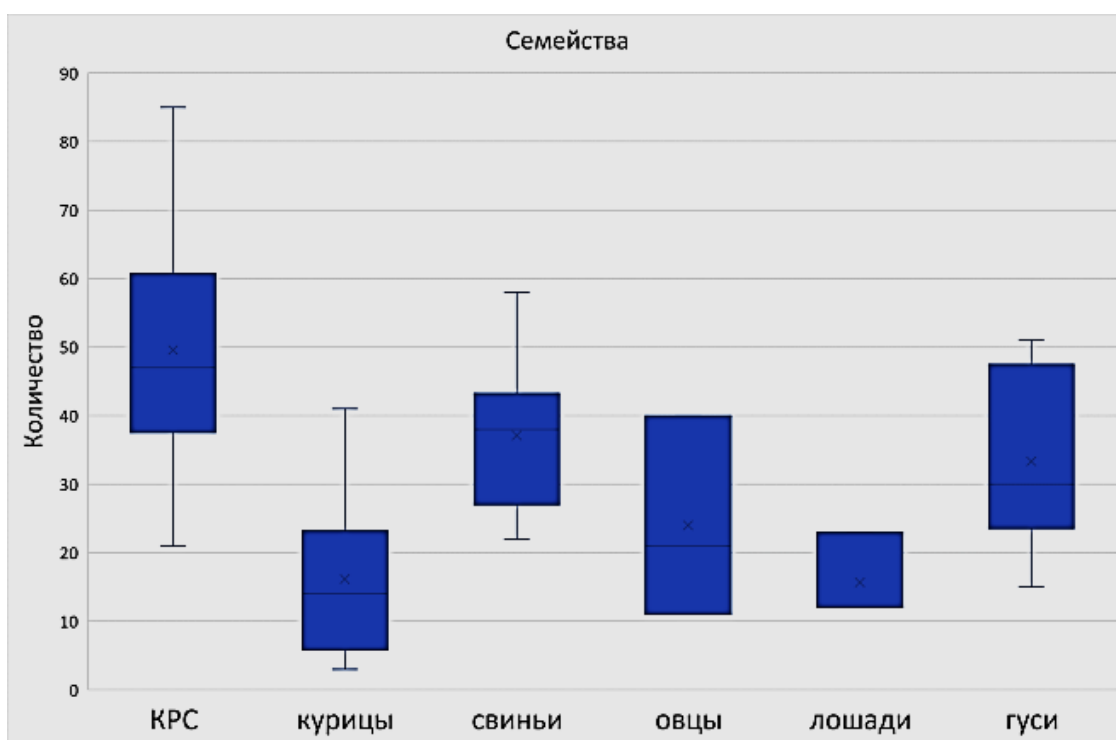


Рис. 1. Распределение образцов по количеству идентифицированных семейств бактерий в зависимости от вида животных.

В целом, следует отметить, что наиболее богатые по видовому составу образцы были собраны от КРС, а наиболее бедные – от кур. Можно было предположить, что образцы фекалий будут богаче по составу, чем смывы, однако не выявлено достоверной разницы между количеством семейств и способом сбора образца ($p = 0.09$).

На рисунке 2 синей скобкой указана ветвь, которая объединяет образцы разного географического происхождения. Во всех образцах этой ветви были выявлены гены резистентности к антибиотикам. Красными скобками указаны ветви с образцами, взятыми из одного хозяйства в Рязанской области.

Можно было ожидать, что чем богаче по видовому составу метагеномный образец, тем вероятней выявление генов резистентности. Однако не было выявлено зависимости

между выявлением какого-либо из генов резистентности (*CMY*, *CTX-M-9*, *CTX-M-1*, *mcr-1*, *qnrS*, *qnrB*, *tetA*, *tetM*, *tetO*), количеством идентифицированных семейств и числом ридов в метагеномном образце. Вопреки ожиданиям, низкое количество ридов и бедность таксономического состава метагеномного образца не препятствовало выявлению генов резистентности методом ПЦР.

Данные 16S-метагеномного анализа были использованы для иерархической кластеризации образцов в виде дерева, представленного на рисунке 2. Кластерный анализ показал, что образцы фекалий и смывы, взятые из одного коровника в Рязанской области, кластеризуются в отдельные ветви. Для данного хозяйства показано, что в образцах фекалий достоверно чаще обнаруживали гены резистентности, чем в смывах ($p=0,0001$). Кроме того, в смывах из этого коровника, в отличие от образцов фекалий, практически не детектируются бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, мониторинг антибиотикорезистентности которых рекомендуется МЭБ и ФАО.

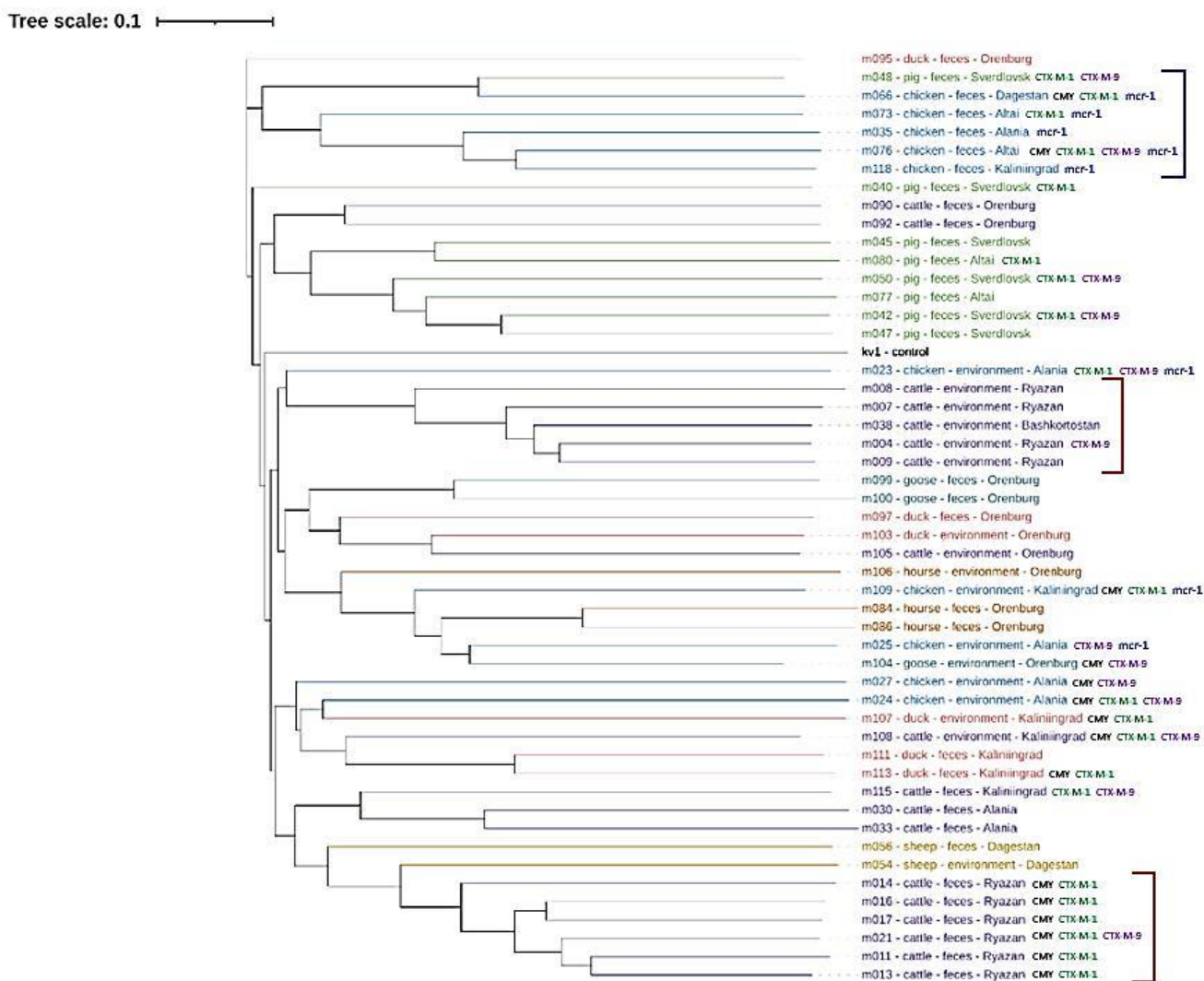


Рис. 2. Кластеризация метагеномных образцов на основе *Bray-Curtis distance*.

Иерархическая кластеризация выявила также две ветви, в которых все образцы содержат гены резистентности. Одна из этих ветвей содержит образцы фекалий от КРС из вышеупомянутого хозяйства из Рязанской области, поэтому не вполне понятно, что привело к кластеризации этих образцов: общность происхождения или сходное воздействие на микробиом антибактериальными препаратами. Другая ветвь содержит шесть образцов

фекалий разного видового и географического происхождения. Пять из шести образцов содержат бактерии семейства *Lactobacillaceae*. Можно предположить, что микробиом данных образцов образован в результате лечения антибиотиками и пробиотиками на основе *Lactobacillaceae*, вследствие чего сформирован характерный паттерн, который привёл к кластеризации этих образцов.

Заключение. 16S-метагеномный анализ показал, что подавляющее большинство метагеномных образцов, собранных в местах обитания продуктивных животных, содержат достаточное количество материала для анализа, независимо от метода сбора материала, вида животного или географии сбора. Тем не менее, предварительные результаты свидетельствуют, что образцы фекалий, а не смывы с поверхностей являются предпочтительными для исследований методом ПЦР без этапа выделения бактериальных изолятов в рамках проведения ветеринарного мониторинга антибиотикорезистентности.

Библиографический список

1. Bokulich N.A. et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin //Microbiome. 2018. Т. 6. №. 1. С. 1-17.
2. Bolyen E. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 //Nature biotechnology. 2019. Т. 37. №. 8. С. 852-857.
3. Callahan B.J. et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data //Nature methods. 2016. Т. 13. №. 7. С. 581-583.
4. Letunic I., Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation //Nucleic acids research. 2021. Т. 49. №. W1. С. W293-W296.
5. Vázquez-Baeza Y. et al. EMPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data //Gigascience. 2013. Т. 2. №. 1. С. 2047-217X-2-16.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ KLEBSIELLA PNEUMONIAE

**Воробьева Е.Д., Макавчик С.А., доцент, доктор ветеринарных наук
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия**

Введение. Бактерии рода *Klebsiella pneumoniae* являются патогенными для животных и человека. В ветеринарной практике подвид *K. pneumoniae pneumoniae* может служить этиологическим фактором при пневмониях, метритах, маститах, септических процессах у крупного рогатого скота, свиней, лошадей, обезьян и других видов, а также участвовать в развитии желудочно-кишечной патологии у молодняка животных [1]. Как правило, *Klebsiella pneumoniae* вызывает болезни у животных с ослабленным иммунитетом, однако инфицированию подвержены и здоровые организмы, у которых не наблюдается иммунодефицит. Это связано с распространением гипервирулентных штаммов бактерии, характеризующихся большей антибиотикорезистентностью [3, 5].

Антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* обусловлена способностью бактерий продуцировать β-лактамазы расширенного спектра (ESBL). β-лактамазы – это ферменты, способные расщеплять пенициллины, цефалоспорины и монобактамы, но не гидролизующие цефамицины и карбапенемы. ESBL подавляются «классическими» ингибиторами: клавулановой кислотой, сульбактамом, тазобактамом, а также авибактамом. Среди энтеробактерий *Klebsiella pneumoniae* является одним из наиболее частых продуцентов ESBL. Большинство β-лактамаз – производные плазмидно кодируемых пенициллиназ TEM-1, TEM-2, SHV-1, от которых они отличаются единичными аминокислотными заменами, за счет чего расширяется спектр ферментативной активности. Различия в уровнях устойчивости продуцентов ESBL обусловлены вариациями в уровне

экспрессии и свойствах различных ESBL, наличием дополнительных механизмов резистентности [2, 4].

Целью работы является определение антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae*, выделенной из маститного молока.

Материалы и методы. Исследование антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae* проводили методом диффузии антибиотиков в агар с применением дисков, основанным на формировании зоны задержки роста микроорганизмов вокруг бумажного диска, пропитанного антибиотиком, на плотной питательной среде. На агар Мюллера-Хинтона сделали посев 20-часовой агаровой культуры *Klebsiella pneumoniae*. Культуру смыли изотоническим раствором хлорида натрия и по стандарту мутности № 0.5 по МакФарланду приготовили одномиллиардную взвесь бактерий. Инокулят с помощью тупфера равномерно распределили по плотной питательной среде, разлитую в две чашки Петри; приоткрытые чашки подсушивали при комнатной температуре на протяжении 10 минут. Изучали чувствительность к следующим антибиотикам: цефалексин (ЦФЛ), цефуроксим (ЦОМ), цефотаксим (ЦТК), цефтазидим (ЦАЗ), амоксициллин (АКЦ), ампициллин (АМП), гентамицин (ГЕН), меропинем (МПН), сульфаметоксазол с триметопримом (ЗКТ), ципрофлоксацин (ЦИП). Диски, пропитанные соответствующими антибиотиками, стерильным пинцетом разложили по поверхность засеянной среды на расстоянии 2 см друг от друга и от края чашки Петри; на каждую чашку поместили по 5 дисков. Для диффузии антибиотиков в агар чашки выдержали в течение 2 часов при комнатной температуре, после чего поместили их в термостат при температуре 37°C на 18 часов.

Результаты и их обсуждение. Результаты учитывали через 18 часов по величине зоны задержки роста бактерий вокруг диска. Чашки установили вверх дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет настольной лампы падал на них под углом 45°. Диаметр зоны задержки роста определили с помощью линейки с учетом диаметра самого диска, после чего сравнили результат с данными EUCAST за 2021 год для установления чувствительности или резистентности бактерии к рассматриваемым антибиотикам.

Таблица 1 – Антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae*

Наименования антимикробных препаратов (АМП)	Чувствительность <i>Kl. Pneumoniae</i> к АМП	Пограничные значения диаметра зон подавления роста согласно данным EUCAST (мм)	
		S ≥	R <
Пенициллины			
Амоксициллин (АКЦ)	S (17 мм)	14	14
Ампициллин (АМП)	S (15 мм)	14	14
Аминогликозиды			
Гентамицин (ГЕН)	R (0 мм)	17	14
Карбапенемы			
Меропенем (МПН)	I (20 мм)	22	16
Сульфаниламиды			
Триметоприм-сульфаметоксазол (ЗКТ)	S (20 мм)	16	13
Цефалоспорины 1-го поколения			
Цефалексин (ЦФЛ)	S (20 мм)	14	14
Цефалоспорины 2-го поколения			
Цефуроксим (ЦОМ)	S (20 мм)	18	18
Цефалоспорины 3-го поколения			
Цефотаксим (ЦТК)	S (25 мм)	20	17
Цефтазидим (ЦАЗ)	I (19 мм)	22	19
Фторхинолоны 2-го поколения			
Ципрофлоксацин (ЦИП)	S (22 мм)	22	19

Примечание: R – резистентные, S – чувствительные, I – умеренно резистентные.

Заключение. Методом диффузии антибиотиков в агар установили, что исследуемый микроорганизм вида *Klebsiella pneumoniae*, выделенная из маститного молока, резистентна к гентамицину и обладает умеренной резистентностью к меропенему и цефтазидиму.

Библиографический список

1. Скородумов Д.И., Субботин В.В., Сидоров М.Ф., Костенко Т.С. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных. М.: ИзографЪ, 2005. 656 с.
2. Макавчик С.А., Сухинин А.А., Енгашев С.В., Кротова А.Л. Лабораторные методы контроля полирезистентных возбудителей бактериальных болезней животных и рациональное применение антимикробных препаратов: монография. Санкт-Петербург: изд-во ВВМ, 2021. 152 с.
3. Макавчик С.А. Гипермукоидные фенотипы *Klebsiella pneumoniae* и проблемы антибиотикотерапии сельскохозяйственных животных // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2019. № 4. С. 48-51.
4. Макавчик С.А., Кротова А.Л., Баргман Ж.Е., Сухинин А.А., Приходько Е.И. Механизмы резистентности к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных от крупного рогатого скота // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020. № 4. С. 41-46.
5. Paczosa M.K., Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2016. Vol. 80, №3.

ПРОБЛЕМА ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ МАЛЯРИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ NESTED PCR. ОБЗОР СЛУЧАЕВ И ПУТИ РЕШЕНИЯ

**Гринев А.Б., кандидат биологических наук, Андгуладзе И. Г., Фокина Н.Ю.
ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени
И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Москва, Россия**

Введение. Точная дифференциальная диагностика протозойных заболеваний, в частности малярии, является актуальной задачей современного отечественного здравоохранения. От корректности и своевременности постановки диагноза зависит особенность выбора стратегий лечения и, в конечном счете, выживаемость больных. Ежегодно в Российской Федерации регистрируется несколько десятков случаев завозной или вторичной от завозной малярии, из них несколько человек гибнут. Проблема становится еще более актуальной в свете снижения ограничений на перемещение граждан, связанных с пандемией коронавирусной инфекции и перераспределением туристических потоков в страны Африканского и Южноамериканского континентов, для которых малярийная инфекция является эндемичной. В данной работе мы хотим рассмотреть два случая ложноположительного результата Nested PCR, в результате которых были обнаружены микст-инфекции *Plasmodium vivax* + *Plasmodium falciparum*, а также наметить потенциальные пути решения подобных ошибок диагностики.

Материалы и методы. Образцы крови больных малярией были получены на базе ГБУ «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения города Москвы». Для проведения Nested PCR использовалась эритроцитарная фракция крови больного малярией. Выделение ДНК проводилось с использованием коммерческого набора

«Комплект для выделения ДНК/РНК из сыворотки или плазмы крови» («Литех») согласно инструкции производителя. Нуклеотидный состав праймеров и режим амплификации использовались согласно данным, приведенным в статье Van Ha N [6]. Выделение продуктов ПЦР из геля проводили с помощью QIAquick Gel Extraction kit (QiAGEN) согласно инструкции производителя. Секвенирование проводилось на секвенаторе CEQ8800 (Beckman Coulture) с набором Genome Lab TM Methods Development Kit Dye Terminator Cycle Sequencing (Beckman Coulture), согласно протоколу производителя. Сборка последовательностей производилась на модуле Seqman 4.03 (DNA Star). Для того, чтобы установить принадлежность и специфичность амплифицированного фрагмента, был использован инструмент BLASTN из программного пакета BLAST [1]; источником данных для сравнения служила интегрированная с ним база данных NCBI GenBank. В предложенном нами методе праймеры подбирались при помощи ресурса Benchling, куда была загружена последовательность исследуемого генома. С помощью встроенного инструмента Primer 3 [5] были найдены области, наиболее подходящие для подбора специфичных праймеров. Следующим шагом методом перебора олигонуклеотиды проверялись на соответствие температуры отжига и GC-состава с помощью Tm Calculator [3]. Подходящие олигонуклеотиды проверялись на способность образовывать вторичные шпильчатые структуры и димеры с помощью OligoAnalyzer Tool [4]. Заключительным этапом, прошедшие все этапы, праймеры выравнивались на референсные геномы искомым организмов с помощью инструмента BLASTN [1].

Результаты и их обсуждение. На настоящий момент микроскопирование по-прежнему является «золотым стандартом» при дифференциальной диагностике малярии [2], однако этот метод не лишен своих недостатков. Так, например, существенные трудности могут возникнуть при наличии только кольцевидных стадий паразита, при самостоятельном применении пациентом химиотерапевтических препаратов, так как в этом случае морфология паразита может быть существенно видоизменена, или при сочетанных инвазиях более чем одним видом паразитов. Трудности диагностики малярии при микст-инфекциях было посвящено несколько работ ранее, в большинстве из них в качестве быстрого и недорогого метода решения проблемы предлагается использование ПЦР [2,6], но данный метод может давать некорректный результат при низкой паразитемии, особенно если в качестве субстрата используется кровь на бумажном фильтре или цельная кровь больного, без предварительного центрифугирования и отбора эритроцитарной фракции. Одним из методов, позволяющих решить проблему низкого содержания ДНК паразита в образце, является применение модификации обычной ПЦР – Nested PCR. Однако данный тип диагностики не лишен своих недостатков. При проведении Nested PCR образцов больных, которым был поставлен диагноз «малярия, вызванная *Plasmodium falciparum*» (B50), нами были получены результаты, идентифицированные после анализа агарозного геля, как микст-инфекции *Plasmodium vivax* + *Plasmodium falciparum*. Для точного определения и предотвращения возможности ложноположительного результата мы экстрагировали ампликоны, соответствующие *Plasmodium vivax*, и провели секвенирование полученных последовательностей. Результаты секвенирования и последующего анализа свидетельствуют, что данные последовательности не соответствуют ДНК *Plasmodium vivax* и, вероятно, являются результатом неспецифического связывания праймеров. Подобные события ставят под вопрос точность и достоверность Nested PCR при диагностики трехдневной малярии, особенно в сложных случаях. На наш взгляд, целесообразно пересмотреть нуклеотидный состав праймеров для этого паразита. Более того, мы предлагаем новый подход для подбора нуклеотидной последовательности праймеров, который в общих чертах можно свести к следующей последовательности действий: вначале с помощью программного обеспечения Primer 3 [5] производится поиск зон, оптимальных для поиска олигонуклеотидных последовательностей, которые могут служить праймерами для амплификации целевого участка гена. Затем, с помощью инструмента Tm Calculator [3], олигонуклеотиды длиной k-мера 20-25 п.н. около найденных с помощью Primer 3 областей, проверяются на соответствие

температуры отжига и GC-состава, позволяющих использовать их для проведения ПЦР при заданных условиях амплификации. Конформация подходящих по условиям олигонуклеотидов проверяется с помощью OligoAnalyzer Tool [4] они не должны образовывать шпильки и димеры (как внутри-, так и межмолекулярные). Наконец, чтобы избежать неспецифичного связывания праймера, производится выравнивание отобранных олигонуклеотидных последовательностей на референсный геном искомого организма, а также тех, чье присутствие ожидается в исследуемом образце, с помощью инструмента BLASTN [1]. Для автоматизации подбора праймеров, описанный выше алгоритм был программно реализован на языке Python с применением средства разработки Selenium WebDriver [7].

Заключение. Сам по себе метод Nested PCR для диагностики сложных случаев малярийной инфекции является удобным, простым и экономически выгодным, но не идеально точным. В данной работе мы попытались не только обозначить проблему ложноположительной диагностики при применении этого метода, но и предложить потенциальные пути ее решения, которые, впрочем, требуют дальнейшей проверки практикой.

Библиографический список

1. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. Режим доступа: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 24.02.2022).
2. Johnston S. P. et al. PCR as a confirmatory technique for laboratory diagnosis of malaria // *Journal of clinical microbiology*. 2006. Т. 44. №. 3. С. 1087-1089.
3. NEB Tm Calculator. Режим доступа: <https://tmcalculator.neb.com/#!/main> (дата обращения: 24.02.2022).
4. OligoAnalyzer Tool - primer analysis. Режим доступа: <https://eu.idtdna.com/calc/analyzer> (дата обращения: 24.02.2022).
5. Primer3web version 4.1.0. Режим доступа: <https://primer3.ut.ee/> (дата обращения: 20.02.2022).
6. Van Ha N., Dyk Dao L., Rabinovich S. A. Use of nested PCR for differential diagnosis of falciparum malaria reinfection and relapse in drug-resistant patients // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2002. Т. 134. №. 4. С. 379-381.
7. WebDriver // Selenium. Режим доступа: <https://www.selenium.dev/documentation/webdriver/> (дата обращения: 24.02.2022).

ВНЕБОЛЬНИЧНАЯ ПНЕВМОНИЯ, ВЫЗВАННАЯ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE: СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ

**Дубинина М.С., Болдина Н.В., кандидат медицинских наук
ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»,
Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Курск, Россия**

Введение. В современном мире пневмония является одним из самых распространенных заболеваний дыхательной системы. Ежедневно наблюдается рост пациентов с впервые выявленной внебольничной пневмонией (ВП). Возбудителями ВП некоронавирусной этиологии могут быть различные организмы, среди которых наиболее распространенными являются *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus* и *L. pneumophila* [2]. В 30-50% случаев некоронавирусной пневмонии установленной этиологии возбудителем заболевания служат грамположительные кокки *Streptococcus pneumoniae*. *S. pneumoniae* (стрептококк пневмонии, пневмококк) по морфологическим особенностям является грамположительным диплококком овальной формы, попарно

окруженным полисахаридной микрокапсулой, которая является патогенным фактором из-за способности ослаблять фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов [3].

Цель: провести сравнительный анализ эффективности фармакологического действия лекарственных препаратов у пациентов с внебольничной пневмонией (ВП), вызванной *Streptococcus pneumoniae*.

Материалы и методы. Работа проводилась на кафедре фармакологии Курского государственного медицинского университета, базой для клинических исследований и источником данных стало пульмонологическое отделение ОБУЗ «Курская городская больница №6». Для обеспечения репрезентативности выборки числа респондентов по отношению к генеральной совокупности с доверительной вероятностью 85% и доверительным интервалом 15% необходимо было привлечь к исследованию не менее 26 пациентов. В исследовании приняло участие 32 пациента с внебольничной пневмонией, что полностью удовлетворяет необходимости обеспечения репрезентативности выборки. Средний возраст больных составил $35,4 \pm 3,3$ года. Среди них женщин – 41%, мужчины – 59%.

Результаты и их обсуждение. При исследовании сопутствующих заболеваний и исходя из анамнеза ни у одного из пациентов не наблюдалось выраженного иммунодефицита, что позволило свести дифференциальную диагностику возбудителя ВП к единому алгоритму. Идентификация пневмококка проводилась методом полимеразной цепной реакции, в качестве исследуемого материала у пациентов забиралась мокрота. При изучении анамнеза больных у 45% пациентов наблюдались хронические заболевания ССС (гипертоническая болезнь, ИБС) у 37% наблюдались хронические заболевания дыхательной системы (бронхиальная астма, хронический тонзиллит, хронический бронхит), у 3% наблюдался хронический пиелонефрит. У 15% в анамнезе нет сведений о наличии хронических заболеваний. Среди госпитализированных больных не было пациентов с легкой формой внебольничной пневмонии (в связи с преимущественным амбулаторным лечением), у 78% наблюдалась средняя форма ВП пневмонии, у 22% была диагностирована тяжелая форма внебольничной пневмонии. Длительность лечения больных составила 14 дней.

Стоит отметить, что при применении группы цефалоспоринов (45%) применялись цефалоспорины III поколения, к которым относятся цефотаксим и цефтриаксон, предпочтение отдавалось парентеральному способу введения лекарственного препарата. Вышеперечисленные антибиотики были назначены 82% больных женщин и 78% пациентов – мужчин. 30% пациентов получали терапию антибиотиками группы макролидов, к которой, в частности, относится применяемый азитромицин. Данный антибиотик был назначен 9% и 6% мужчин. Целесообразность назначения препарата можно обосновать его фармакокинетическим действием: аккумуляция в тканях, метаболическая стабильность, достаточно длительный период полувыведения, низкий уровень резистентности *S. pneumoniae* к АБ. В данном случае фторхинолоны (21%), а именно левофлоксацин, применялись при ступенчатой монотерапии среднетяжелой и тяжелой ВП. Терапию левофлоксацином получали 5% женщин и 10% мужчин. В остальных случаях (4%) для лечения внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии применялись антибиотики группы гликопептидов и группы аминогликозидов.

Оценка эффективности антибактериальной терапии проводилась на основании клинико-рентгенологической динамики, исследований температуры тела, частоты дыхательных движений, результатов лабораторного анализа крови (СОЭ, концентрация гемоглобина, лейкоцитоз). В случае малоэффективной терапии прибегли к назначению препарата ванкомицина (группа трициклических гликопептидов) парентерально, что увеличило длительность лечения до 21 дня.

Заключение. По результатам проведенных объективных и лабораторных исследований выявлено, что в 88% случаев назначенная и проведенная антибактериальная терапия при лечении внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии оказалась эффективной, в 12% – эффективность терапии оказалась малоэффективной. В качестве рекомендаций по

использованию антибактериальных химиопрепаратов следует указать на необходимость рационального применения препаратов группы макролидов и фторхинолонов, учитывая распространение штаммов *S. pneumoniae*, нечувствительных к препаратам этих групп [2].

Библиографический список

1. Федеральная Служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.rosпотребнадzor.ru/](https://www.rosпотребнадзор.ru/), свободный – (31.10.2020).
2. Министерство здравоохранения Российской Федерации Клинические рекомендации. Внебольничная пневмония у взрослых МКБ 10: J13-J18. 2019.
3. Иванчик Н.В., Чагарян А.Н., Сухорукова М.В. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования / Н.В. Иванчик, // Клиническая микробиологическая антимикробная химиотерапия. 2019. №3. С. 230-237.

ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ, СОДЕРЖАЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ

**Енсебаева Ж.С., Кыдырмолдаева К.Б., Нургазин А.Ж., Магзумов Ж.Б., Мусабаев А.И.,
Ерланулы М.Е. Научный руководитель: Малик.М.М.**

НАО «Медицинский университет г. Семей», Республика Казахстан

Введение. В настоящее время количество людей, борющихся с проблемами кожи лица, растет с каждым годом. Использование качественной косметики по уходу за лицом для решения проблемы - самый главный залог здоровой кожи лица. Поэтому для правильного выбора продуктов, оказывающих воздействие, очень важно обращать внимание на наличие в составе продукта химических и натуральных добавок. В том числе влияние химических добавок в составе многих косметических продуктов на кожу лица больше вредно, чем полезно, в связи с чем использование натуральных добавок вместо некоторых популярных продуктов в масс маркете выгоднее как по качеству, так и по цене.

Цель работы: выявить влияние активных веществ в продуктах на кожу, выявив наиболее распространенные продукты, используемые при наиболее распространенных проблемах с кожей лица.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели мы использовали метод горизонтального ретроспективного исследования. Было проведено анкетирование для выявления наиболее распространенной проблемы кожи лица среди студентов 5 курса НАО «Медицинский университет г. Семей» и применяемых к ней наиболее распространенных косметических средств по уходу за кожей лица. Опрос проводился виртуально с помощью приложения Google Forms.

Результаты и их обсуждение: В опросе приняли участие студенты факультетов общей медицины, стоматологии, общественного здравоохранения, фармакологии. Всего 105 студентов. Из них девочек-89(84,7%) и мальчиков – 16(15,3%).

Подавляющее большинство респондентов были студентами в возрасте от 17 до 20 лет и от 21 до 25 лет. Мы связали большое количество обследуемых в этом возрастном периоде с физическими, эндокринными и репродуктивными изменениями в подростковом возрасте (рис. 1).

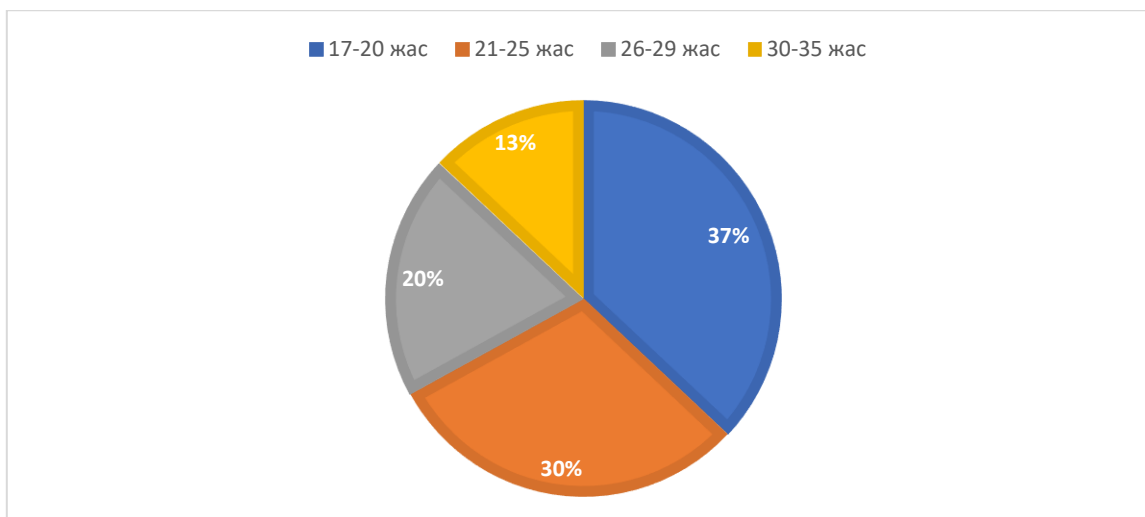


Рис. 1. Классификация участников опроса по возрастным категориям.

Доля тех, кто регулярно пользуется косметическими средствами для ухода за лицом, составила 75%(84), иногда – 17%(18) и вообще не пользуется – 8% (9).

Ответ на вопрос: «Чье мнение для вас наиболее важно при выборе косметических средств по уходу за лицом?» показал следующее (рис. 2).

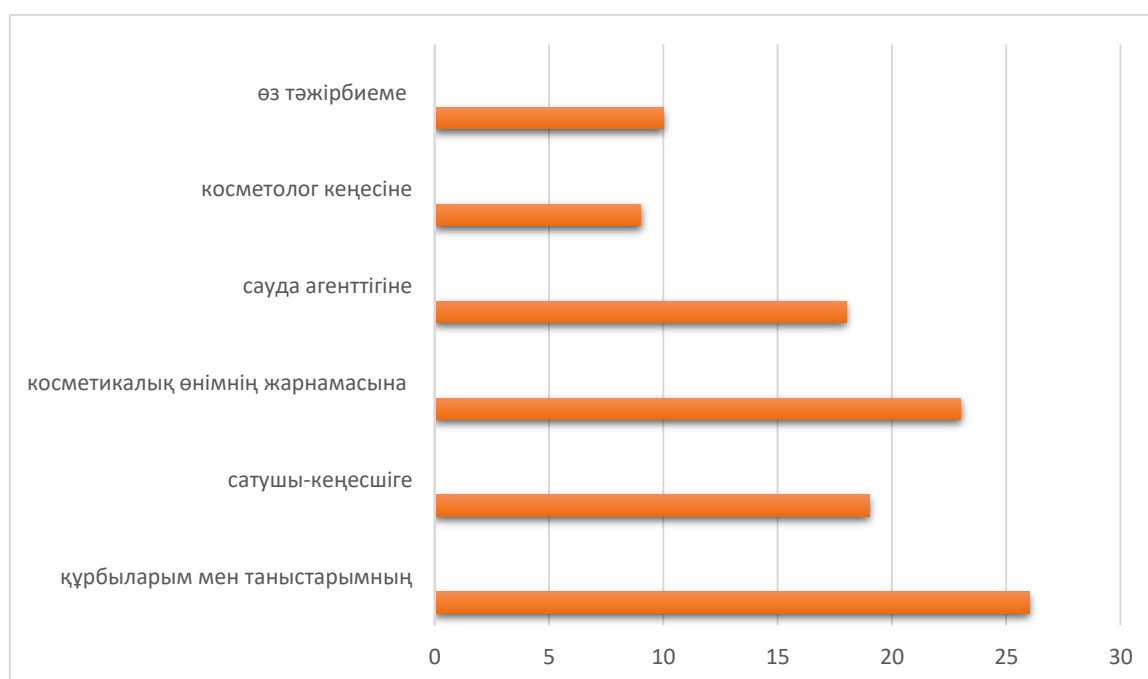


Рис. 2. Мнение при выборе средств.

Как показано на диаграмме, при выборе средств по уходу за кожей лица большинство студентов прислушиваются к советам своих подруг и знакомых(25,7%), рекламе косметической продукции(21,9%) и мнению продавца-консультанта(18%). Социальная сеть Instagram, как рекламный инструмент, становится все более и более эффективной.

Следующий вопрос анкеты предназначен для определения типа кожи лица респондентов (рис. 3).

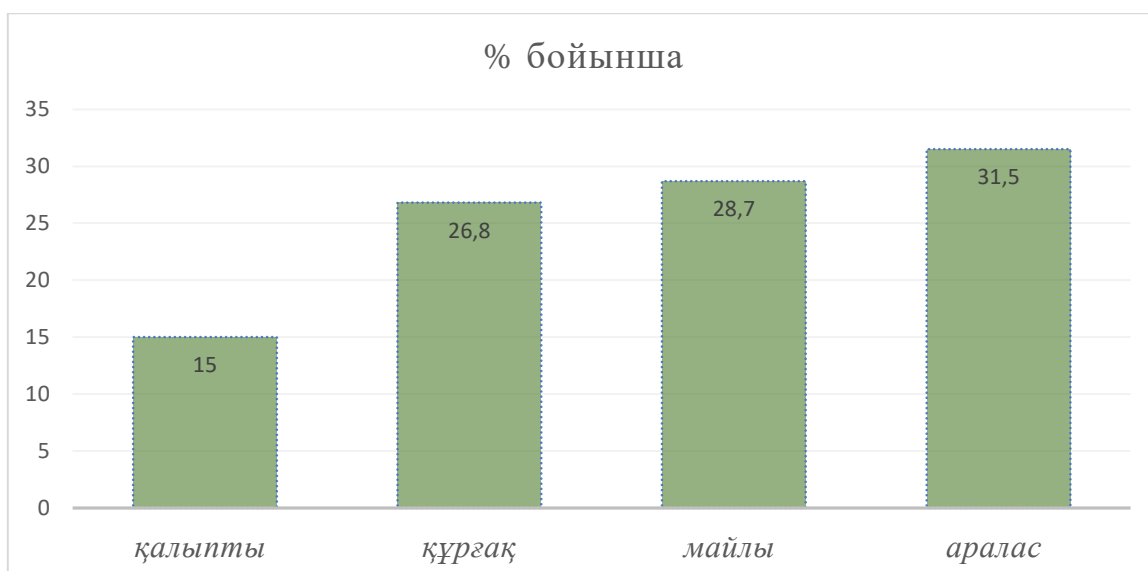


Рис. 3. Классификация по типу кожи лица.

Более половины студентов, которые жаловались на прыщи/акне на лице, имели жирный и смешанный тип кожи лица.

Длительность заболевания у мужчин и женщин с жалобами на прыщи примерно одинакова: $2,1 \pm 0,78$ и $3,5 \pm 2,02$ года соответственно; общая продолжительность $-2,75 \pm 1,96$ года (рис. 4)

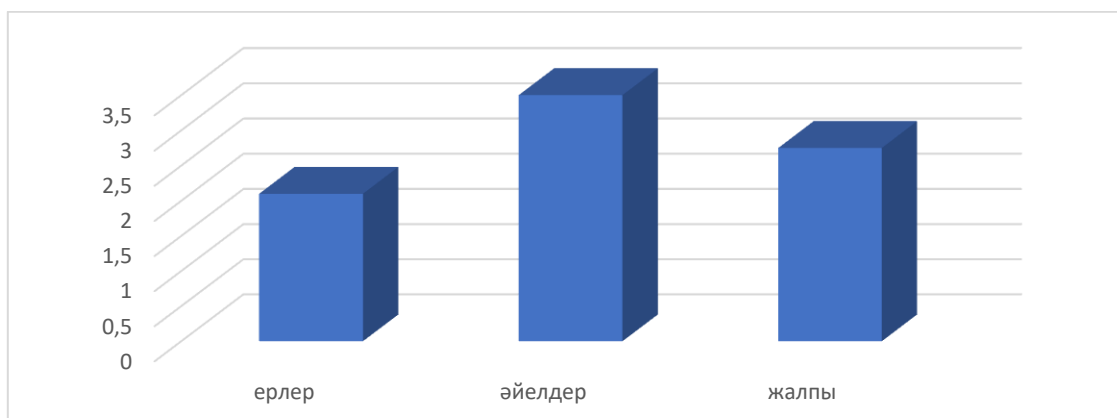


Рис. 4. Классификация по продолжительности заболевания.

Как видно из таблицы 1, практически всех потребителей беспокоят прыщи на лице. 1/3 из них имели акне на коже груди и/или спины одновременно.

Таблица 1 – Классификация в зависимости от локализации акне

Локализация	Показатели	
	абс.	%
Зоны лица	103	98
Зоны спины	43	40
Зоны грудной области	19	18

Установлено, что 98% тех, кто постоянно уделяет внимание веществам, содержащимся в подборе косметических средств по уходу, женщины.

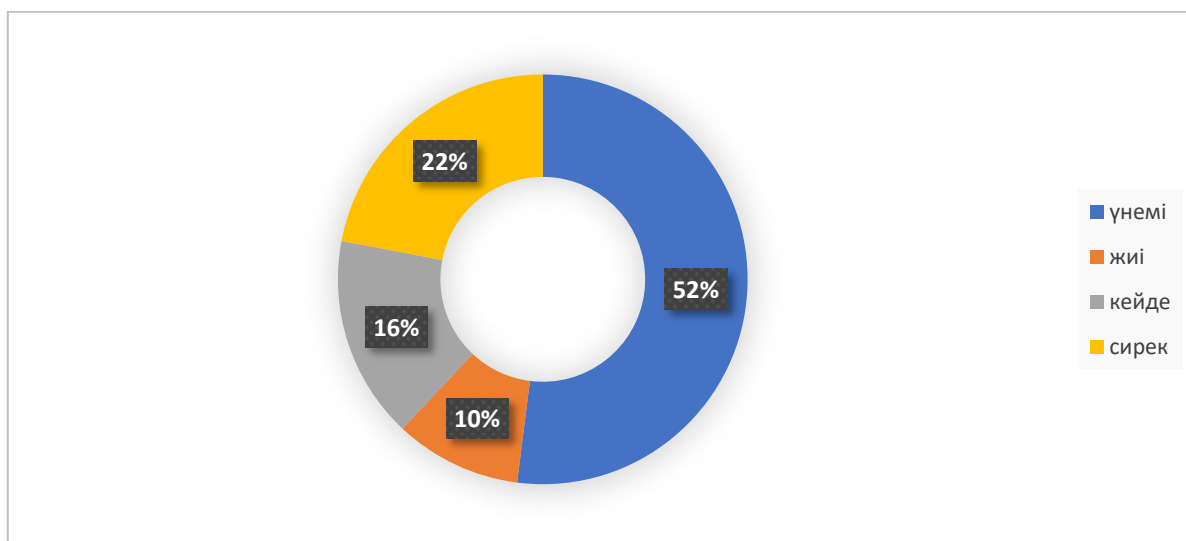


Рис. 5. Частота внимания студентов к составу косметического средства.

Заключение. Поскольку в основе химических добавок, содержащихся в этих продуктах, лежат кислоты, они приводят к эксфолиации поверхности. В результате нарушается защитный барьер кожи, кожа становится слишком чувствительной, становится сухой, появляется риск появления прыщей и даже ожога. И ежедневное употребление продукта с кислотным составом приводит к исчезновению чувствительности к нему и не дает никакого эффекта. Применять кислоты лучше только по совету специалистов-косметологов. А использование целебных трав, содержащих алоэ вера, хлорофилл, оказывает комплексное воздействие на лицо. Они обладают увлажняющими, противовоспалительными, успокаивающими и регенерирующими свойствами, стимулирующими, противоотечными, бактерицидными, ранозаживляющими свойствами для предотвращения серьезных последствий солнечных ожогов чувствительной кожи. Главное, чтобы они не повреждали кожные покровы, а, наоборот, проникали вглубь кожи и доходили до дермы, стимулируя капиллярное кровообращение. При выборе косметических средств по уходу за лицом рекомендуем выбирать средства, которые вместо химических кислот содержат натуральное целебное алоэ вера и хлорофилл.

АНАЛИЗ СПЕКТРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФЛОРЫ ПРИ ПНЕВМОНИЯХ У ОБЕЗЬЯН, СОДЕРЖАЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ

Калашникова В.А., кандидат биологических наук,
ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», г. Сочи, Россия

Введение. В настоящее время пневмонии остаются одними из широко распространенных заболеваний в мире и нередко приводят к летальному исходу. Развитию патологии способствуют многочисленные факторы, в том числе, широкий спектр возбудителей (бактерии, вирусы, хламидии, микоплазмы и др.), которые вызывают пневмонию как самостоятельно, так и в ассоциации с другими микроорганизмами, поэтому некоторые авторы подчеркивают полимикробный характер этого заболевания [3]. В ветеринарной практике проблема пневмоний малоизученна, но весьма актуальна, вследствие

их частой регистрируемости у млекопитающих животных, в том числе и обезьян [1]. Как известно, обезьяны различных видов, составляющие наряду с человеком единый эволюционный отряд приматов, широко используются для экспериментального изучения важнейших проблем медицины и биологии [4, 5]. В последние десятилетия, в связи с резким сокращением популяций обезьян в местах естественного обитания и запретом отлова, основным источником лабораторных приматов стали питомники обезьян. В России – это Адлерский питомник при ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», находящийся в г. Сочи. Обезьяны подвержены почти всем бактериальным, вирусным и паразитарным заболеваниям, которыми болеют люди, некоторые животные и птицы [5]. Согласно данным ветеринарной клиники и патоморфологической лаборатории института, среди обезьян пневмонии регистрируются довольно часто и приводят к гибели животных, особенно детёнышей в возрасте до 1 месяца. При этом она может возникать как первично, в качестве самостоятельного заболевания, так и развиваться в качестве сопутствующей вторичной патологии [4, 5], осложняя течение всего инфекционного процесса.

Цель работы – провести анализ гибели обезьян питомника от пневмоний и определить спектр бактериальных патогенов, как возможных возбудителей заболевания.

Материалы и методы. В период с 2019 по 2021 годы были проведены патолого-анатомические исследования 1045 погибших обезьян разных видов, обитавших в питомнике ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии». Патоморфологический диагноз «пневмония», который являлся главным или сопутствующим, был поставлен у 435 животных. Погибшие от пневмонии обезьяны были 6 родов и 11 видов (табл. 1), в возрасте от 0 дней (новорождённые) до 35 лет (табл. 2).

Таблица 1 – Количество разных видов обезьян, погибших от пневмоний (2019-2021 г.г.)

Вид обезьян	2019 г.		2020 г.		2021 г.		Всего	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
Макак резус	42	26	30	21,7	39	28,9	111	25,5
Макак яванский	42	26	43	31,2	36	26,7	121	27,7
Макак лапундер	6	3,7	9	6,5	2	1,5	17	4
Макак ассамский	2	1,2	0	-	0	-	2	0,5
Мартышка зеленая	5	3	5	3,6	2	1,5	12	2,7
Павиан анупис	19	11,7	8	5,8	16	11,8	43	9,8
Павиан гамадрил	42	26	40	29	37	27,4	119	27,4
Магот	1	0,6	0	-	0	-	1	0,2
Патас	2	1,2	0	-	0	-	2	0,5
Капуцин бурый	1	0,6	1	0,7	3	2,2	5	1,2
Капуцин белоплечий	0	-	2	1,5	0	-	2	0,5
Всего	162	37,3	138	31,7	135	31	435	100

Примечание: Кол-во – количество погибших животных

Материалом для исследования являлись кусочки лёгких, размером 2x2 см, взятые из очага воспаления, которые помещались в стерильную ёмкость и доставлялись в лабораторию. Посев материала осуществляли на стандартные питательные среды (Эндо, Плоскирева, 5% кровяной агар, ЖСА). Выделение и идентификацию микробных культур проводили общепринятыми лабораторными методами с определением морфологических и биохимических свойств.

Таблица 2 – Возрастная структура погибших от пневмоний обезьян

Вид обезьян	Возраст, годы					
	до 1 мес	1мес-1 г	1-3	3-10	10-15	15 и >
	кол-во/%	кол-во/%	кол-во/%	кол-во/%	кол-во/%	кол-во/%
Макак резус	24/13,6	12/24	19/39,6	25/37,3	15/35,7	16/30,8
Макак яванский	57/32,3	12/24	9/18,8	15/22,4	10/23,8	18/34,6
Макак лапундер	5/2,9	1/2	-	5/7,4	3/7,2	3/5,8
Мартышка зеленая	5/2,9	-	1/2,1	2/3	-	4/7,7
Павиан анубис	16/9,1	2/4	5/10,4	8/12	8/19,1	4/7,7
Павиан гамадрил	65/3	22/44	11/22,8	11/16,4	5/12	5/9,6
Другие	4/2,3	1/2	3/6,3	1/1,5	1/2,2	2/3,8
Всего	176/40,5	50/11,5	48/11	67/15,4	42/9,6	52/12

Результаты и их обсуждение. За исследованный период у 41,6% обезьян диагноз «пневмония» поставлен *postmortem*, причём 40,5% среди погибших составили детёныши возрастом до 1 месяца, включая новорождённых. Большинство погибших от пневмоний обезьян были родов макак (макаки резусы, макаки яванские) и павианов (павианы гамадрилы) (табл. 1). В большинстве случаев гибели детёнышей до 1 месяца отмечено у макаков яванских (32,3%), детёнышей до 1 года – у павианов гамадрилов (44%). Наибольший процент гибели от пневмоний у подростков и молодых животных отмечен у макаков резусов (39,6 и 37,3% соответственно). У обезьян старшего возраста и старых животных высок процент гибели от пневмоний также у макаков резусов и макаков яванских (табл. 2).

При бактериологическом исследовании из лёгких обезьян выделено 1015 бактериальных культур, из которых 570 (56,2%) – представители семейства *Enterobacteriaceae*, *P.aeruginosa* выделены в 0,6%. Среди кокковой флоры чаще встречались стафилококки, в частности, *S.aureus* (16,6%), *Staphylococcus spp.* (6,2%). В 14,7% выделены *Enterococcus spp.*, в 0,3% обнаружен *S.pneumoniae*. Также выделены *Bacillus spp.* (0,9%), неидентифицированные грамположительные и грамотрицательные палочки и кокки (4,6%). Среди энтеробактерий чаще высевались *E.coli* и *Proteus spp.* Удельный вес остальных энтеробактерий был невысок (рис. 1). В 6 случаях роста на питательных средах отсутствовал.

Выделенные при пневмониях энтеробактерии рода *Klebsiella* представлены тремя видами – *K.pneumonia*, *K.oxytoca*, *K.ozaenae*. Среди рода *Enterobacter* встречались *E.cloacea*, *E.aerogenes*, *E.gergoviae*, *E.agglomerans*. Бактерии рода *Citrobacter* включали *C.freundii*, *C.diversus*, *C.farmeri*. Род *Providencia* представлен *P.stuartii*, *P.rettgeri*.

Выделенная микрофлора в 13,3% была представлена монокультурами, большинство бактерий входили в состав ассоциаций (86,7%). Монокультуры, выделенные из лёгких, представлены *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *E.coli*, *Proteus spp.*, в редко в качестве единственного патогена обнаружены *Ps.aeruginosa* и *Bacillus spp.*

Микробные ассоциации включали от двух до 6 микроорганизмов. По данным нашего исследования с 2019 по 2021 годы отмечено возрастание числа микробных сочетаний, так в 2019 г. выделено 142 ассоциации, а в 2021 г. – 179. Лидирующее положение заняли двухкомпонентные ассоциации (59,8%). Также встречались трёх-, четырёх-, пятикомпонентные ассоциации (29,8%, 9,1% и 1,2% соответственно). Выявлена одна шестикомпонентная ассоциация (0,3%). Из двухкомпонентных ассоциаций наиболее часто обнаружено сочетание *E.coli+Proteus spp.* (26,9%) и *S.aureus+E.coli* (17,9%), среди трёхкомпонентных – *Staphylococcus spp.+Enterococcus spp.+E.coli* (34,2%) и *Staphylococcus spp.+E.coli+Proteus spp.* (27%). Другие комбинации представлены в единичных случаях. Энтеробактерии, кроме *E.coli* и *Proteus spp.*, входили исключительно в ассоциации.

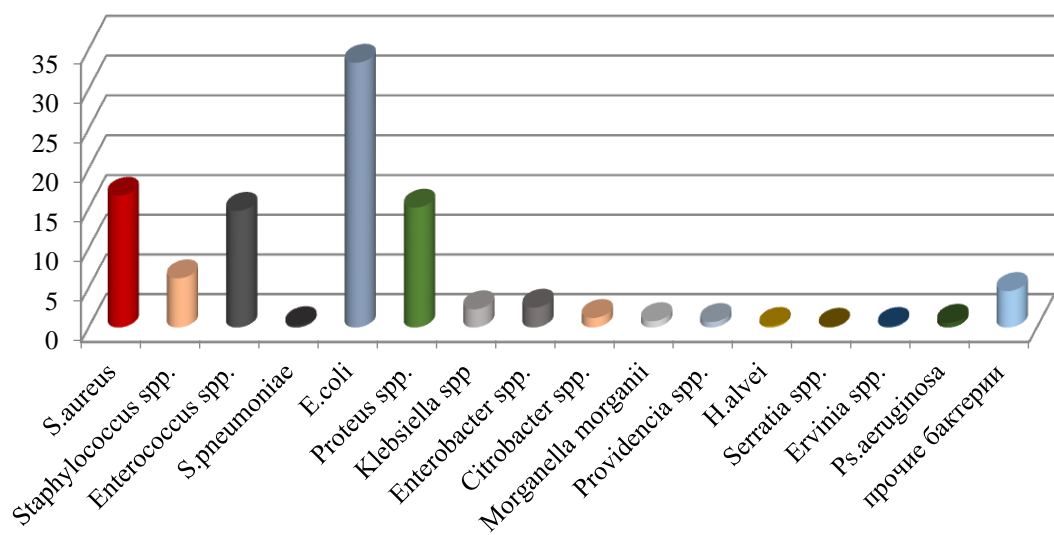


Рис. 1. Структура выделенных бактериальных культур при пневмониях у обезьян.

Заключение. В результате бактериологического исследования лёгких обезьян, погибших от пневмоний, выявлены различные бактериальные патогены и их комбинации. Следует отметить, что по неопубликованным данным лаборатории инфекционной вирусологии ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии» за период 2019 - 2021 г.г. респираторные вирусы при пневмониях у обезьян не выявлены. Согласно проведённым ранее исследованиям *M.pneumoniae* и *S.pneumoniae* могут присутствовать в тканях лёгких обезьян при пневмониях [1]. Данные молекулярно-генетических исследований *S.aureus* позволяют говорить об их высокой патогенности и расценивать их как этиологически значимых возбудителей пневмоний у обезьян [2]. Выделение из лёгочной ткани энтеробактерий скорее свидетельствует о контаминации исследуемого материала postmortem. С другой стороны, необходимо отметить, что практически любой микроорганизм изолированно или в комбинации может привести к развитию пневмонии при ослаблении иммунитета животного, поэтому нельзя недооценивать выделенную микрофлору.

Библиографический список

1. Калашникова В.А., Демерчян А.В. Анализ смертности от пневмонии обезьян, содержащихся в условиях неволи, и место метициллинчувствительного *Staphylococcus aureus* (MSSA) в спектре выделенной микрофлоры // Ветеринария сегодня. 2018. № 3. С. 58-62.
2. Калашникова В.А. Вирулентные характеристики *Staphylococcus aureus*, выделенные при пневмониях у обезьян, живущих в условиях неволи // Лабораторные животные для научных исследований. 2020. № 3. С. 25-33.
3. Коржова Н.В., Белованская М.Н., Войцеховский В.В. Особенности этиологической структуры нозокомиальной пневмонии и спектр чувствительности наиболее распространенных возбудителей у пациентов многопрофильного стационара // Амурский медицинский журнал. 2018. № 4 (24). С. 41-45.
4. Крылова Р. И. Сравнительная характеристика нозологического профиля людей и обезьян разных видов // Лабораторные приматы для решения актуальных проблем медицины и биологии: материалы симпозиума. Москва: Издательство РАМН. 2004. С. 18–21.
5. Проблемы инфекционной патологии обезьян / Лапин Б. А. [и др.]. Москва: Издательство РАМН, 2004. 140 с.

К ВОПРОСУ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ТОКСОКАРОЗА НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Канина И.В.

ФГБОУ ВО «Рязанский Государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации,
г. Рязань, Россия

Введение. Проблема заболеваемости паразитарными инвазиями населения Российской Федерации остаётся наиболее актуальной, особенно в крупных городах [1]. Несмотря на эффективнее профилактические мероприятия, паразитарные болезни продолжают занимать одно из ведущих мест среди инфекционных патологий. Ежегодно на территории разных Федеральных Округов регистрируется более тысячи новых случаев инфицирования. В структуре глистных инвазий ведущую роль занимают тканевые гельминтозы. Токсокароз является одним из наиболее часто регистрируемых геогельминтозов [3]. Интенсивность распространения данной патологии зависит не только от эколого-гельминтологического состояния среды обитания возбудителя, но и от возможности циркуляции нематод среди паретенических хозяев.

Основной целью работы является ретроспективный анализ данных заболеваемости населения токсокарозом за 2009-2020 гг. на территории Российской Федерации. В ходе анализа сравнить абсолютные показатели заболеваемости гельминтозами в Российской Федерации.

Материалы и методы. В ходе работы использовался ретроспективный анализ данных согласно государственным докладам «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации». Для эффективного синтеза данных был выбран период 2010-2020гг. Статистическая обработка материала проводилась в программе Statistica 7.

Результаты и обсуждение. В общей структуре паразитарной заболеваемости, доля геогельминтозов в 2020 году составила 87,5%. В сравнении с показателями 2010 года, доля гельминтозов увеличилась на 10,3%.

За анализируемый период средний многолетний показатель заболеваемости токсокарозом составил 1,86 на 100 тыс. населения ($1,86 \pm 0,11$, $\sigma = 0,36$). Наиболее высокий уровень заболеваемости отмечен в 2011-2012 гг., что связано с изменением климатических условий и превышением среднесуточных показателей температуры воздуха. В 2010, с 2014 по 2016 гг. число случаев не превышало средний многолетний показатель, с вероятностью в 95% число заболеваний за вышеуказанный период значительно не отличается от среднего многолетнего показателя заболеваемости, что отображено в таблице [4].

В период 2016-2019 гг. показатели заболеваемости населения постепенно снижались, в 2020 году составил 0,59 на 100 тыс. населения [4]. Риск инфицирования населения зависит не только от пораженности гельминтами животных, но и от хозяйственно-экономических особенностей территорий, которые значительно влияют на параметры микроклимата, тем самым изменяя сроки развития и выживания в почве яиц токсокар [5].

При оценке частоты встречаемости токсокароза среди населения использовался вариационный ряд показателей заболеваемости в двух возрастных группах: дети до 17 лет и взрослое население (17-55 лет). Сравнение результатов проводилось при помощи коэффициента Пирсона, была выявлена статистическая значимость различий между двумя возрастными группами и показателями заболеваемости в этих группах в течение последних 10 лет ($p=0,000018$, коэффициент корреляции 0,9). Таким образом, корреляционный анализ выявил прямую связь между показателями заболеваемости и возрастом населения, что подтверждается многочисленными данными литературы [2, 3]. Вероятность инвазирования токсокарозом наиболее велика в возрасте до 17 лет, наиболее податливый контингент – дети 4-7 лет. При этом риск заражения населения, в том числе детей, зависит от интенсивности инвазии собак и степени контаминации окружающей среды гельминтами [5].

Таблица 1 – Многолетний показатель заболеваемости населения Российской Федерации токсокарозом

Год	Взрослое население		Дети до 17 лет	
	Количество случаев	Показатель заболеваемости	Количество случаев	Показатель заболеваемости
2020	871	0,59	353	1,17
2019	1800	1,33	678	2,25
2018	1954	1,33	684	2,3
2017	2306	1,57	880	2,96
2016	1414	1,7	942	3,17
2015	1430	1,72	1067	3,59
2014	1829	2,2	1605	5,4
2013	1745	2,1	1457	4,9
2012	3325	2,3	1867	5,7
2011	3325	2,3	1867	5,7
2010	2602	1,8	1670	5,1
Итого:	2069,45±244,03	1,86±0,11	1188,18±166,79	3,84±0,5

Заключение. В настоящее время, санитарно-эпидемиологическая обстановка на территории РФ характеризуется как стабильная, при этом число случаев паразитарных инвазий остаётся на достаточно высоком уровне [4]. Заболеваемость населения токсокарозом считается эпидемиологически значимой, незначительные колебания отмечаются в разные периоды времени и не являются статистически достоверными.

Реальная статистика заболеваемости населения токсокарозом значительно отличается от регистрируемых показателей ввиду трудоемкости диагностики. Увеличение количества собак в городских поселениях, отсутствие эффективных и своевременных методов дезинвазии экскрементов на придомовых территориях, нарушение пищевого поведения у детей раннего возраста приводит к длительной циркуляции инвазионных яиц в окружающей среде и увеличению риска инвазирования населения [4].

Библиографический список

1. Канина И.В., Новак А.И. Эпидемиологические аспекты токсокароза на территории РФ // NEWS OF SCIENCE AND EDUCATION. 2020. № 3. С. 100-104.
2. Беляева Т.В., Антонов М.М. Токсокароз // Новые Санкт-Петербургские Врачебные Ведомости: Всероссийский журнал врача общей практики. 2004. № 2. С. 52-54.
3. Захарова И.Н., Хитинская М.С. Токсокароз у детей // Российский педиатрический журнал. 2001. №6. С. 48-50.
4. «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Российской Федерации в 2010-2020 гг.»: Государственный доклад. М.: Федеральная служба в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. 256 с.
5. Хроменкова Е.П. Санитарно-гельминтологическое обоснование мероприятий по охране окружающей среды как основа профилактики гельминтозов // Автореф. дисс. канд. мед. наук. М., 1992. 16 с.

ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ МИКРОБИОМА КОЖИ ПРИ АУТОИММУННОЙ ПУЗЫРЧАТКЕ

Колесова Ю.В.¹; Теплюк Н.П., профессор, доктор медицинских наук¹;
Тошакое С.В., кандидат биологических наук²; Варганова Н.О., кандидат
биологических наук³; Леонова А.Ю.³

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет);

²НИЦ «Курчатовский институт»;

³ФГБНУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, г. Москва, Россия

Введение. Кожа – самый большой орган человеческого организма, площадь которого в среднем составляет 1,5-2 м², и представляет собой биологический барьер между организмом человека и окружающей средой. Также кожа является сложной экосистемой, находящейся в тесном взаимодействии с колонизирующими ее поверхность разнообразными микроорганизмами, включающими бактерии, грибы, вирусы и др. [3, 5, 6]. Анатомические особенности различных участков кожи (наличие и/или преобладанием сальных или потовых желез) обеспечивают родовую и видовую специфичность населяющих ее микроорганизмов [1, 3, 6]. Помимо этого на состав микрофлоры кожи влияет также пол и возраст человека, место жительства, вид деятельности, наличие сопутствующих заболеваний других органов и систем. Микроорганизмы, заселяющие кожу, всегда были под пристальным вниманием специалистов в области дерматологии. Детальное изучение состава микрофлоры поверхности кожи, особенности их колонизации, а также влияние на физиологические функции кожи позволило оценить роль этих микроорганизмов в развитии различных дерматозов [1, 3, 6]. Использование стандартных микробиологических методик (посев на питательные среды и микроскопия), а также высокотехнологичного метода геномного секвенирования позволили подробно проанализировать качественный и количественный состав микрофлоры всех участков кожи человека [2, 5]. Благодаря этому удалось установить принципы взаимодействия между микроорганизмами и факторами макроорганизма, обуславливающими врожденный и приобретенный иммунный ответ в коже в норме и при различных кожных заболеваниях. Таким образом удалось расширить понимание о патогенезе таких сложных и порой тяжело протекающих дерматозов, как атопический дерматит, себорейный дерматит, акне, розацеа и др. [1, 3]. Аутоиммунная пузырчатка представляет собой группу жизнеугрожающих хронических буллезных дерматозов, клинически проявляющихся образованием пузырей на видимо неизменной коже и слизистых оболочках [2]. При отсутствии лечения поражается до 80% общей площади кожных покровов, ухудшение состояния больного сопровождается выраженными симптомами интоксикации и присоединением вторичных инфекций. В терминальной стадии возможно развитие атипично протекающей пневмонии, ДВС-синдрома (диссеминированное внутрисосудистое свёртывание), а также отек мозга и легких [2]. После начала использования системных глюкокортикостероидов в начале 1950-х годов смертность среди пациентов с пузырчаткой резко снизилась с 75% до 30%, а последующее адъювантное использование иммунодепрессантов в 1980-х годах способствовало дальнейшему снижению смертности от самого заболевания до менее, чем 5% в исследуемых популяциях [2]. Однако несмотря на достигнутый прогресс в лечении, инфекционные осложнения, среди которых наиболее частыми являются пневмония и сепсис, остаются ведущей причиной летального исхода данного заболевания [2]. По мере развития клинической картины той или иной формы заболевания создаются условия для присоединения вторичной инфекции, которая вызывает ухудшение общего состояния пациентов и утяжеление кожного процесса. При этом у пациентов с пузырчаткой нарушается естественный баланс микробиома кожи и слизистой оболочки полости рта, что влияет на тяжесть течения и исход заболевания [7]. Изменения микробиома кожи и слизистых могут являться триггерными факторами для развития

сепсиса, что также свидетельствует о необходимости проведения глубокого анализа микробиома кожи и слизистой полости рта для назначения адекватной терапии [2,7]. Существуют данные исследований по изучению микробиома кожи у больных аутоиммунной пузырчаткой и другими буллезными дерматозами. По результатам этих работы можно сделать вывод о высоком видовом разнообразии микрофлоры и значительном различии состава и численности микроорганизмов у здоровых людей и пациентов с пузырчаткой [7]. Особый интерес представляет высокая относительная численность рода *Staphylococcus* (*S. aureus* и *S. epidermidis*) у пациентов с аутоиммунной пузырчаткой [7]. Более того, по сравнению с группой контроля, было обнаружено значительное снижение численности бактерий типа *Bacteroidetes* на слизистой оболочке полости рта [7]. Эти результаты позволяют предположить возможную роль данных микроорганизмов в патогенезе буллезных дерматозов. Сообщается, что у этих пациентов имеет место вторичная инфекция кожи, вызванная колонизацией *S. aureus* [7]. Установить первичное звено в этой патогенетической цепочке на данном этапе достаточно сложно, поскольку наличие зуда у таких пациентов также может способствовать увеличению численности *S. aureus* в местах повреждения кожи [7]. Также отмечается, что дисбиоз, связанный со значительным сокращением *Bacteroidetes* в полости рта у больных вульгарной пузырчаткой, может быть связан с типичным клиническим проявлением - неприятным запахом изо рта, наблюдаемым у этих пациентов [7]. Однако достаточно редкая встречаемость заболевания и малый объем выборки во всех представленных в литературе исследованиях, требуют продолжения более детального изучения состава микрофлоры кожи у пациентов с аутоиммунной пузырчаткой.

Материалы и методы. В исследование включено 13 пациентов с диагнозом «Вульгарная пузырчатка» (подтвержденным гистологически), поступивших на лечение в клинику кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова с октября 2021г. по март 2022 г. Количество женщин составило 9 человек (средний возраст 53,7 лет), мужчин - 4 человека (средний возраст - 61 год). Все пациенты подписали информированное согласие. Мазки с кожи (с элементов сыпи и с видимо неповрежденной кожи) были взяты с помощью стерильного ватного тампона, затем помещены в транспортную питательную среду и в течение часа доставлены в микробиологическую лабораторию. Компоненты микрофлоры были изучены культуральным методом.

Результаты и их обсуждение. В ходе анализа полученных данных о компонентах микробиома кожи у пациентов с пузырчаткой было выявлено, что наиболее часто встречающийся микроорганизм, высеиваемый с элементов сыпи - *S. aureus* (у 7 из 13 пациентов - 53,8%). Также на элементах сыпи были обнаружены *S. epidermidis* (у 3 из 13 - 23%) и *Corinebacterium* (у 2 из 13 - 15,4%). С участков видимо неизменной кожи чаще всего выявлялся *S. epidermidis* (у 7 из 13 - 53,8%), *S. aureus* у 5 из 13 (38,5%), *S. hominis* - у 3 из 13 (23%). Полученные данные соответствуют данным литературы. Планируется продолжить исследование с большим числом пациентов и сравнение полученных данных со здоровой группой контроля.

Заключение. Несмотря на достигнутый прогресс в терапии аутоиммунной пузырчатки, часто приходится наблюдать пациентов с крайне тяжелым течением заболевания, обусловленным активизацией микрофлоры в очагах поражения кожи. Таким образом, изучение микробного состава кожи у больных аутоиммунной пузырчаткой представляет особый интерес как перспектива изучения патогенеза заболевания и применения дополнительных методов лечения для стабилизации кожного процесса и продления периодов ремиссии.

Библиографический список

1. Аравийская Е.Р. Микробиом: новая эра в изучении здоровой и патологически измененной кожи. Вестник дерматологии и венерологии, 2016.
2. Махнева Н.В., Теплюк Н.П. Аутоиммунная пузырчатка, 2016.

3. Силина Л.В. Структура, функции и значение микробиома кожи в норме и при патологических состояниях. РМЖ. 2018.
4. Chen E. Skin microbiota–host interactions. Nature. 2018.
5. Kazuhiro Ogai. A Comparison of Techniques for Collecting Skin Microbiome Samples: Swabbing Versus Tape-Stripping. Front. Microbiol. 2019.
6. Kapitány A. Regional Differences in the Permeability Barrier of the Skin—Implications in Acantholytic Skin Diseases. International Journal of Molecular Sciences. 2021.
7. Scaglione G. L. Evaluation of cutaneous, oral and intestinal microbiota in patients affected by pemphigus and bullous pemphigoid: A pilot study. Experimental and Molecular Pathology, 2019.

НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ОТ COVID-19

Коробова А. А. кандидат медицинских наук, **Чуприна Л.А.**, кандидат медицинских наук, **Абрамова К. И.**, **Капитанова Л. Э.**

Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского»

ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Введение. По мере того, как все больше пациентов вакцинируются против коронавирусной инфекции (COVID-19), неврологи сталкиваются с вопросами о потенциальных неврологических осложнениях, преимуществах и сроках вакцинации.

Материалы и методы. В качестве материалов служили англоязычные статьи наукометрической базы PubMed, в качестве методов – анализ и синтез имеющихся данных.

Результаты и их обсуждение. Для вакцин против COVID-19 были изучены четыре основных механизма: вакцины на основе ДНК, вакцины на основе мРНК, вакцины на основе белков и инактивированный вирус. Вакцины на основе ДНК: вводят непосредственно ДНК, кодирующую шиповидный белок SARS-CoV-2 с помощью вирусных векторов. Вакцины с мРНК: через липидные наночастицы. Белковые вакцины основаны на S-белке или его фрагментах. Также несколько вакцин основаны на инактивированном вирусе SARS-CoV-2. Обеспокоенность по поводу неврологических осложнений от вакцин против COVID-19 усилилась осенью 2020 года, когда были опубликованы статьи о 2 пациентах, у которых развился поперечный миелит после введения вакцины. В конечном итоге было сочтено маловероятным, что один случай связан с вакцинацией (у пациента уже был рассеянный склероз), тогда как другой случай был определен как возможно связанный. Данные клинических испытаний мРНК-вакцины показали, что в 7 случаях из 37 000 реципиентов вакцины развился паралич Белла, и ни у одного из них не развился синдром Гийена-Барре (СГБ) [1]. Наиболее частые неврологические симптомы COVID-19 включают головокружение, головную боль, боль, мышечные спазмы, миалгию и парестезии и аносмию. Редкие неврологические побочные эффекты: инсульт, миокардит, паралич Белла, острый диссеминированный энцефаломиелит. Обонятельная дисфункция согласно ВОЗ является симптомом COVID-19 с распространенностью от 70% до 90%. Было предложено несколько патофизиологических механизмов: закупорка обонятельной щели; инфицирование

поддерживающих клеток, экспрессирующих ангиотензинпревращающий фермент 2 (АПФ-2); повреждение обонятельных сенсорных клеток через рецептор нейропилина-1 (NRP1); повреждение обонятельной луковицы. Потеря обоняния связана главным образом с повреждением обонятельного нейроэпителия. Два из вышеупомянутых механизмов связаны со связыванием вирусных шипов с клетками обонятельного эпителия. Вирусные белки, в основном шиповидные, вызывают повреждение тканей без активной репликации вируса. Поскольку недавно разработанные вакцины на основе матричной РНК (мРНК) против COVID-19 кодируют или несут шиповидный белок, возможно, что иммунный ответ или сам шиповидный белок может вызывать повреждение обонятельного эпителия [2]. Были представлены случаи нарушения обоняния после вакцинации против COVID-19. У обоих пациентов развилась гипосмия после второй дозы вакцины Comirnaty (Pfizer-BioNTech BNT162b2). Это были здоровые женщины, некурящие, у них не было в анамнезе болезней дыхательных путей. У пациентов развилась гипосмия через 5 дней после введения второй дозы вакцины. Серологические тесты иммуноферментного анализа (ИФА) не выявили признаков недавней инфекции, поскольку иммуноглобулин М (IgM) не был обнаружен. У некоторых пациентов была положительная серологическая реакция на нуклеокапсидный белок-иммуноглобулин G (N-IgG) и шиповидный белок-иммуноглобулин G (S-IgG), также были и положительные реакции только на S-IgG. Назальная эндоскопия не выявила признаков воспаления носа и показала открытые обонятельные щели в обоих случаях [3]. Вакцина Comirnaty вызывает клеточный иммунный ответ против шиповидного белка. Эта реакция оказывается слабой после первой дозы вакцины и более сильной после второй. 5-спайковый белок локально взаимодействует с альфа-7 никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (nAChR), нарушая регуляцию воспалительного рефлекса. Согласно этой гипотезе, шиповидный белок при локальной экспрессии после вакцинации может взаимодействовать с nAChR в макрофагах. Нарушение регуляции холинергического пути может впоследствии вызвать высвобождение провоспалительных цитокинов, в то время как дополнительные сигналы могут передаваться по нервным путям от локального места инъекции к отдаленному. В одном из исследований сообщалось, что уменьшение объема обонятельной луковицы у пациентов с постинфекционной потерей обоняния может быть связано с тяжестью симптомов и продолжительностью потери обоняния. обструкции, а на компьютерной томографии и МРТ была обнаружена двусторонняя воспалительная обструкция обонятельных щелей полости носа [4]. Недавнее исследование, проведенное в Китае, показало, что антитела против SARS-CoV-2 могут быть обнаружены на средней и поздней стадиях заболевания. Следовательно, хотя ПЦР тест в настоящее время остается стандартным диагностическим инструментом для COVID-19, серологическое тестирование может служить дополнительным инструментом, и оба результата тестирования должны интерпретироваться одновременно [5]. Кроме того, было обнаружено, что появление сывороточных антител к SARS-CoV-2, является маркером выздоровления. В одном из исследований проанализировали частоту неврологических проявлений у 214 пациентов с COVID-19, выявив anosmia у 11 (5,1%) пациентов и ageusia у 12 (5,6%). Интересно, что у пациентов с COVID-19 ageusia и anosmia не сопровождаются заложенностью носа или другими симптомами ринита. Следовательно, это, связано с прямым поражением вирусом обонятельных и вкусовых рецепторов. Предыдущие исследования показали, что объем

обонятельной луковицы и глубина борозды уменьшились у пациентов с постинфекционной потерей обоняния. Анализ головного мозга выявил значительную потерю объема серого вещества в правой орбитофронтальной коре (ОФК). Дальнейший анализ показал значительную отрицательную корреляцию между объемом серого вещества в правой ОФК, а также объемом ОЖ и продолжительностью потери обоняния у этих пациентов ($r = -0,566$ и $r = -0,535$, оба $P < 0,05$ соответственно) [6]. Внутримозговое или субарахноидальное кровоизлияние наблюдалось у нескольких лиц, получивших мРНК-вакцину BNT162b2 COVID-19. Во многих исследованиях японских ученых говорится о том, что все чаще стали регистрироваться смерти от внутримозгового или субарахноидального кровоизлияния после вакцинации BNT162b2, чаще женщины. Посмертная визуализация у одной из женщин показала гематому в левом мостомозжечковом углу, сдавливающую ствол мозга с субарахноидальным кровоизлиянием. Частота смерти от внутримозгового или субарахноидального кровоизлияния у женщин, получивших вакцину, непропорционально высока, что позволяет предположить, что неврологические побочные эффекты могут быть связаны с мРНК COVID-19. Инфекция SARS-CoV-2 была связана с разрывами церебральной артериовенозной мальформации (ЦАМ), вызванными повреждением сосудов и кровоизлиянием в мозг. Например, у трех школьников мужского пола после заражения COVID-19 развилось резкое неврологическое ухудшение из-за разрывов ЦАМ, что указывает на связь между вирусной инфекцией и разрывами АВМ. В частности, воспалительные реакции могут изменить гемодинамические характеристики ЦАМ [7]. Было обнаружено, что COVID-19 вызывает цитокиновый шторм с увеличением концентрации в крови IL-1 β , IL-6 и TNF- α , тем самым усиливая системное воспаление и приводя к повреждению сосудов. Хотя кровоизлияния в мозг после вакцинации у пациентов могло быть случайным, считается, что усиленное системное воспаление является патогенным механизмом, прямо связанным с аномальным повреждением сосудов, вызванным вакциной. Прямое повреждение эндотелия, вызванное вакциной против COVID-19, может привести к развитию васкулита, тогда как воспаление и ремоделирование внеклеточного матрикса после вакцинации могут привести к росту и разрыву ЦАМ. Согласно рекомендациям ВОЗ, лица у которых развились осложнения после введения первой дозы вакцины на основе аденовирусного вектора, не должны получать вторую дозу, тем самым избегая повторного воздействия возбудителя. Вакцины против COVID-19 на основе аденовирусного вектора и другие вакцины противопоказаны пациентам с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией в анамнезе и пациентам с большими венозными или артериальными тромбозами, сопровождающимися тромбоцитопенией. Точно так же вторая доза мРНК-вакцины противопоказана лицам с геморрагическим инсультом в анамнезе [8]. После вакцинации людей следует проинформировать о том, что у них могут возникнуть неврологические симптомы, и что в этом случае им следует немедленно обратиться в отделение неотложной помощи.

Заключение. На сегодняшний день инфекция SARS-CoV-2 стала причиной более 4 миллионов смертей во всем мире, часто из-за чрезмерного или аномального иммунного ответа хозяина. Хотя преимущества вакцинации перевешивают риски, вакцинация неизбежно осложняется нечастыми иммуноопосредованными побочными эффектами, поскольку провоспалительные стимулы могут подвергать людей развитию неадекватных иммунных реакций. Вакцинация может активировать аномальные врожденные и

приобретенные иммунные реакции, что приводит к инфекционным каскадам. Активация системных иммунных путей у конкретных людей может играть роль в развитии разрыва ЦАМ.

Библиографический список

1. Ghorbani M., Lafta G., Rahbarian F. COVID-19 outbreak as a probable cause of increased risk of intracranial rebleeding in partially treated cerebral arteriovenous malformations. *Clin. Case Rep.* 2021;9:e04893. doi:10.1002/ccr3.4893.
2. Moein ST, Hashemian SM, Tabarsi P, et al. : Prevalence and reversibility of smell dysfunction measured psychophysically in a cohort of COVID-19 patients. *Int Forum Allergy Rhinol* 2020;10(10):1127–1135. doi:10.1002/alr.22680.
3. Alghamdi A.N., Alotaibi M.I., Alqahtani A.S., Al Aboud D., Abdel-Moneim A.S. BNT162b2 and ChAdOx1 SARS-CoV-2 Post-vaccination Side-Effects Among Saudi Vaccinees. *Front. Med.* 2021;8:760047. doi:10.3389/fmed.2021.760047.
4. Nouchi A, Chastang J, Miyara M, et al. : Prevalence of hyposmia and hypogeusia in 390 COVID-19 hospitalized patients and outpatients: a cross-sectional study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020. doi:10.1007/s10096-020-04056-7.
5. Goss A.L., Samudralwar R.D., Das R.R., Nath A. ANA investigates: Neurological complications of COVID-19 vaccines. *Ann. Neurol.* 2021;89:856. doi:10.1002/ana.26065.
6. Ghorbani M., Lafta G., Rahbarian F. COVID-19 outbreak as a probable cause of increased risk of intracranial rebleeding in partially treated cerebral arteriovenous malformations. *Clin. Case Rep.* 2021;9:e04893. doi:10.1002/ccr3.4893.
7. Bozkurt B., Kamat I., Hotez P.J. Myocarditis with COVID-19 mRNA vaccines. *Circulation.* 2021;144:471–484. doi:10.1161.
8. Byoung H. K., Myung C. Y. Intracranial Hemorrhage Due to Potential Rupture of an Arteriovenous Malformation after BNT162b2 COVID-19 mRNA Vaccination in a Young Korean Woman: Case Report. *Vaccines (Basel).* 2022 Mar;10(3):362. doi:10.3390/vaccines10030362.

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СОКА И МАСЛА MELISSA OFFICINALIS L.

Лящук Ю.О., кандидат технических наук¹

Новак А.И., доцент, доктор биологических наук²

¹ФГБНУ Федеральный научный агроинженерный центр «ВИМ», г. Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия

Введение. Одной из актуальных проблем практической медицины является лекарственная устойчивость микроорганизмов. В последние десятилетия отмечается увеличение числа микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам [3].

Также отмечается учащение случаев дисбактериозов, являющихся результатом подавления роста нормальной микрофлоры антибиотиками широкого спектра действия, что по некоторым оценкам приводит к росту числа микозов, в частности кандидозов и других заболеваний, вызванных дрожжеподобными грибами [2].

В связи с чем, в последние годы возрос интерес к препаратам из эфирномасличных растений, поскольку (в отличие от антибиотиков) эфирные масла сочетают бактерицидный эффект с фунгистатической активностью [2, 3].

Melissa officinalis L. является представительницей семейства губоцветных и является многолетним травянистым растением, которое живет не менее трех лет. Кустистые, прямостоячие побеги Melissa достигают в высоты около 1 м. Мягкие, опушенные листья длиной от 2 до 8 см имеют сердцевидную форму с зубчатой окаёмкой, поверхность листа покрыта глубокими прожилками. Летом распускаются белые или бледно-розовые цветки, состоящие из 4-12 небольших соцветий. В англоязычных источниках Melissa часто называют лимонным бальзамом (lemon balm) из-за её лимонного вкуса и аромата.

Melissa officinalis L. – является пряно-вкусовой культурой и представляет один из видов лекарственных растений, выращиваемых в основном в естественных условиях среды (особенно в средиземноморских регионах), произрастает в южной Европе и северной Африке, а также на востоке (вплоть до Кавказа и северного Ирана). В масле Melissa обнаружено более двухсот биологически активных соединений, однако лишь двадцать три из них встречаются в значительных количествах. Основными компонентами эфирного масла Melissa являются цитронеллаль, β-кариофиллен, нераль, гераниол и геранилацетат [1].

Материалы и методы. Объект исследования – бактерицидная активность сока и масла *Melissa officinalis* L.

Исследования проводились на средах четырёх бактериальных культур: *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

В процессе проведения работы использовались методы термической и ультрафиолетовой дезинфекции, методы экстракции, хроматографии, спектрометрии и фотометрии.

Результаты и их обсуждение. Эфирное масло Melissa получают методом дистилляции паром с выходом от 0,01 % до 0,04%. В связи с чем, натуральное масло Melissa является очень дорогим и его часто фальсифицируют различными способами. По оценкам экспертов [1] среднегодовой объём мирового производства натурального эфирного масла Melissa колеблется в диапазоне всего лишь от 3 кг до 9 кг (в зависимости от урожайности и спроса), остальное является суррогатом.

В связи с тем, что объёмы фальсификата превышают объёмы выпуска натурального масла Melissa почти в 4 раза [1], и этот уровень продолжает расти, то «Food and Agriculture Organization of the United Nations» (UNFAO) разработала нормативы, определяющие свойства натурального эфирного масла *Melissa officinalis* L. (таблица 1).

Таблица 1 – Нормативы содержания основных биологически активных компонентов в составе натурального эфирного масла *Melissa officinalis* L. по стандартам UNFAO [4]

Компоненты эфирного масла Melissa	Массовая доля (не менее), %
Гермакрен D	10,0
Гераниаль	10,0
Гераниол	5,0
Нераль	5,0
β-кариофиллен	5,0
Кариофилленоксид	5,0
Цитронеллаль	4,0
Цитронеллол	2,0
Нерол	1,0
Метилгераниат	0,5
Линалоол	0,5
Геранилацетат	0,5

*содержание розмариновой кислоты в натуральном эфирном масле должно составлять не менее 3,5 мг/г эфирного масла

Как видно из таблицы 1, в стандартах UNFAO указаны минимальные нормативные показатели основных компонентов эфирного масла мелиссы, в то время как реальный химический состав эфирного масла *Melissa officinalis* L. гораздо богаче по содержанию биологически активных веществ и варьируется в зависимости от региона произрастания, сортовой принадлежности растения, условий сбора и обработки эфирномасличного сырья, а также способов получения экстрактов и масел.

Для исследования бактерицидной активности нами были подготовлены три варианта препаратов мелиссы (рис. 1):

1 – сок мелиссы, полученный из свежего растительного сырья после его термической обработки (К);

2 – сок мелиссы, полученный из свежего растительного сырья после его ультрафиолетовой обработки (Уф);

3 – масло мелиссы, полученное методом дистилляции паром (М).



Рис. 1. Экспериментальные препараты мелиссы.

Количественный состав биологически активных веществ экспериментальных препаратов мелиссы представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Количественный состав основных биологически активных компонентов экспериментальных препаратов *Melissa officinalis* L.

Биологически активные компоненты препаратов мелиссы	Массовая доля, %		
	Сок мелиссы (К)	Сок мелиссы (УФ)	Масло мелиссы (М)
Гермакрен D	3,51	4,29	16,85
Гераниаль	7,45	8,21	10,38
Гераниол	3,07	3,81	6,29
Нераль	2,78	3,63	6,00
β -кариофиллен	9,62	10,26	16,78
Кариофилленоксид	2,03	2,49	6,09
Цитронеллаль	3,72	4,03	8,07
Цитронеллол	0,21	0,33	0,79
Нерол	0,46	0,68	1,26
Метилгераниат	0,23	0,58	0,85
Линалоол	0,18	0,31	0,54
Геранилацетат	0,27	0,42	0,95
δ -кадинен	0,42	0,54	3,55
α -кадинол	1,19	1,67	4,05

Как видно из таблицы, способ получения препарата существенно влияет на количественное соотношение биологически активных веществ.

Наглядно распределение количественных соотношений основных биологически активных компонентов экспериментальных препаратов мяты показано на рисунке 2.



Рис. 2. Диаграмма распределения количественных соотношений основных биологически активных компонентов экспериментальных препаратов *Melissa officinalis* L.

Как показывает анализ данных, основными компонентами препаратов мяты являются: гермакрен D, гераниаль, гераниол, нераль, β-кариофиллен, кариофилленоксид и цитронеллаль. При этом наибольшая доля этих компонентов содержится в эфирном масле *Melissa officinalis* L., в соках мяты их концентрация меньше.

Можно отметить тенденцию, что в соке мяты, полученном из свежего растительного сырья после ультрафиолетовой обработки, концентрация фенольных соединений немного выше, чем в соке мяты, полученном из свежего растительного сырья после тепловой обработки, несмотря на максимально щадящий режим последней. Из чего можно сделать вывод, что ультрафиолетовое обеззараживание растительного сырья мягче воздействует на биологически активные компоненты мяты, позволяя сохранить их в более высокой концентрации (табл. 3).

Таблица 3 – Содержание биологически активных компонентов в экспериментальных препаратах *Melissa officinalis* L.

Препараты <i>Melissa officinalis</i> L.	Концентрация фенольных соединений, мг/100г	Концентрация розмариновой кислоты, мг/100 г
Сок мяты (К)	869,18	362,61
Сок мяты (УФ)	914,32	381,44
Масло мяты (М)	2560,10	876,31

Также важное бактерицидное значение имеют розмариновая и кофейная кислота. Содержание розмариновой кислоты в натуральном эфирном масле Melissa officinalis L. должно составлять не менее 3,5 мг/г эфирного масла [4].

Фармакологическая активность препаратов Melissa officinalis L. основана как на биологических свойствах отдельных компонентов, так и на их комплексном действии в составе препарата.

Нами были проведены исследования бактерицидной активности экспериментальных препаратов Melissa officinalis L. на четырёх бактериальных культурах: Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Escherichia coli и Staphylococcus aureus.

Результаты исследований представлены на рисунке 3 и в таблице 4.

Как показал анализ данных, существенная бактерицидная активность экспериментальных препаратов была проявлена в отношении Pseudomonas aeruginosa и Candida albicans, при этом наибольший подавляющий эффект наблюдался у масла Melissa officinalis L.

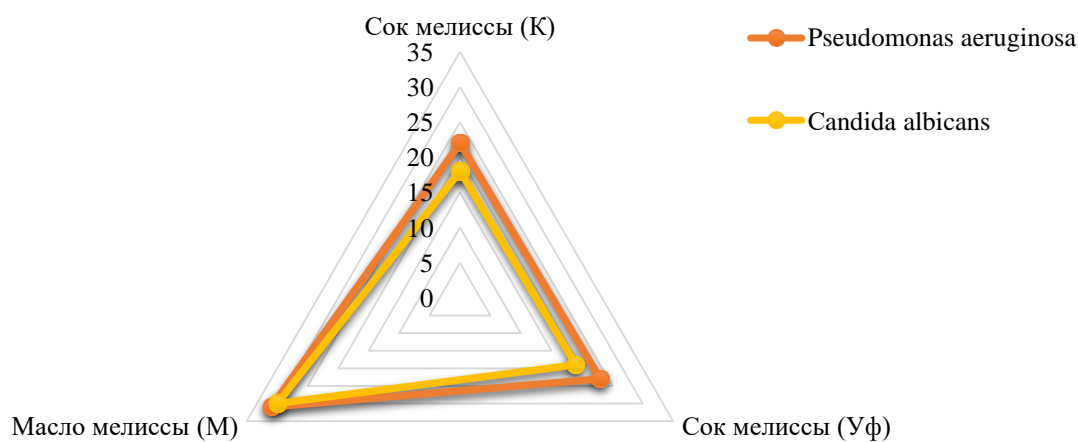


Рис. 3. Бактерицидная активность экспериментальных препаратов Melissa officinalis L.

Таблица 4 – Бактерицидная активность экспериментальных препаратов Melissa officinalis L.

Препараты Melissa officinalis L.	Диаметр зоны бактерицидного воздействия (d, мм)			
	Pseudomonas aeruginosa	Candida albicans	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
Сок Melissa officinalis L. (К)	22±3	18±2	только под цилиндром	только под цилиндром
Сок Melissa officinalis L. (УФ)	23±1	19±2		
Масло Melissa officinalis L. (М)	31 ±2	30±2		

Как видно из таблицы, сок Melissa officinalis L., полученный из свежего растительного сырья после ультрафиолетовой обработки, обладает чуть более высокой бактерицидной активностью по сравнению с соком Melissa officinalis L., полученным из свежего растительного сырья после его термической обработки.

Заключение. Проведённая экспериментальная работа позволяет сделать выводы, что основными компонентами препаратов Melissa officinalis L. являются: гермакрен D, гераниаль, гераниол, нераль, β-кариофиллен, кариофилленоксид и цитронеллаль. При этом наибольшая доля этих компонентов содержится в эфирном масле Melissa officinalis L., в соках Melissa officinalis L. их концентрация меньше. Можно отметить тенденцию, что в соке Melissa officinalis L., полученном из

свежего растительного сырья после его ультрафиолетовой обработки, концентрация фенольных соединений немного выше, чем в соке Melissa officinalis, полученном из свежего растительного сырья после его термической обработки, несмотря на максимально щадящий режим последней. Из чего можно сделать вывод, что ультрафиолетовое обеззараживание растительного сырья мягче воздействует на биологически активные компоненты Melissa officinalis, позволяя сохранить их в более высокой концентрации.

Существенная бактерицидная активность экспериментальных препаратов была проявлена в отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*, при этом наибольший подавляющий эффект наблюдался у масла Melissa officinalis. Сок Melissa officinalis, полученный из свежего растительного сырья после его ультрафиолетовой обработки, обладает более высокой бактерицидной активностью по сравнению с соком Melissa officinalis, полученным из свежего растительного сырья после его термической обработки.

Таким образом, для изготовления лекарственных средств и лечебно-профилактических продуктов питания наибольший интерес представляют масло и сок Melissa officinalis, полученный из свежего растительного сырья после ультрафиолетовой обработки, поскольку он обладает более богатым содержанием биологически активных веществ и более активным бактерицидным действием.

Библиографический список

1. Mafakheri S., Hajivand Sh., Zarrabi M.M. & Arvane A. (2016) Effect of Bio and Chemical Fertilizers on the Essential Oil Content and Constituents of *Melissa officinalis* (Lemon Balm), *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 19:5, 1277-1285, DOI:10.1080/0972060X.2014.983995 [Электронный ресурс]: режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2014.983995>
2. Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur N.A., Echard B.W., Bagchi D., Preuss H.G. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans* // *Molecular and Cellular biochemistry*. 2021. № 228. P. 111-117.
3. Obaidat M.M., Frank J.F. Inactivation of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on sliced and whole tomatoes by allyl isothiocyanate, carvacrol, and cinnamaldehyde in vapor phase // *Journal of Food Protection*. 2019. № 72 (2). P. 315-324.
4. Официальный сайт «Food and Agriculture Organization of the United Nations» [Электронный ресурс]: режим доступа: <https://www.fao.org/home/en>.

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ КАК СКРИНИНГОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ У ЧЕЛОВЕКА

Метельская В.А., кандидат биологических наук; Гречишников О.Г., кандидат биологических наук

**ФБУН «Московский научно-исследовательский институт им. Г.Н. Габричевского»,
г. Москва, Россия**

Введение. Гельминтозы составляют самую большую группу паразитарных заболеваний, поэтому актуальность ранней диагностики глистной инвазии напрямую связана с их широкой распространенностью, многообразием негативных воздействий на организм человека и выраженным полиморфизмом клинических проявлений. В современном мире пораженность населения гельминтозами крайне высока. Только инфицирование

паразитическими червями органов пищеварения, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), наблюдается у четверти населения земного шара [1]. В некоторых регионах Африки заболеваемость людей достигает 50% и выше, характерны полиинвазии. На территории Российской Федерации зарегистрировано более 70 видов гельминтов, ежегодно заболевают более 1,5 млн человек, большая часть из них – дети [2]. Иммуноферментный анализ (ИФА) — один из наиболее точных способов диагностики гельминтозов, который позволяет не только выявить заболевание, но и определить вид возбудителя по наличию к нему специфических антител. [3]. В основе метода — поиск специфических белков — иммуноглобулинов класса G (IgG) в крови, которые иммунная система вырабатывает для борьбы с гельминтами. Как правило, антитела обнаруживаются через 2–4 недели с момента заражения. Так как результат иммуноферментного анализа менее зависим от количества возбудителя, он обладает некоторыми преимуществами перед анализом кала. Однако положительный результат на наличие антител не позволяет судить об эффективности лечения, локализации паразита и тяжести поражения. Тем не менее, результаты серологического анализа крови позволяют диагностировать гельминтозы на ранних стадиях и начать своевременную терапию до появления осложнений.

Цель исследования: выявить количество пациентов, прошедших обследование в КДЦ при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского в 2021 году, с IgG - антителами к некоторым видам гельминтов в сыворотке крови и проанализировать видовую структуру гельминтозов за выделенный период. Провести сравнительную характеристику заболеваемости в отношении данной патологии по полу и возрасту.

Материалы и методы. Методом ИФА определяли наличие IgG - антител к токсокарам, описторхам, трихинеллам и эхинококкам в сыворотках крови пациентов на тест-системах производства ЗАО «Вектор-Бест». Провели анализ видовой структуры обнаруженных IgG - антител к гельминтам. В положительных пробах провели сравнительный анализ заболеваемости гельминтозами по полу и возрасту среди детей (0-17 лет) и взрослых (18 и более лет).

Результаты и их обсуждение. Исследовано 1422 пробы (887 – от лиц женского и 535 – от лиц мужского пола) сывороток крови к отдельным видам гельминтов, из них только у 6,9% пациентов (n=98) были выявлены IgG – антитела: к эхинококкам – у 53,1% (n=52), к токсокарам - у 37,8% (n=37), к описторхам у 7,1% (n=7) и к трихинеллам у 2,0% (n=2).

В группе взрослых исследовано 1128 сывороток, из них положительными оказались 7,5% (n=85) проб. Отмечено, что антитела чаще обнаруживались у женщин – 55,3% (n=47), из них у 55,3% (n=26) были диагностированы антитела к эхинококку, у 38,3% (n=18) – к токсокарам, у 6,4% (n=3) – к описторхам. IgG – антител к трихинеллам обнаружено не было. Среди мужчин (n=38), которые составили 44,7% от всего числа взрослых с антителами, также чаще встречались IgG - антитела к эхинококку – 50,0% (n=19). Затем по частоте выявляемости идут антитела к токсокарам– 42,1% (n=16) и к описторхам – 7,9% (n=3). Антител к трихинеллам так же обнаружено не было (табл. 1).

В группе детей исследовано 294 сыворотки, из них положительными оказались 4,4% (n=13) пробы. Чаще антитела обнаруживались у мальчиков - 76,9% (n=10). Из них у 60,0% (n=6) детей были диагностированы антитела к эхинококку, у 20,0% (n=2) – к трихинеллам. На долю токсокар и описторхов пришлось по 10,0% (n=1) случаю соответственно. Среди девочек (n=3), которые составили 23,1% от всего числа детей с антителами, чаще всего встречались антитела к токсокарам – 66,7% (n=2), затем по частоте встречаемости идут эхинококки – 33,3% (n=1). IgG – антитела к трихинеллам и описторхам обнаружены не были (табл. 1).

Таблица 1 – Антитела IgG к отдельным видам гельминтов в зависимости от пола и возраста пациентов

Антитела IgG	Взрослые (n=85)		Дети (n=13)	
	мужчины (n=38)	женщины (n=47)	мальчики (n=10)	девочки (n=3)
Токсокары	16 (42,1%)	18 (38,3%)	1 (10%)	2 (66,7%)
Описторхи	3 (7,9%)	3 (6,4%)	1 (10%)	-
Трихинеллы	-	-	2 (20%)	-
Эхинококки	19 (50%)	26 (55,3%)	6 (60%)	1 (33,3%)

Заключение. Установлена невысокая пораженность пациентов гельминтами среди лиц, обратившихся в КДЦ при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского в 2021 году. Из них, независимо от пола и возраста, преобладающее число было с IgG – антителами к эхинококкам, далее шли пациенты с антителами к токсокарам. В основном антитела к гельминтам диагностировались у взрослого населения – 7,5% против 4,4% у детей.

Библиографический список

1. Гельминтозы, регистрируемые на территории Российской Федерации: эпидемиологическая ситуация, особенности биологии паразитов, патогенез, клиника, диагностика, этиотропная терапия. И.В. Давыдова / Consilium Medicum. 2017; 19 (8): 32–40. DOI: 10.26442/2075-1753_19.8.32-40.
2. Пшеничная Н.Ю., Головченко Н.В., Хроменкова Е.П. и др. Актуальные биогельминтозы юга России. Управление Роспотребнадзора по Ростовской области. Проблемы современной медицины: актуальные вопросы. Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции 10.11.2015.
3. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы) / под ред. В.П. Сергиева, Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. СПб.: Фолиант, 2011. 608 с.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИЗОЛЯТОВ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДОВ

Моисеева К.А., Сухинин А. А., профессор, доктор биологических наук,
 Макавчик С. А., доцент, доктор ветеринарных наук
 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной
 медицины», г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Для профилактики инфекционных болезней, общих для животных и человека, необходимо соблюдение целого комплекса мер по предупреждению возникновения и распространения инфекционных агентов. Однако, не на всех этапах производства сохраняется эпизоотическое благополучие, что может быть связано с нарушением технологии содержания и кормления животных, несовершенной организацией профилактических и лечебных мероприятий и др. Животные – бактерионосители без видимых клинических признаков представляют наибольшую опасность, что определяет значимость как прижизненной и посмертной лабораторной диагностики проб клинического

материала на территории животноводческого комплекса, так и исследование микробиального состава корма, подстилки инвентаря [5].

В хозяйстве Северо-Западного региона наблюдались сходные клинические признаки у поголовья мелкого рогатого скота: отсутствие аппетита, повышенная температура тела, судороги, диарея с включениями слизистых тяжей и крови, предположительно ассоциированная с токсинообразующими штаммами *Clostridium perfringens*. Патогенные анаэробные микроорганизмы, являющиеся возбудителями клостридиозов, широко распространены в природе: основным резервуаром их является почва, также они обитают в кишечнике животных и человека [2].

Для лабораторной диагностики на кафедру микробиологии, вирусологии и иммунологии нарочным был доставлен кишечник, содержимое кишечника и лимфатические узлы павшей коровы дойного стада. При комплексной постановке диагноза павшей коровы принимались во внимание эпизоотические, клинические, патоморфологические и лабораторные данные.

Материалы и методы. Для лабораторной диагностики использовались бактериологический и молекулярно-генетический методы.

Бактериологический метод. Материалом для посева служил посмертный патологический материал – кишечник. Для выделения чистой культуры анаэробов использовали питательную среду Китта-Тароцци. Культивировали 48 часов в термостате при температуре 37°C. Дифференциальными средами были выбраны глюкозо-кровяной агар и промышленная готовая среда (в комплекте к системе атмосферной генерации для *in vitro* диагностики AnaeroGen W-ZIP Compact), чашки Петри помещали в анаэрогат Anaerobic MLAB 3,0л (Россия). Атмосферу, необходимую для культивирования анаэробов создавали с помощью химических газогенерирующих пакетов на дне анаэрогата, культивировали в термостате 48 часов при температуре 37°C.

Результаты и их обсуждение. На глюкозо-кровяном агаре и промышленной готовой среде регистрировали круглые, сочные, куполообразные S-колонии, с гладкими ровными краями, серовато-белые, мутные с зоной двойного гемолиза (рис. 1).



Рис. 1. Колонии *Clostridium spp.* на глюкозо-кровяном агаре, окруженные зоной гемолиза.

Бактериоскопию проводили фиксированных и окрашенных по Граму препаратов, приготовленных из участков почернения среды Китта-Тароцци, из колонии дифференциальных сред. В поле зрения регистрировали грамположительные толстые палочки со слегка закругленными концами, расположенные одиночно (рис. 2).

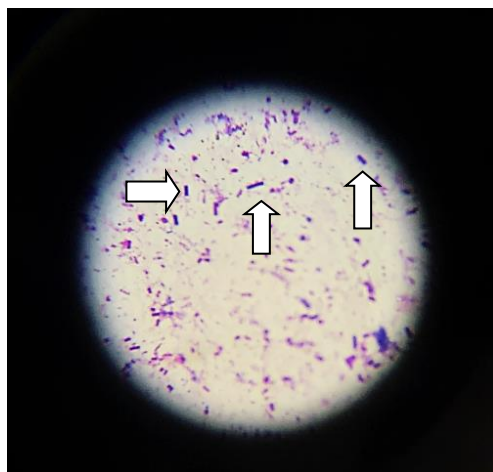


Рис. 2. Микрокартина *Clostridium spp.*, x100.

Молекулярно-генетический метод. Одним из современных, эффективных и быстрых методов молекулярно-генетической идентификации микроорганизмов выбран метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (Real-time). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определенных фрагментов нуклеиновой кислоты в биологическом материале (пробе) [6].

Процедура подготовки образца состоит из лизиса микроорганизмов, обязательной очистки от посторонних примесей – ингибиторов амплификации, и экстракции ДНК [1]. ДНК выделяли с помощью коммерческого набора «ДНК-сорб-АМ» - комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва). В работе использовали коммерческую тест-систему, состоящую из праймеров, Таq-полимеразы, смеси дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, буфера и фермента, вносили анализируемый образец для обнаружения ДНК *Clostridium perfringens* и *Clostridium difficile*.

Для проведения амплификации применяли детектирующий амплификатор ДТпрайм «ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ» Real-Time PCR. Сигнал флуоресценции в ходе ПЦР возрастает пропорционально количеству продукта амплификации. Мониторинг сигнала позволяет построить кинетическую кривую реакции, при этом момент заметного увеличения сигнала и отрыва его от фонового (пороговый цикл) зависит от исходного количества ДНК-мишени. Чем больше количество ДНК в образце, тем раньше наблюдается начало роста сигнала флуоресценции и тем меньше пороговый цикл [6]. В результате наблюдали экспоненциальный рост флуоресценции.

В результате применения бактериологического метода регистрировали в среде Китта-Тароцци рост *Clostridium perfringens*, сопровождающийся помутнением среды и активным газообразованием [3,4]. На дифференциальных средах, в частности на глюкозо-кровяном агаре отмечали колонии, окруженные зоной полного или частичного гемолиза. Бактериоскопическим методом обнаружили в поле зрения крупные грамположительные толстые палочки со слегка закругленными концами, расположенные одиночно. При применении молекулярно-генетического метода наблюдали экспоненциальную амплификацию по Нех каналу, что говорит о наличии ДНК *Clostridium perfringens* в образце.

Заключение. В результате применения бактериологического, бактериоскопического и молекулярно-генетического методов можно сделать вывод о том, что в исследованном материале преобладает анаэробная микрофлора, а именно *Clostridium perfringens*.

Существует 5 типов *Clostridium perfringens*: А, В, С, D, Е, каждый из которых вызывает болезнь с характерными клиническими признаками. Представители вида образуют в процессе культивирования до 17 различных токсинов, из которых преобладающее значение имеют а, b, ε и ι. [7], что открывает широкий простор для поиска оптимального способа типизации токсинов в дальнейших исследованиях, так как у жвачных *Clostridium perfringens* считается условно-патогенной микрофлорой, без типизации энтеротоксина нельзя назвать обнаружение бактерии основным этиологическим фактором болезни.

Библиографический список

1. Казакова О.Д., Бревнова С.А., Макавчик С.А. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (PCR real-time) с использованием микрочипового амплификатора // Научное сообщество студентов XXI столетия. Естественные науки: Электронный сборник статей по материалам LIII студенческой международной научно-практической конференции., Новосибирск, 08-18 июня 2017 года. Новосибирск: Ассоциация научных сотрудников "Сибирская академическая книга", 2017. С. 7-11.

2. Капустин А.В., Алипер Т.И. Эпизоотология и профилактика клостридиозов крупного рогатого скота // Единый мир – единое здоровье : Материалы конгресса, Уфа, 19-21 апреля 2017 года. Уфа: Российская ветеринарная ассоциация, 2017. С. 106-108.

3. Литусов Н.В. Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции. Иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: УГМУ, 2017. 19 с.

4. Макавчик С.А., Сухинин А.А., Енгашев С.В., Кротова А.Л. Лабораторные методы контроля полирезистентных возбудителей бактериальных болезней животных и рационального применения антимикробных препаратов: монография. СПб., 2021. 152 с.

5. Моисеева К А., Сухинин А.А., Кветная А.С. Технология идентификации штаммов *Clostridium perfringens*, продуцирующих энтеротоксин // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны : Материалы X юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной году науки и технологий, Санкт-Петербург, 23-24 ноября 2021 года. СПб.: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. С. 243-244.

6. Основы полимеразной цепной реакции [Электронный ресурс] // методическое пособие. Москва, 2012. — Режим доступа: https://www.dna-technology.ru/sites/default/files/pcr_a5_083-4.pdf?ysclid=l256vgwriy, свободный (дата обращения: 15.04.2022).

7. Songer J.G. Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals / Clin. Microbiol. 1996. Vol. 9(2). P.216-234.

ЭПИЗОТОЛОГИЯ ЛАРВАЛЬНОГО ЭХИНОКОККОЗА

**Муллаярова И.Р., доцент, кандидат ветеринарных наук
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»,
г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия**

Введение Важное значение паразитарных зоонозов, в том числе лярвального эхинококкоза, и его влияние на экономику и здоровье населения признаны Комитетом экспертов ВОЗ (WHO,1980) Наиболее полные сведения об эхинококкозах и гидатидозах опубликованы рядом ученых [3, 4]. Цистный эхинококкоз – один из самых частых, тяжёлых

и опасных паразитарных болезней как человека, так и сельскохозяйственных животных. Экономический ущерб от эхинококкоза животных складывается из падежа, вынужденного убоя, снижения продуктивности, живой массы, племенной ценности животных, недополучения приплода, затрат на проведение противоэхинококковых мероприятий [1, 2].

Цель работы: изучить распространенность ларвального цестодоза на предприятиях по убою животных и переработке продукции животного происхождения в Республике Башкортостан.

Материалы и методы. Работа проводилась по анализу отчётных данных Управления ветеринарии РБ, по результатам собственных исследований за последние 3 года (с 2018 по 2020 гг.). Диагностику ларвального эхинококкоза у сельскохозяйственных животных проводили путем посмертных исследований туш и внутренних органов на предприятиях по убою сельскохозяйственных животных и на рынках ветеринарно-санитарной экспертизы в нескольких административных районах и городах республики Башкортостан. На наличие эхинококковых пузырей визуально и методом глубокой пальпации исследовали внутренние органы: печень, лёгкие, селезёнку, почки и другие органы. Была необходимость дифференциации эхинококкоза от различных новообразований в этих органах и альвеококкоза.

Результаты и их обсуждение. Размеры эхинококков были разнообразны, колебались от небольшой горошины до 10 см, в форме шаров, наполненных прозрачной слегка опалесцирующей жидкостью, снаружи покрыты плотной соединительно-тканной оболочкой, на внутренней оболочке и в жидкости много сколексов и протосколексов. Эхинококкусный пузырь дифференцировали от альвеококкусного пузыря.

Таблица 1 – Количество выявленных случаев эхинококкоза в районах Республики Башкортостан за 3 года

Вид туши	Районы			
	Янаульский/% зараженности	Уфимский/% зараженности	Баймакский/% зараженности	Учалинский/% зараженности
Говядина	102/3	320/8,5	185/4,2	145/3,6
Баранина	124/5,34	165/6,2	252/7,4	166/6,1
Свинина	235/4,4	388/5,2	322/7,2	156/4,6
Всего	461/4,24	873/6,63	559/6,26	467/4,7

При проведении ветеринарно-санитарной экспертизы продуктов убоя животных на различных предприятиях по убою, переработке и производству животноводческой продукции, а также с учётом анализа данных ветеринарной отчётности по районам выяснили, что наиболее часто ларвальный эхинококкоз животных был зарегистрирован в Уфимском и Баймакском районах (табл. 1), представляющих центральную и южную части республики. В Учалинском и Янаульском районах степень заражения варьировала в пределах 4-5%. Как видно из таблицы во всех исследованных районах наиболее чаще эхинококкоз был выявлен во внутренних органах мелкого рогатого скота. Возможно это связано тем, что овец выпасают в летний период и для удобства их пастьбы используют пастушковых собак. Крупный рогатый скот также подвергается заражению эхинококкозом в виду совместной пастьбы с овцами. Во внутренних органах свиней, выращенных в промышленных условиях без выгула, эхинококкоз практически не выявляется. В случае убоя свиней, выращенных подворно в частных индивидуальных хозяйствах максимально

личиночный эхинококкоз был установлен в Баймакском районе (экстенсивность инвазии составила 7,2% от числа всей исследованной свинины).

Чаще всего эхинококовые пузыри обнаруживаются в печени (55,63%), меньше выявляли в легких (38,45%), единичные случаи в почках, селезенке и на ребрах (5,92%).

При определении интенсивности инвазии была выявлена закономерность количества пузырей к размерам. При высокой интенсивности инвазии размеры цист были небольшие, диаметр составлял от 0,5 см до 7-8 см. Единичные пузыри, особенно в легочной ткани, были размером в кулак взрослого человека.

Анализируя ветеринарную отчетность районов по годам существенных колебаний по числу выявленного эхинококкоза не отметили.

Заключение. В результате проведенных исследований выяснили, что эхинококкоз ларвальный регистрируется в различных районах Республики Башкортостан, при этом максимальное количество обнаружено в Уфимском и Баймакском районах. Среди сельскохозяйственных животных наиболее чаще заражению подвержен мелкий рогатый скот. Свиньи заражаются исключительно в случае подворного выращивания, где не исключен контакт с дефинитивным хозяином – собакой. Данные исследования по распространению ларвального цестодоза предполагает возможность контроля ситуации по болезням животных и человека, что показывает значимость данной проблемы.

Библиографический список

1. Казанина, М.А., Муллаярова И.Р. Распространенность гельминтозов у сельскохозяйственных животных // В сборнике: Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных. Материалы 20-й национальной научно-практической конференции с международным участием по патологической анатомии животных. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет». 2020. С. 130-134.

2. Кравченко И.А. Распространение цистного эхинококкоза и теникольного цистицеркоза в Алтайском крае // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2020. № 11 (193). С. 103-106.

3. Муллаярова И.Р. Анализ распространенности эхинококкоза животных // В сборнике: Приоритетные направления развития сельскохозяйственной науки и практики в АПК. Материалы всероссийской (национальной) научно-практической конференции. В 3-х томах. пос. Персиановский, 2021. С. 78-81.

4. Хазиев Г.З., Кутбангалеев К.С., Буранбаев В.С. Распространенность гельминтозоантропонозов в Республике Башкортостан // В сборнике: Современные вопросы ветеринарной медицины и биологии. Сборник научных трудов по материалам Первой международной конференции. 70 лет Башкирскому государственному аграрному университету. Башкирский государственный ордена Трудового Красного Знамени аграрный университет. 2000. С. 312-313.

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕТЕЙ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВАКЦИНАЦИИ ЗА ПЕРИОД 2017-2021 ГГ.

Степанян С.А., Телякова В.И., Проценко Д.А.
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Екатеринбург, Россия

Введение. Ряд эпидемиологических факторов играют определяющую роль в достаточно высоком уровне заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) в Свердловской области. Население Свердловской области подвержено более частому нападению клещей в эпидемический сезон КЭ, что связано, как с ландшафтно-географическими особенностями региона – тайга и смешанные леса, так и меньшей степенью защищенности средствами неспецифической профилактики – акарицидная обработка территорий. Также нельзя исключать и социальный фактор: интенсивная, порой не регулируемая, хозяйственная деятельность в лесах, массовое индивидуальное жилищное строительство в окрестностях городов способствуют формированию антропоургических очагов с высокой численностью иксодовых клещей [2, 3].

С вышеперечисленными факторами связан более высокий уровень заболеваемости КЭ населения Свердловской области, несмотря на более широкий охват вакцинацией детей и взрослых [1].

Целью данной работы стал анализ заболеваемости населения, в частности детей, клещевым энцефалитом, а также уровня вакцинации в Свердловской области. Задачей является отслеживание динамики заболеваемости КЭ детей, в зависимости от уровня вакцинации.

Материалы и методы. Материалом для исследования стали исходные данные о ежегодном количестве пострадавших от укусов клещей в Свердловской области, полученные из сезонных итогов, подведенных эпидемиологами Управления Роспотребнадзора; показатели привитых лиц в возрасте до 17 лет, включая пострадавших от укусов клещей (2017-2021 гг.).

Результаты и их обсуждение. Результаты анализа данных, предоставляемых Управлением Роспотребнадзора представлены в таблице 1. Проанализировав приведенные данные в таблице 1 «Сведения о заболеваемости клещевым энцефалитом и вакцинации против него в Свердловской области среди детей до 17 лет, за период 2017-2021 гг.», мы видим уменьшение общего количества заболевших КЭ с каждым годом [4].

Таблица 1 – Сведения о заболеваемости клещевым энцефалитом и вакцинации против него в Свердловской области среди детей до 17 лет, за период 2017-2021 гг.

Год	Количество пострадавших от присасывания клеща (лиц)	Количество заболевших (лиц)	Количество вакцинированных среди укушенных
2017	5270	107	2213 (42%)
2018	5585	87	2496 (45%)
2019	5679	83	2617 (46%)
2021	6421	83	3467 (54%)

Также положительная динамика прослеживается в численности вакцинированных лиц среди пострадавших от укуса клещами. Высокий уровень заболеваемости КЭ напрямую связан с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой, которая образовалась вследствие большого количества иксодовых клещей на территории Свердловской области и их зараженностью вирусом клещевого энцефалита [3].

Проведя сравнительную характеристику между ежегодными данными (с 2017 по 2021 год), можно выявить взаимосвязь между падением заболеваемости КЭ и увеличением вакцинированных среди укушенных, так как количество заболевших снижается. Это позволяет нам увидеть зависимость распространенности заболевания от вакцинации против клещевого энцефалита.

Важно отметить, что в связи с распространением коронавирусной инфекции, за 2020 год было отмечено резкое снижение (приблизительно в 2,5 раза) заболеваемости клещевым энцефалитом, в связи с чем в таблице 1 не приведены данные по заболеваемости и уровню вакцинации за 2020 год. Данное явление объясняется введением карантинных мер именно в сезон появления клещей и, соответственно, повышенной заболеваемости клещевым энцефалитом – весна/лето.

Заключение. Исходя из общего положения и взяв во внимание совокупность всех вышеизложенных факторов о заболеваемости, вакцинации и частоте нападений клещей на население (в частности детей до 17 лет) можно сделать вывод о том, что вакцинация против клещевого энцефалита имеет положительное влияние на уровень заболеваемости данной инфекцией.

Библиографический список

1. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в ряде субъектов Уральского Федерального с прогнозной оценкой эпидемической ситуации на краткосрочный период/Мищенко В.А., Ладыгин О.В., Быков И.П., Захарова Ю.А., Сергеев А.Г., Кшнясев И.А.//Анализ риска здоровья. 2019. С. 68-78.
2. Мищенко В.А., Кшнясев И.А., Вялых И.В. Анализ временного ряда числа пострадавших от укусов клещей в Свердловской области 1992-2020 гг // Национальные приоритеты России. 2021. № 3 (42). С. 212-216.
3. Привитость и охват иммунизацией в соответствии с национальным календарем профилактических прививок детского населения: одномоментное многоцентровое исследование / Намазова-Баранова Л.С., Федосеенко М.В., Гринчик П.Р. и др. // Педиатрическая фармакология. 2021. Т.18, №2. С. 110-117.
4. Сопоставление результатов иммуноферментного анализа и реакции нейтрализации при оценке защищённости населения от клещевого энцефалита / Чернохаева Л.Л., Майкова Г.Б., Рогова Ю.В. и др. // Вопросы вирусологии. 2018. Т.63, №1. С. 36-40.
5. Эпидемиологи подвели итоги сезона передачи клещевых инфекций на территории Свердловской области // Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Свердловской области URL: https://www.66.rosпотребнадzor.ru/news/-/asset_publisher/IP0G/content/эпидемиологи-управления-роspotребнадзора-подвели-итоги-сезона-передачи-клещевых-инфекции-1 (дата обращения: 25.04.2022).

УРОВЕНЬ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ НАСТОРОЖЕННОСТИ ВРАЧЕЙ АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЗВЕНА

Турегалиева А.У., Рахимжанова Ф.С., кандидат медицинских наук
Некомерческое Акционерное Общество «Медицинский университет г. Семей»,
г. Семей, Республика Казахстан

Введение. В Казахстане сохраняется высокий уровень онкологических заболеваний и составляют 173,5 на 100 тысяч человек населения. По прогнозам к 2030 году во всем мире ожидается, что число новых случаев заболевания раком в год вырастет до 23,6 миллиона. В нашей республике ранняя диагностика онкологических заболеваний 0-I стадий за 2020 год составила 25,5% в общей структуре новых случаев ЗН. При этом пятилетняя выживаемость по итогам 2020 года составила 54,0 % (2019 года – 52,5%). Обязательным условием снижения смертности от злокачественных новообразований является улучшение ранней диагностики. Имеется два способа раннего выявления рака – раннее диагностирование и скрининг (систематическое проведение диагностики). Но при этом должна быть и высокая онкологическая настороженность среди медицинских работников на уровне поликлинической службы.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели нами было проведено анкетирование среди врачей амбулаторно-поликлинических служб г. Актау. В анкете были вопросы по симптоматике и диагностике визуально видимых онкологических заболеваний, по тактике ведения пациентов на уровне поликлинических служб. В сумме по всем вопросам было 129 баллов. Результаты оценивались по преодолению порога 70% уровня достаточной онкологической настороженности врачей первичного звена. В исследовании использовались аналитический, статистический и социологический методы исследования.

Результаты и их обсуждение. Нами были проанализированы 208 анкеты, из которых 48,75% были с результатом менее 70% правильных ответов, что показывает недостаточную онкологическую настороженность и 51,3% результатов преодолели порог 70% и соответствуют достаточному уровню онкологической настороженности. Анализ анкет показал, что в основном неправильно были ответы в разделе диагностики на этапе первичного осмотра. Одной из причин этого как раз возможна и низкая онкологическая настороженность медицинских работников.

Заключение. Проведенное нами анкетирование врачей первичного звена выявило недостаточный уровень онкологической настороженности среди врачей амбулаторно-поликлинической службы. Анализ анкет выявило проблемы по диагностике некоторых видов рака – рака легких, кишечника, молочной железы и других. Хорошие знания показали по диагностике рака губы, ротовой полости. В результате возможно определение основных направлений работы с врачами разных специальностей по вопросам ранней диагностики и определения диагностических мероприятий по выявлению онкозаболеваний на уровне поликлиник, качественного проведения скринингов и проведения работы по повышению онкологической грамотности и среди населения.

СЕКЦИЯ 3. МИКРОБИОЛОГИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ БИОТИЧЕСКОЙ И АБИОТИЧЕСКОЙ СРЕДЫ

ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПИЩЕВУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ

Артиомов Л.И., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук
Институт Микробиологии и Биотехнологии, г. Кишинев, Республика Молдова

Введение. Воздействие устойчивых к антибиотикам бактерий из почвы природных и сельскохозяйственных экосистем может существенно повлиять на безопасность пищевых продуктов и, следовательно, на здоровье человека. Большая часть антибиотиков, выделяемых животными и людьми, попадает в почву при внесении навоза и осадка сточных вод в качестве органических удобрений. Антибиотики неизбежно воздействуют на аборигенные почвенные микробы, усиливая развитие резистентности микробов к антибиотикам. Даже в малых дозах они могут вызывать токсический эффект и формировать у микроорганизмов антибиотикорезистентность. Распространение генов устойчивости к антибиотикам (АРГ) в сельскохозяйственных почвах, растительном пищевом сырье и продуктах питания серьезно ограничивает использование органических удобрений в сельском хозяйстве. Данная статья является обзором библиографических источников, освещающих проблемы контаминации пищевых продуктов растительного происхождения патогенными и устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами почвенного микробиома агроэкосистем.

Материалы и методы. Поиск опубликованных результатов в международных (Google Scholar и PubMed) базах данных, по ключевым словам, соответствующим цели настоящего обзора: *почвенный микробиом, патогенные и устойчивые к антибиотикам микроорганизмы, органическое (органическое) сельское хозяйство, органические удобрения, безопасность пищевых продуктов* на английском и русском языках.

Результаты и их обсуждение. Развитие антибиотикорезистентности бактериальных возбудителей значительно усложнило лечение опасных для жизни бактериальных инфекций. Статистика показывает, что потребление антибиотиков в ветеринарии в два раза больше, чем в медицине. Чрезмерное использование ветеринарных антибиотиков в животноводстве и последующее внесение навоза способствует повышению устойчивости к антибиотикам в почвенной среде. Метагеномный анализ микробиома навоза, почвы и культивируемых растений позволяет исследователям оценить риск передачи генов устойчивости к антибиотикам (АРГ) и бактериальных носителей лекарственной устойчивости в удобренную почву и сельскохозяйственные культуры.

Применение навоза или компоста из навоза может увеличить количество генов, устойчивых к антибиотикам. Овощи, выращиваемые в почве или близко к ней (корнеплодные и листовые овощи), имеют высокий риск заражения устойчивыми к антибиотикам бактериями из естественной почвенной микробиоты, либо из навоза, используемого для удобрения почвы. Данные Sanz C. и др. [6] свидетельствуют о том, что гены антибиотикорезистентности (АРГ) в почве могут транслоцироваться в съедобные части растений, и что салат особенно склонен к накоплению сравнительно высоких уровней как АРГ, так и антибиотиков. Результаты авторов показывают, что нагрузки АРГ в почве и

пищевых продуктах, вероятно, были связаны с вкладом бактерий из органических удобрений в микробиом почвы.

Удобрения на основе свиного навоза обладают сильным потенциалом влияния на нагрузку почвы и сельскохозяйственных культур. Zhu В. и др. [7] провели исследование для оценки воздействия удобрения почвы необработанными свиными отходами на содержание антибиотиков, генов устойчивости к антибиотикам и бактериальных микробных сообществ, как в почве, так и в овощах. Результаты показывают, что удобрение необработанными отходами вызвало загрязнение антибиотиками и генами устойчивости к антибиотикам, а также изменения в составе микробного сообщества почвы. Были обнаружены разновидности тетрациклинов и связанных с ними генов устойчивости, особенно в почвах, обработанных сточными водами свиноферм. Гены антибиотикорезистентности выявлены также в овощах (салат - *Lactuca sativa*, эндивий – *Cichorium endivia*), выращиваемых в обработанной навозом почве, в том числе у эндофитов в корнях, листьях и микроорганизмах философа.

Птичий помет, используемый в качестве органического удобрения, является носителем устойчивости к антибиотикам, которые используются в птицеводстве с целью увеличения продукции (тетрацилин, энрофлоксацин). В исследованиях Vuta-Hubeny M. и др. [2] применение птичьего помета привело к наибольшему увеличению численности генов, кодирующих устойчивость к тетрациклинам (9%), аминогликозидам (3,5%), сульфаниламидам (3%), бацитрацину (2%), хлорамфениколу (2%) и макролидам - (1%). Общее число копий ARG было почти в четыре раза выше в птичьем помете, чем в бычьем навозе, и это было отмечено и в удобренной почве. Антибиотики оказывали большее влияние на поддержание разнообразия ARG, чем на увеличение их численности в почве. Эндомикробиом корней петрушки характеризовался более высоким разнообразием ARG, чем эндомикробиом листьев петрушки, что свидетельствует о том, что необработанные корнеплоды могут представлять опасность для потребителей. Тяжелые металлы были более сильными стимуляторами устойчивости к антибиотикам в окружающей среде, чем сами антибиотики. С навозом в почву вносится большое количество инсерционных последовательностей (ИС), в том числе связанных с подвижностью ARG в популяции патогенов. Эти ИС остаются стабильными до нескольких месяцев, что свидетельствует о том, что навоз, в частности птичий помет, значительно увеличивает риск быстрого попадания ARG в окружающую среду. По сравнению с бычьим пометом птичий помет вызывал большее увеличение разнообразия ARG и интегрированных генов в геноме бактерий, выделенных из сельскохозяйственных культур [2]. Бактерии типа *Proteobacteria* играют важную роль в передаче многих ARG сельскохозяйственным культурам. *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* распространены и положительно коррелируют с генами устойчивости к антибиотикам в почвах, что указывает на наличие в почве потенциально устойчивых к антибиотикам бактерий. Антибиотики и гены устойчивости к антибиотикам также были обнаружены в овощах, зараженных внутриклеточными паразитами *Rickettsiales* (в положительной корреляции с генами устойчивости к антибиотикам), что указывает на потенциальный риск для здоровья потребителей. Исследователи обнаружили представителей *Rickettsiales* в салате садовом (*Lactuca sativa*).

Устойчивость к антибиотикам может передаваться почвенным микроорганизмам и эндофитам культивируемых растений [1]. Исследования Dandeniya и др. [4] показали, что влияние птичьего помета на антибиотикоустойчивые популяции бактерий, колонизирующих корнеплоды моркови, не является универсальным во всех почвах. Численность эндофитных

антибиотикорезистентных бактерий в моркови выше в почвах с повторным воздействием органических удобрений. Так как гены антибиотикорезистентности из органических удобрений могут проникнуть в микробиоту растениеводческой продукции, употребляемой в сыром виде, и далее по пищевой цепи, необходимо уделять особое внимание исследованию компонентов фитобиома сельскохозяйственных культур.

Овощи из органического земледелия могут содержать большее количество генов устойчивости к антибиотикам, и это увеличение коррелирует с бактериальными сообществами, такими как *Firmicutes*, *Chloroflexi* и *Actinobacteria*. Набор бактерий, содержащих гены устойчивости к антибиотикам из почвы, может быть одной из причин увеличения количества генов устойчивости к антибиотикам в филлосфере салата, производимой методами органического земледелия. Следует отметить, что гены устойчивости к антибиотикам, связанные с овощами, могут представлять высокий риск для здоровья человека, особенно в случае овощей, которые употребляют в сыром виде.

Chen Q. L. и др. [3] исследовали последствия сокращения микробного разнообразия почвы для распространения устойчивости к антибиотикам. Результаты исследований доказали, что высокое микробное разнообразие может действовать как биологический барьер, препятствующий распространению устойчивости к антибиотикам. Чтобы связать потенциальный риск внесения навоза с передачей устойчивости к антибиотикам населению в результате потребления овощей, важно охарактеризовать как микробиом, так и резистом на овощах и в них (т. е. эписферу и эндосферу), а также определить, как микробиом и резистом навоза могут передаваться растениям через поверхностную и ризосферную почву.

Группа французских ученых предлагает предотвратить риски, вызванные загрязнением окружающей среды антибиотиками, устойчивыми к антибиотикам бактериями и генами устойчивости к антибиотикам, путем реализации концепции *One Health* (Единое здоровье) в глобальном масштабе. Naenni M. и соавторы [5] рекомендуют создание интегрированной сети эпидемиологического надзора с использованием подхода *One Health*, связывающего данные об устойчивых к антибиотикам бактериях, генах устойчивости к антибиотикам и остаточным количествам антибиотиков в окружающей среде, организме человека и животных.

Заключение. Бактерии из органических удобрений могут увеличить нагрузку генов *- устойчивости к антибиотикам на почву и сельскохозяйственные культуры. Очевидна необходимость решения широкого круга вопросов, связанных с загрязнением почвы патогенными и устойчивыми к антибиотикам бактериями и их передачей из почвы, обработанной навозом, в культурные растения. Строгий контроль содержания ген антибиотикорезистентности в исходных отходах, используемых для производства удобрения, будет иметь большое значение для минимизации риска их распространения в почву и сельскохозяйственные культуры.

Остатки антибиотиков приводят к отбору эндофитных бактерий, устойчивых к антимикробным веществам, которые не удаляются при промывке или очистке пищевого сырья растительного происхождения. Необходимо уделять особое внимание исследованию антибиотикорезистентности компонентов фитобиома сельскохозяйственных культур, употребляемых в сыром виде и улучшить экологические нормы по использованию навоза животных для удобрения почвы.

Работа выполнена в рамках проекта № 20.80009.5107 «Эффективное использование почвенных ресурсов и микробного разнообразия путем применения элементов биологического (органического) земледелия».

Библиографический список

1. Наумова Н.Б., Ручко Е.Н., Савенков О.А., Плешакова В.И. Микробиом почвы и сельскохозяйственных культур при внесении компоста куриного помета // Почвы и окружающая среда. 2021. Том 4. № 1. e141. DOI: 10.31251/pos.v4i1.141
2. Buta-Hubeny M. et al. Structure of the manure resistome and the associated mobilome for assessing the risk of antimicrobial resistance transmission to crops //Science of the Total Environment. 2022. Vol. 808. P. 152144. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152144>
3. Chen Q.L. et al. Loss of soil microbial diversity exacerbates spread of antibiotic resistance // Soil Ecology Letters, 2019. Vol. 1(1), P. 3-13. <https://doi.org/10.1007/s42832-019-0011-0>
4. Dandeniya W. S., et al. Prevalence of antibiotic resistant bacteria in poultry litter based manures and potential threats on food safety for carrot //Global symposium on soil pollution. Rome: Food and Agriculture Organization, 2018. P. 309-314.
5. Haenni M. et al. Environmental contamination in a high-income country (France) by antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes //Environment international. 2022. Vol. 159, P.107047. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.107047>
6. Sanz Claudia, et al. Implications of the use of organic fertilizers for antibiotic resistance gene distribution in agricultural soils and fresh food products // Science of The Total Environment , 2022. Vol. 815, 151973. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151973>
7. Zhu B. et al. Does organically produced lettuce harbor higher abundance of antibiotic resistance genes than conventionally produced?// Environment international, 2017, Vol.98, P.152-159. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.11.001>

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ БРОМИСТОГО ЭТИДИЯ В ОТНОШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ АНТИБИОТИКАМ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОТКРЫТОГО ВОДОЁМА

**Бардак М. В., Будагова Т. Ю., Самков А. А., доцент, кандидат биологических наук,
Волченко Н. Н., доцент, кандидат биологических наук, Худокормов А. А., доцент,
кандидат биологических наук**

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», г. Краснодар

Введение. Повсеместный рост антибиотикорезистентности является актуальной проблемой нашего времени. Диагностика штаммов, обладающих устойчивостью к антибиотикам, и определение локализации генов устойчивости могут способствовать борьбе с развитием резистентности к антибиотикам [1, 2].

Целью данной работы являлась оценка действия бромистого этидия в отношении антибиотикоустойчивости у штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из озера Карасун в г. Краснодаре.

Материалы и методы. Для анализа использовалось 9 штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из озера Карасун в г. Краснодаре. На питательной среде Эндо с добавлением разных концентраций антибиотиков (25, 100, 400 мг/л) была произведена оценка наличия резистентности у исследуемых штаммов к рифампицину, канамицину, эритромицину, ампициллину и стрептомицину. Впоследствии штаммы культивировали с добавлением элиминирующего агента - бромистого этидия в сублетальной концентрации, затем антибиотикорезистентность была оценена повторно на питательной среде Эндо с добавлением аналогичных предыдущему опыту концентраций антибиотиков

Результаты и их обсуждение. В результате проведённых исследований было установлено, что доля устойчивых к одной и более концентрации антибиотикам штаммов составила: 88 процентов к рифампицину, 44,4 процента к канамицину, 44,4 процента к эритромицину, 100 процентов к ампициллину и стрептомицину (рис. 1).

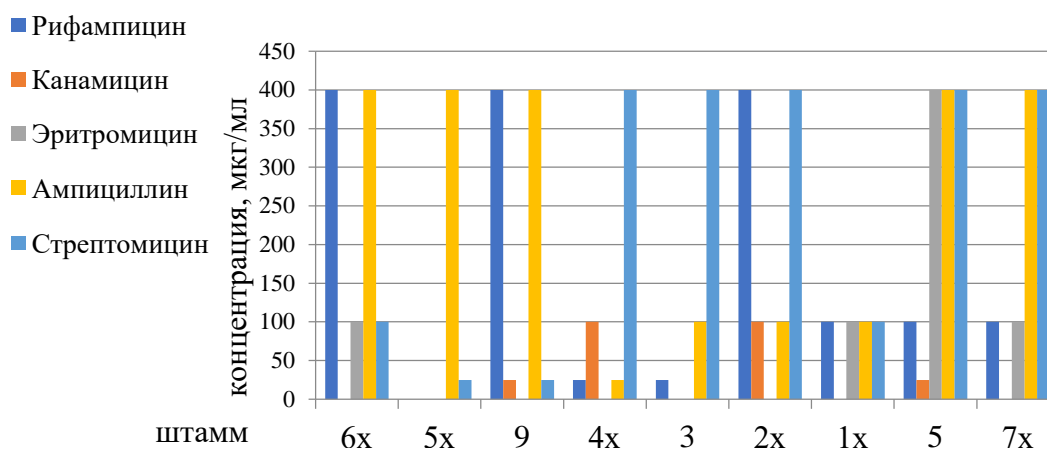


Рис. 1. Антибиотикорезистентность штаммов энтеробактерий, выделенных из озера Карасун г. Краснодар.

После добавления элиминирующего агента – бромистого этидия в сублетальной концентрации – была осуществлена оценка снижения антибиотикорезистентности исследуемых штаммов семейства *Enterobacteriaceae* (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние бромистого этидия на антибиотикорезистентность к рифампицину штаммов энтеробактерий, выделенных из озера Карасун г. Краснодар: + (штамм устойчив к данной концентрации антибиотика), - (штамм не устойчив).

Концентрация, мг/л	Штамм								
	6x	5x	9	4x	3	2x	1x	5	7x
25	+	-	-	-	+	-	+	-	+
100	-	-	-	-	-	-	+	-	+
400	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Было обнаружено, что под действием бромистого этидия доля штаммов, проявивших устойчивость, по меньшей мере, к одной из использованных концентраций к рифампицину снизилась на 44 процента, устойчивость штаммов к канамицину была полностью потеряна. Что может свидетельствовать о плазмидной локализации генов устойчивости у изученных штаммов к данным антибиотикам [3-5]. В то же время, чувствительность к эритромицину, ампициллину и стрептомицину снизилась незначительно.

Заключение. Таким образом, было отмечено избирательное влияние бромистого этидия на антибиотикорезистентность исследуемых штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из озера Карасун г. Краснодара, проявившееся в возможной преимущественной элиминации R-плазмид устойчивости к рифампицину и канамицину.

Библиографический список

1. Johannes A., Hembach N., Schwartz T. Identification of critical control points for antibiotic resistance discharge in sewers // *Science of the Total Environment*. 2022. Vol. 820.
2. Mann A., Nehra K., Rana J. [at al.] Antibiotic resistance in agriculture: Perspectives on upcoming strategies to overcome upsurge in resistance // *Current Research in Microbial Sciences*. 2021. Vol. 2.
3. Monzon-Moreno C., Alamo I., Goldstein F.W. [at al.] Plasmid mediated resistance to trimethoprim in *Enterobacteriaceae* isolated in Gran Canaria // *Médecine et Maladies Infectieuses*. 1994. Vol. 24, № 12. P. 1248-1252.
4. Shabana I., Al-Enazi A.T. Investigation of plasmid-mediated resistance in *E. coli* isolated from healthy and diarrheic sheep and goats // *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020. Vol. 27, № 3. P. 788-796.
5. Szczepanowski R., Bekel T., Goesmann A. [at al.] Insight into the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to antimicrobial drugs analysed by the 454-pyrosequencing technology // *Journal of Biotechnology*. 2008. Vol. 136, № 1-2. P. 54-64.

ДЕЙСТВИЕ МИКРОБНЫХ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА QUORUM SENSING СИСТЕМУ РЕГУЛЯЦИИ БАКТЕРИЙ

**Вагнер Е.Н.¹, Сидорова Д.Е.²; Плюта В.А., кандидат биологических наук²,
Хмель И.А., профессор, доктор биологических наук²**

**¹ФГБУ ВО «Российский химико-технологический университет имени
Д.И. Менделеева», ²ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального
исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Москва, Россия**

Введение. Для взаимодействия в дикой природе различные популяции микроорганизмов выделяют летучие органические соединения (ЛОС). ЛОС характеризуются относительно небольшой молекулярной массой (<300 Да), низкой температурой кипения и в основном высокой липофильностью. Эти свойства позволяют ЛОС распространяться на большие расстояния по воздуху, диффундировать через воду и почву, и выступать как сигналы дистанционной коммуникации («infochemicals») [1]. Так, некоторые микроорганизмы выделяют ЛОС в ответ на изменения окружающей среды. Летучие соединения могут подавлять или стимулировать рост бактерий, грибов и растений, влиять на активность ферментов и экспрессию генов. Доказано, что ряд ЛОС способны ограничивать рост фитопатогенов и индуцировать системную резистентность у растений, повышая урожайность [3]. Кроме того, летучие вещества могут действовать на Quorum Sensing (QS) систему регуляции бактерий, в том числе они могут осуществлять Quorum Quenching (QQ) - процесс, подавляющий функционирование QS системы бактерий [2]. QS является одним из ключевых факторов, влияющих на образование биопленок бактерий, их вирулентность и ряд

других клеточных процессов. Дальнейшее изучение влияния ЛОС представляет огромный интерес для сельского хозяйства, медицины и биотехнологии.

Целью данной работы является исследование влияния индивидуальных ЛОС с разной химической структурой на QS системы регуляции грамотрицательных бактерий (*LuxI/LuxR*, *LasI/LasR* и *RhlI/RhlR*), использующих N-ацил-гомосеринлактоны (АГЛ) в качестве сигнальных молекул.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали специфические *lux*-биосенсорные штаммы *Escherichia coli* JLD271/pAL101 (*RhlI/RhlR*), *E. coli* JLD271/pAL105 (*LasI/LasR*) и *E. coli* DH5 α /pSB401 (*LuxI/LuxR*), осуществляющие биолюминесценцию только в присутствии экзогенных АГЛ (N-бутаноил-L-гомосеринлактон, N-(3-оксо-додеcanoил)-L-гомосеринлактон и N-гексаноил-L-гомосеринлактон соответственно). Комплекс рецепторного белка *LuxR*, *RhlR* или *LasR* с АГЛ связывается с промоторной областью *lux* оперона и индуцирует его транскрипцию, что приводит к синтезу люциферазы и эмиссии света. Биосенсоры не могут сами синтезировать АГЛ, так как гены, кодирующие АГЛ-синтазы (*luxI*, *lasI*, *rhlI*) инактивированы.

Quorum Sensing регуляция *lux*-биосенсорных штаммов *E. coli* была сконструирована на основе механизмов QS системы биолюминесценции бактерий *Vibrio fischeri* (*LuxI/LuxR*) и QS систем *Pseudomonas aeruginosa* (*LasI/LasR* и *RhlI/RhlR*).

Параллельно проводились опыты по действию ЛОС на неспецифические *lux*-биосенсоры *E. coli* JLD271/pAL102 и *E. coli* JLD271/pAL106 несущие гибридные плазмиды *rhlI::luxCDABE* и *lasI::luxCDABE*, у которых инактивированы гены *rhlR* и *lasR* соответственно, кодирующие рецепторные белки *LuxR* типа. У биосенсоров *E. coli* JLD271 инактивирован ген *sdia*, кодирующий синтез белка *SdiA* (гомолог *LuxR* белка), который также может отвечать (взаимодействовать) на наличие в среде экзогенного АГЛ. А также опыты по действию ЛОС на *lux*-биосенсор *E. coli* MG1655/pXen7, несущий гибридную плазмиду pXen7, характеризующуюся конститутивным синтезом *lux* генов (экспрессия *lux* генов находится под контролем *lac* промотора), ответственных за биолюминесценцию. Гены *luxCDABE* взяты из бактерии *Photobacterium luminescens*.

Совместное тестирование ЛОС с мутантными штаммами *lux*-биосенсоров, содержащими и не содержащими рецепторные белки *LuxR* типа, позволяет однозначно определять восприимчивость данного белка, исключая посторонние факторы [4,5].

Для определения действия ЛОС на QS системы регуляции бактерий, ночная культура *lux*-биосенсоров разведенная в 10 раз подрачивалась 2 часа в пробирках, герметизированных парафильмом, с добавлением различных количеств ЛОС и, при необходимости, соответствующих АГЛ. Затем проводилось измерение значений биолюминесценции и оптической плотности. При необходимости проводились высевы для подсчета КОЕ. Опыты проводились как минимум в трехкратной повторности с целью получения более точных результатов.

В качестве исследуемых ЛОС были взяты кетоны (2-бутанон, 2-пентанон, 2-октанон, ненасыщенный кетон β -ионон), спирты (2-фенилэтанол, изоамиловый спирт) и терпены ((-)-лимонен и (+)- α -пинен) в двух различных количествах. Все вещества имели >96% чистоту. Предварительно были подобраны такие количества используемых ЛОС, бактерицидное воздействие которых на клетки было незначительным или вовсе отсутствовало.

Результаты и их обсуждение. По полученным нами данным, изоамиловый спирт в количестве 25 и 50 μ моль подавляет непосредственно процесс QS регуляции всех трех *lux*-

биосенсоров, при этом не нарушая люминесценцию у неспецифических *lux*-биосенсоров (MG1655/pXen7, JLD271/pAL102 и JLD271/pAL106). Выяснилось, что кетон 2-бутанон в количестве 100 и 200 μ моль не оказывает влияния на QS системы LuxI/LuxR, LasI/LasR, но воздействует на системы RhlI/RhlR и на неспецифический штамм *rhlR` rhll::luxCDABE* (JLD271/pAL102), усиливая их биолюминесценцию на 30-40% относительно контроля без ЛОС. 2-пентанон (50 и 100 μ моль) и β -ионон (25 и 50 μ моль) действуют специфично — они вызывают QQ эффект только у системы LuxI/LuxR, не подавляя при этом процесс биолюминесценции у pXen7 *lux*-биосенсора. Для (+)-альфа-пинена (25 и 50 μ моль) и (-)-лимонена (10 и 25 μ моль) было показано, что эти ЛОС вызывали QQ у систем LasI/LasR и LuxI/LuxR типа, также лимонен подавлял процесс биолюминесценции у pXen7 *lux*-биосенсора. 2-Октанон в количестве 5 и 10 μ моль и 2-фенилэтанол в количестве 25 и 50 μ моль одинаково сильно подавляли биолюминесценцию у всех *lux*-биосенсоров, что может свидетельствовать о их неспецифическом действии на сам процесс протекания реакции люминесценции в клетках биосенсоров.

Заключение. Таким образом, обнаружено, что исследуемые ЛОС могут, как подавлять функционирование всех трех QS систем регуляции бактерий, так и демонстрировать специфичное влияние на одну из исследуемых QS систем. Сравнивая эффект воздействия ЛОС на биолюминесценцию штаммов, можно сделать вывод о том, что ЛОС могут влиять как на процесс QS системы регуляции, так и непосредственно на процесс биолюминесценции, который при этом, вероятно, не связан с самой QS системой регуляции бактерий.

Работа частично финансировалась Фондом в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» — ИМГ на 2021-2022 годы (№ 121030200227-6).

Библиографический список

1. Веселова М.А., Плюта В.А., Хмель И.А. Летучие вещества бактерий: структура, биосинтез, биологическая активность // Микробиология. 2019. Т. 88. №. 3. С. 272-287.
2. Хмель И.А. Quorum-sensing регуляция экспрессии генов: фундаментальные и прикладные аспекты, роль в коммуникации бактерий // Микробиология. 2006. Т. 75. №. 4. С. 457-457.
3. Bonkowski M., Villenave C., Griffiths B. Rhizosphere fauna: the functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots // Plant and Soil. 2009. V. 321. №. 1. P. 213-233.
4. Lindsay A., Ahmer B.M. Effect of *sdiA* on biosensors of N-acylhomoserine lactones // J Bacteriol. 2005. V. 187 (14). P. 5054-5058.
5. Winson M.K., Swift S., Fish L., et al. Construction and analysis of *luxCDABE*-based plasmid sensors for investigating N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing // FEMS Microbiol Lett. 1998. V. 163 (2). P. 185-192.

ОЦЕНКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРОБИОТЫ КНИГ К АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

**Гусева Т.М., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук, Коноплева В.И., доцент,
кандидат медицинских наук, Стегачева А.Е., Колесова Е.О.**

**ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова», Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Рязань, Россия**

Введение. В конце 19 - начале 20 века возникла «книжная паника», связанная с новыми научными открытиями в области микробиологии. Ученые дискутировали о том, являются ли причиной инфекционных болезней микробы, находящиеся на страницах книг? Только после 1914 года многочисленные опыты микробиологов показали, что книги не имеют приоритетного значения как фактор передачи инфекционных заболеваний. Но бумага является подходящим питательным материалом для специфических микроорганизмов, постоянно присутствующих на книжных страницах. Бумажная масса пропитывается веществами, являющимися источником питательных веществ для книжной микробиоты. На страницы открытой книги оседают пылевые частицы, содержащие органические вещества, которые также могут усваиваться микроорганизмами. Данные микробы - сапрофиты не опасны для человека, но могут стать причиной порчи книг. С целью сохранения книжного фонда в библиотеках предусмотрена обработка книг антимикробными средствами [1-3]. **Цель работы** оценить резистентность книжной микробиоты, присутствующей на изданиях разных лет, к современным антимикробным препаратам различных химических групп.

Материалы и методы. Объекты исследования - библиотечные книги, изданные в 1931 и 2006 годах. Для выделения книжной микробиоты использовали методы смывов с поверхности страниц с соблюдением асептики. Смывную жидкость засеивали на питательный агар в чашки Петри, инкубировали при 37 градусах 24 часа. Выросшие колонии оценивали по морфологическим признакам, с целью определения микрофлоры микроскопировали препараты, окрашенные по Граму. Определяли чувствительность микробиоты книг к шести антисептикам разных химических групп (спиртам, гуанидинам, ЧАС, комбинированным препаратам) диско-диффузионным методом.

Результаты и их обсуждение. Результаты посевов на питательном агаре показали, что книжная микробиота изданий разных лет существенно не различается и представлена грампозитивной кокковой и палочковидной флорой. Бактерии, выделенные с поверхности страниц исследуемой литературы, показали 100% устойчивость к препарату на основе изопропилового спирта. Устойчивостью к этиловому спирту обладала микробиота книг 2006 года издания, зона задержки роста микрофлоры книг 1931 года к данному препарату составила 6 мм. К хлоргексидину биглюконату показала чувствительность микробиота книг 1936, и 2006 года издания (зоны задержки роста – 12 мм и 10 мм соответственно). По отношению к препаратам из группы ЧАС и комбинированному средству (гуанидин + спирты) большую чувствительность имела микробиота книг 1936 года выпуска (зона задержки роста – 18 мм и 19 мм соответственно). Для микробиоты книг 2006 года данные значения составили 11 мм и 18 мм соответственно.

Заключение. Таким образом, книжная микробиота наиболее чувствительна к препаратам из группы четвертичных аммониевых соединений и комбинированным препаратам, сочетающим гуанидины и спирты, и резистентна к изопропиловому спирту.

Микрофлора книг более позднего года выпуска показала наибольшую резистентность к антисептикам, что указывает на эволюционные процессы, происходящие в микромире, направленные на повышение адаптивных свойств к условиям обитания, в частности к более широкому использованию антимикробных средств.

Библиографический список

1. Белевич И.О., Александрова Г.А. Исследование микробиоты библиотек и проблемы сохранения библиотечных фондов // Вестник Пермского университета. Вып. 5(10). 2007. С.151-154.
2. Елинов Н.П. Микобиота некоторых хранилищ фондов БАН: средства и методы деконтаминации // Мат-лы междунаро. научн. конференции "БАН: 10 лет после пожара", Санкт-Петербург. 1999. С.207-217.
3. Омелянский В.Л. Книга и микроорганизмы // Природа. №01-03. 1925. С. 35-48.
4. <https://travelask.ru/blog/posts/19200-mogut-li-bibliotechnye-knigi-stat-perenoschikami-bolezney>

ВЛИЯНИЕ ДЕФЕКТА НА ПОЧВЕННУЮ БИОТУ ЧЕРНОЗЁМОВ

Зубкова Т.В.¹ доцент, кандидат сельскохозяйственных наук

Виноградов Д.В.² профессор, доктор биологических наук

¹Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, г. Елец, Россия;

²ФГБОУ ВО «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева» г. Рязань, Россия

Введение. Основной задачей агропромышленного комплекса является поддержание плодородия почв, которое можно достичь при использовании органических ресурсов [1].

В результате переработки сахарной свёклы образуются в больших количествах несколько видов отходов. Прежде всего – это жом, который используют на корм скоту, а также в бродильной промышленности. Ко второму типу отходов сахарного производства относится дефекат. Хранение дефеката осуществляют в виде отвалов, размеры которых могут достигать 300-400 м в длину, 25-30 м в ширину и 15-20 м в высоту. Такие свалки отходов занимают значительные площади, ухудшают свойства атмосферного воздуха и грунтовых вод на прилегающей территории [5].

Последние годы Россия интенсивно увеличивает производство свекловичного сахара. Так, за 2021 год его произведено на 120 тонн больше, чем в 2020 году. А, следовательно, с увеличением производства сахара, увеличивается и количество связанных с его производством отходов.

Следует отметить, что агрохимические свойства дефеката позволяют использовать его в качестве удобрения. Данный вид удобрения содержит органическое вещество, азот, фосфор, калий и многочисленные микроэлементы. Осадок от дефекации сахарного сока используется в качестве удобрения для почв с кислой реакцией среды. Его также применяют в качестве компонента смесей с NPK-удобрениями [4].

Внесение любых органических удобрений оказывает влияние на микробное сообщество почвы [2,3]. Поэтому целью работы было определить влияние разных доз дефеката на микробный комплекс чернозёма выщелоченного.

Материалы и методы. Эксперимент проводили в условиях опытного поля ЕГУ им. И.А. Бунина Липецкой области в 2019-2021 гг. Дефекат вносили осенью в дозах: 5 т/га, 6 т/га, 7 т/га, 8 т/га, 9 т/га и 10 т/га. Определение микробного сообщества определяли весной перед посевом сельскохозяйственных культур.

Количество микроорганизмов в почве определяли посевом на питательные среды при разведении в 10000 и 100000 раз.

Результаты и их обсуждение. В результате проведённых исследований проанализирована численность бактерий и грибов в пахотном слое почвы в зависимости от внесения дефеката.

Почвенные микроорганизмы по-разному реагируют на изменения кислотности почвы. Так, известно, что в сильнокислой почвенной среде встречается большое количество возбудителей и болезней растений. А полезная микрофлора, в том числе и грибы лучше развиваются в нейтральной или слабощелочной среде.

Именно почвенные бактерии являются индикаторами, которые очень чутко реагируют на любые изменения в почве.

Установлено, что с внесением удобрения содержание бактерий увеличивалось. Так, на контрольном варианте в пахотном слое почвы их отмечалось в количестве 3,21 млн. шт./г абсолютно сухой почвы (табл. 1).

Таблица 1 – Численность бактерий и грибов в пахотном слое почвы в зависимости от доз дефеката, млн.шт./г абсолютно сухой почвы

Доза дефеката, т/га	Численность бактерий, млн.шт./г абсолютно сухой почвы	Численность грибов, тыс.шт/г абсолютно сухой почвы
Контроль	3,21	35,1
5	4,99	41,2
6	5,21	44,5
7	5,33	46,3
8	5,45	47,2
9	5,78	49,3

На варианте с внесением 5 т/га количество бактерий превышало контроль на 55%. Максимального значения данный показатель достигал на варианте с внесением 10 т/га дефеката, где количество бактерий превышало контроль на 84 % . Отношение доз цеолита к численности бактерий в почве характеризовалась высоким коэффициентом корреляции ($r=0,98$), что указывает на сильную зависимость между данными показателями (рис.1). Уравнение линейной регрессии имело вид $y=3,4056+0,2675x$, это говорит о том, что с увеличением дозы дефеката будет увеличиваться содержание бактерий на 0,2675 млн.шт./г абсолютно сухой почвы.

Внесение дефеката, снижало кислотность почвы и, как следствие, способствовало увеличению количества грибов в почве.

Так с увеличением доз органического удобрения содержание грибов в почве увеличивалось и варьировало в пределах от 351,1 до 49,3 тыс.шт/г. Минимальное их количество отмечалось на контроле - 35,1, а максимальное на варианте с внесением 10 т/га - 49,3 тыс. шт/г абсолютно сухой почвы.

Установлено, что даже небольшая доза дефеката увеличивала долю грибов в почве, что стимулирует восстановление биогенных процессов в почве.

Коэффициент корреляции между численностью грибов и дозами дефеката составлял $r=0,99$, а уравнение регрессии имело вид $y=34,7413+1,5691x$. Следовательно, с увеличением дозы дефеката число грибов увеличивалось на 1,5691 тыс.шт/г абсолютно сухой почвы.

Количество в почве грибов и бактерий в зависимости от доз дефеката можно представить в виде следующего возрастающего ряда: контроль>5 т/га>6 т/га>7 т/га>8 т/га>9 т/га>10 т/га.

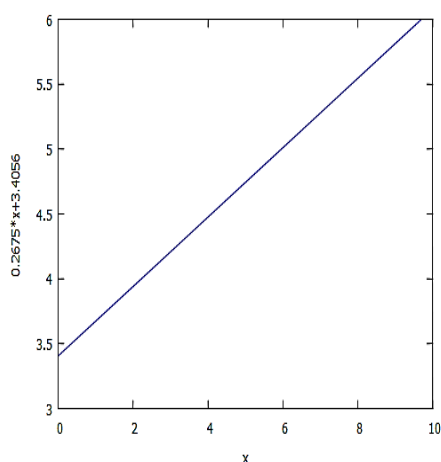


Рис. 1. Зависимость между численностью бактерий в почве и дозами дефеката

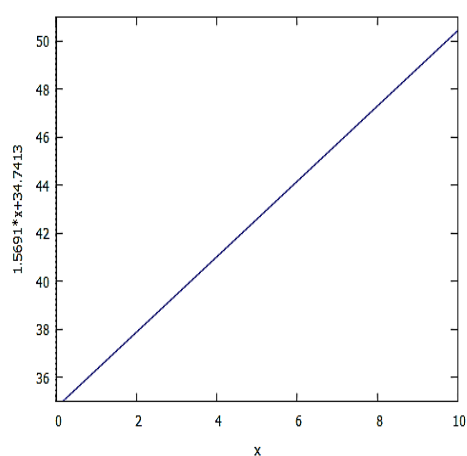


Рис. 2. Зависимость между численностью грибов в почве и дозами дефеката

Заключение. На основании проделанной работы, можно сделать вывод о том, что внесение удобрений не влияло на угнетение почвенных микроорганизмов. Изменение кислотности почвы в результате внесения дефеката не приводило к подавлению бактерий и дрожжей в пахотном слое почвы, а наоборот способствовало их увеличению.

Установлено, что заметно повышается численность бактерий в почве с 3,21 до 5,78 млн. шт./г абсолютно сухой почвы и количество грибов с 35,1 до 49,33 тыс. шт/г абсолютно сухой почвы.

Библиографический список

1. Зубкова Т.В., Виноградов Д.В. Свойства органоминерального удобрения на основе куриного помета и применение его в технологии ярового рапса на семена // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 1 (53). С. 46-54.
2. Щур А.В., Виноградов Д.В., Валько В.П. Влияние различных уровней агроэкологических нагрузок на биохимические характеристики почвы // Юг России: экология, развитие. 2016. Т. 11. № 4. С. 139-148.

3. Щур А.В., Валько В.П., Виноградов Д.В. Влияние способов обработки почвы и внесения удобрений на численность и состав микроорганизмов // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. № 3. С. 41-44.

4. Zhulina M. A., Stultseva N.N. Evaluation of agrotechnical efficiency of vermicompost obtained during processing of defecate and beet pulp // International Journal of Civil Engineering and Technology. 2019. 10(1). 777-786.

5. Perepelitsa O., Petrenko T., Samchuk A., Semenenko M. P. Investigation of reactions to sugar processing-juice defecation sludgefordrxide materials and fertilization // Bioresources and Nature Management. 2016. 8(5-6). 3-3.

АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ МИКРОБИОМА ЧЕРНОЗЁМА ТИПИЧНОГО

Индоиту Д.Д.

¹Институт Микробиологии и Биотехнологии Академии наук Молдовы,
г. Кишинёв, Республика Молдова

Введение. Почвенный микробиом играет важную роль в функционировании экосистем и в процессе производства продовольствия. Большинство почвенных микроорганизмов являются некультивируемыми (до 99 %) и не могут быть идентифицированы методами культивирования на питательных средах [6]. Только после внедрения современных метагеномных технологии появилась возможность оценить структуру микробного сообщества *in situ* [1, 2]. Согласно некоторым исследованиям в 10 граммах почвы может находиться до 10^6 видов бактерий и архей [7]. Влияние различных факторов на таксономическое разнообразие почвенного микробного сообщества изучено недостаточно, а в условиях Молдовы такие исследования проводятся впервые.

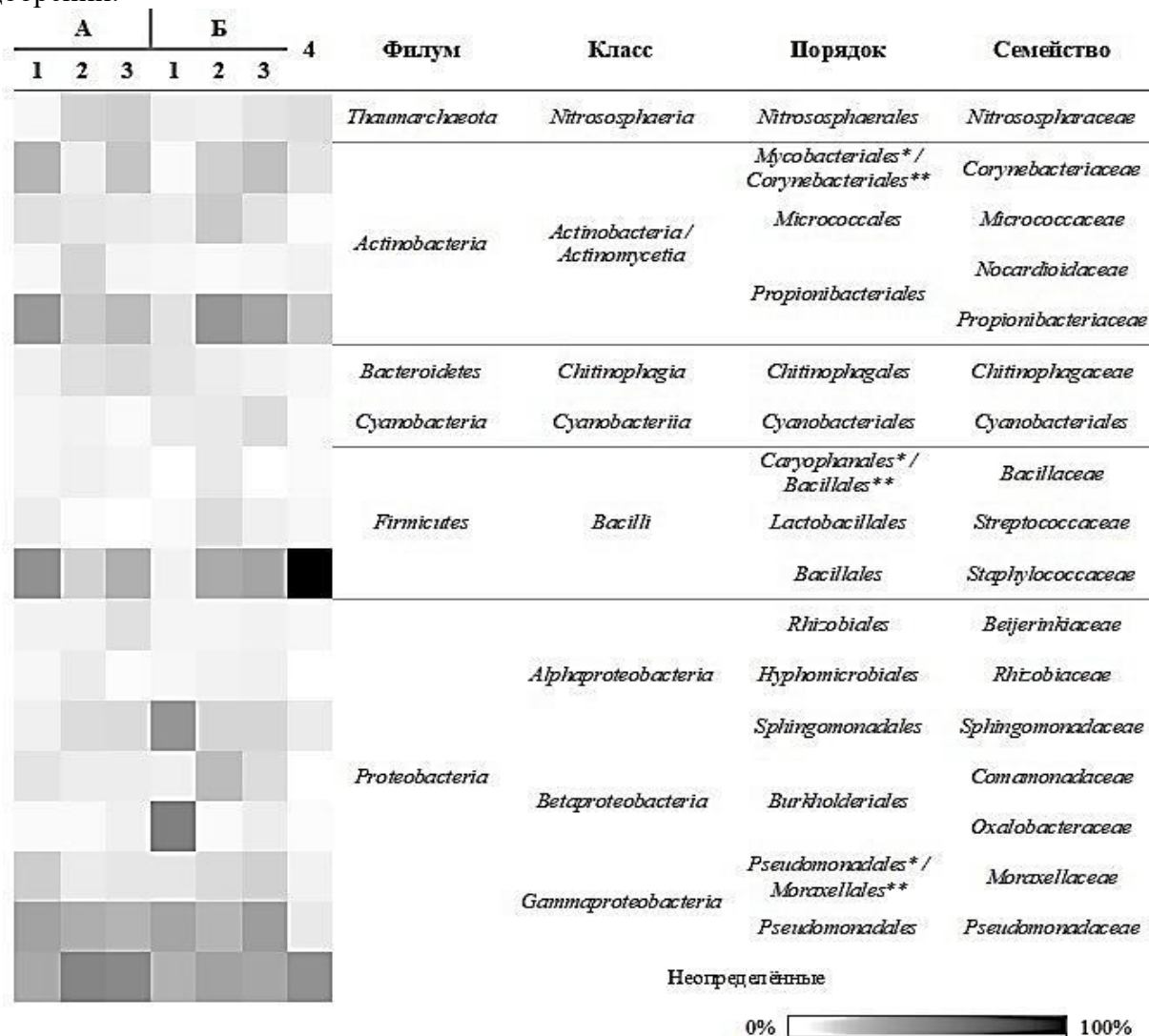
Материалы и методы. Исследования проводились в 2020 году в длительном стационарном опыте «Биотрон» (с 1995 г, г. Кишинёв, Центральная зона Республики Молдова). Анализировалась таксономическая структура почвенных прокариотных сообществ в двух контрастных кормовых севооборотах и на 3-х вариантах: 1 - контроль (без удобрений); 2 - минеральный фон (с применением минеральных удобрений); 3 - фон с органикой (навоз КРС), а также в почве прилегающей лесополосы. Почва – чернозем типичный слабо гумусированный со следующей характеристикой: содержание гумуса в слое 0-60 см - от 2,2 до 3,4%, содержание P_2O_5 и K_2O в слое 0-20 см - 3,70 и 19,10 мг/100 г почвы соответственно, сумма поглощённых оснований в слое 0-50 см - 28-30 мг-экв/100г почвы, реакция слабощелочная (рН=7,8), удельный вес грунта - 2,6 г/см, пористость - 50-60 %, объемная масса - 1,06-1,30 г/см³. Дозы удобрений компенсировали вынос NPK. Анализировался слой почвы 0-30 см в весенний период.

Метагеномный анализ почвенного микробиома осуществлялся в рамках научно-исследовательского проекта 20.80009.5107 «Эффективное использование почвенных ресурсов и микробного разнообразия за счет применения элементов биологического (органического) земледелия» с применением технологии высокопроизводительного секвенирования, т.е. «считывания» нуклеотидных последовательностей в нуклеиновой кислоте. Молекулярно-генетический анализ проводились с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия. Полученные данные пока являются предварительными.

Результаты и их обсуждение. Основная часть микробного сообщества исследуемого чернозёма типичного представлена следующими бактериальными филумами: *Proteobacteria*,

затем в порядке убывания *Actinobacteria* и *Firmicutes*, *Cyanobacteria* и *Bacteroidetes*. Исключением для протеобактерий была почва лесополосы, где их содержание было невысоким. Было отмечено доминирование актинобактерий семейства *Propionibacteriaceae* на неудобренном варианте в севообороте с люцерной и на варианте с применением минеральных удобрений в севообороте без люцерны (15,7 и 16,5 % соответственно). Доля других бактериальных филумов не превышала 1,7 %.

Обнаружен только один филум домена архей – *Thaumarchaeota*, (3,7 % в весенний период). Семейство *Nitrososphaeraceae* является новым и принадлежит к новому классу архей *Nitrososphaeria* [5]. Так, представитель этого семейства *N. Viennensis* известен способностью к преобразованию азота (аммиака NH_3 в нитриты NO_2^-) и стал первым окисляющим аммиак представителем архей, когда-либо выделенным из почвы в чистой культуре [5]. Содержание *Thaumarchaeota* в микробиоме исследуемого чернозёма типичного возросло на удобренных фонах в севообороте с люцерной (рис. 1). В севообороте без люцерны тенденция к существенному увеличению содержания микроорганизмов этого филума на органическом фоне сохранялась, но была почти в два раза меньше, чем в севообороте с люцерной, причём на минеральном фоне содержание было даже немного ниже, чем на фоне без применения удобрений.



*- в номенклатуре LPSN <https://lpsn.dsmz.de/>

** - NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>

Рис. 1. Тепловая карта доминирующих таксонов микробиома чернозёма типичного на разных фонах: А – севооборот с люцерной, Б – севооборот без люцерны, 1 – без удобрений, 2 – минеральный фон, 3 – фон с органикой, 4 – лесополоса.

Также наблюдались изменения в содержании и других бактериальных сообществ в зависимости от вида землепользования. Обнаружено довольно высокое по сравнению с другими вариантами содержание бактерий порядка *Bacillales* (филум *Firmicutes*) в почве лесополосы (48,5 %).

Представители филума *Bacteroidetes* участвуют в процессе минерализации растительных остатков, а в семействе *Chitinophagaceae* встречаются микроорганизмы, стимулирующие рост, и микроорганизмы, подавляющие рост грибных патогенов растений [4]. В наших исследованиях наблюдалось увеличение *Bacteroidetes* на удобренных фонах севооборота с люцерной с наибольшим содержанием на фоне с органикой (3,1 %). В севообороте без люцерны это содержание снизилось на удобренных фонах.

Бактерии, принадлежащие к филуму *Cyanobacteria*, известны своей способностью участвовать в образовании органического вещества, фиксировать атмосферный азот, повышать доступность фосфора и других элементов, выделять фитогормоны и токсины, оказывать противозероизионную деятельность [3]. Содержание *Cyanobacteria* в исследуемой почве было невысоким (1,6 %), с максимальным содержанием на фоне с органикой в севообороте без люцерны.

Количество неопределённых микроорганизмов было наибольшим на удобренных вариантах севооборота с люцерной (21-22 %) и наименьшим на неудобренных вариантах.

Заключение. Анализ таксономической структуры почвенного микробного сообщества чернозёма типичного Центральной зоны Молдовы выявил доминирующее присутствие 5 филумов бактерии (*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Cyanobacteria* и *Bacteroidetes*) и одного археотного филума. Протеобактерии доминировали во всех изучаемых вариантах, за исключением почвы лесополосы.

Присутствие в севообороте люцерны оказало существенное влияние на количество архей филума *Thaumarchaeota* на удобренных фонах, максимум наблюдался на фоне с органикой. Определено высокое по сравнению с другими вариантами содержание бактерий порядка *Bacillales* филума *Firmicutes* в почве лесополосы.

Благодарность. Исследования выполнялись в рамках научно-исследовательского проекта 20.80009.5107 «Эффективное использование почвенных ресурсов и микробного разнообразия за счет применения элементов биологического (органического) земледелия».

Библиографический список

1. Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические аспекты исследований в экологии и микробиологии. Москва : Изд-во Моск. ун-та, 2010. 47 с.
2. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays / N. Fierer, J. A. Jackson, R. Vilgalys, R.B. Jackson // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. V. 71. P. 4117-4120.
3. Cyanobacteria as a “green” option for sustainable agriculture / R. Prasanna, A. Sood, S.K. Ratha, P.K. Singh // *Cyanobacteria: an economic perspective. I.* / Naveen K. Sharma, Ashwani K. Rai and Lucas J. Sta (eds.). 2014. Ch. 9. P. 145–166.
4. Niche partitioning of bacterial communities in biological crusts and soils under grasses, shrubs and trees in the Kalahari / D.R. Elliott, A.D. Thomas, S.R. Hoon, R. Sen // *Biodiversity Conservat.* 2014. № 23(7). P. 1709-1733.

5. *Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum *Thaumarchaeota* / M. Stieglmeier, A. Klingl, R. J. Alves, K. M. R. Simon, M. Melcher, N. Leisch, C. Schleper // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2014. № 64. P. 2738-2752.

6. Phylogenetic identification and in-situ detection of individual microbial cells without cultivation / R.I. Amann, W. Ludwig, K.H. Schleifer // *Microbiol. Rev.* 1995. № 59. P. 143-169.

7. Prosser J.I. Dispersing misconceptions and identifying opportunities for the use of ‘omics’ in soil microbial ecology // *Nat. Rev. Microbiol.* 2015. V. 13. № 7. P. 439-446.

РИЗОБАКТЕРИИ – АКТИВНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.)

Кадырова Г.Х., доктор биологических наук;

Абдуллаев А.А., кандидат биологических наук

**Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан**

Введение. Бактерии, способствующие значительному улучшению роста и развитию растений, в настоящее время принято обозначать как PGPR (от Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) – ризобактерии, способствующие росту растений. Обычно в ризосфере растений обнаруживается в 10 - 100 раз больше бактерий, чем в основной массе почвы. Ризосфера населена разнообразными микроорганизмами, и бактерии, колонизирующие эту среду обитания, называются ризобактериями. Состав микробных сообществ ризосферы отличается у разных растений, хотя до сих пор не удается обнаружить строгой приуроченности. Отмечено, что в ризосфере пшеницы наиболее часто встречаются бактерии, представленные родами *Bacillus* и *Pseudomonas* [1, 2]. Кроме бацилл и псевдомонад часто обнаруживаются представители родов *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azoarcus*, *Azomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Derxia*, *Herbaspirillum*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Arthrobacter* [2, 3].

В мире пшеница (*Triticum* spp.) является одной из самых важных сельскохозяйственных культур и основным продуктом питания более 35% населения мира, поскольку дает больше калорий и белков, чем любая другая культура. В последнее время возрастает интерес к полезным ризобактериям, связанным со злаками, некоторые исследования демонстрируют положительное влияние ризобактерий на рост и урожайность различных культур, особенно пшеницы возделываемых в различных экологических условиях [4, 5]. Соответственно, изучение местной бактериальной популяции, их характеристики и идентификация необходимы для понимания распределения и разнообразия местных штаммов бактерий в ризосфере конкретных культур.

Целью данной работы является исследование ростостимулирующей способности местных штаммов ризобактерий пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в лабораторных экспериментах.

Материалы и методы. В исследовании использованы местные штаммы ризобактерий изолированные в чистую культуру из ризосферы пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта

«Дустлик» и «Гром» возделываемой в Сырьдаринской области Республики в фазе цветения-колошения растений.

Определение ростостимулирующей активности местных штаммов ризобактерий производили в биотестах с семенами пшеницы сорта «Унумдор бугдой» и «Чиллаки». Далее, влияние местных штаммов ризобактерий *Pseudomonas aeruginosa* C10, *Bacillus pumilus* C16, *Bacillus cereus* C19 и *Bacillus subtilis* C27 на рост и развитие пшеницы изучали в условиях микровегетационного опыта в пробирках объемом 60 мл на смеси песка и почвы в соотношении 1:3. Семена пшеницы инокулировали культуральной суспензией четырехсуточной культуры бактерий, с плотностью 10^6 кл /мл. Растение выращивали при температуре 26 °С в теплице при световом режиме 16 час и 1500 лк в течение 25 суток. Повторность опытов 3-кратная. Оценку ростостимулирующего действия изучаемых культур производили путем измерения длины стебля и корней, обработанных бактериальной суспензией, и соответствующих показателей в контроле. При определении морфометрических параметров длину стебля и корня в контрольной группе принимали за 100%. Для определения продукции индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), штаммы ризобактерий высевали на соответствующие среды с триптофаном (1, 1,5 и 2 мг/мл) и без триптофана, инкубировали при 28°C в течение 5 сут. Культуры центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 мин. 2 мл супернатанта смешивали с 8 мл реагента Сальковского (50 мл HClO₄; 10 мл 0,5 М FeCl₃) [6]. Развитие розовой окраски свидетельствует о продукции IAA. O.D определяли при 530 нм с использованием Spectronic 200. Уровень продуцируемой ИУК оценивали по стандартному графику ИУК (Serva).

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что культуры *P. aeruginosa* C10, *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27 стимулировали энергию прорастания обработанных семян пшеницы сорта «Чиллаки» на 13,9; 12,7; 11,6 и 12,9%, соответственно к контролю. Показано, что инокуляция семян пшеницы сорта «Чиллаки» и «Унумдор бугдой» культурами ризобактерий оказывает положительное влияние на их всхожесть. В варианте обработки семян пшеницы сорта «Чиллаки» ризобактериями стимулирование всхожести составляет 4-7%, а в варианте обработки семян пшеницы сорта «Унумдор бугдой» - 5-6%.

Далее о наличии или отсутствии фитостимулирующей способности исследуемых штаммов судили при сравнении длины надземной части и длины корней проростков, обработанных соответствующим разведением в опытном и контрольном вариантах. В условиях микровегетационного опыта показано, что местные штаммы ризобактерий стимулируют рост корневой системы и наземных органов пшеницы сорта «Чиллаки» и «Унумдор бугдой». Следовательно, исследуемые ризобактерии *P. aeruginosa* C10, *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27 стимулируют рост и развитие наземных органов пшеницы сорта «Чиллаки» и «Унумдор бугдой» на 12,9; 19,3; 28,1; 51,7% и 12,1; 18,1; 12,1; 18,1% соответственно по отношению к контролю. Следует отметить, что эффективные культуры *B. pumilus* C16 и *B. cereus* C19 стимулировали длину корневой системы пшеницы сорта «Чиллаки» на 51,7% и 60,7%, к контролю. Вероятно, это связано с наличием в культуральной жидкости ризобактерий активных метаболитов, в частности индолил-3-уксусной кислоты. Показано, что активные ростостимулирующие штаммы ризобактерий в течение 5 дней культивирования продуцируют ИУК в количестве от 10,24 мкг/мл до 14,32 мкг/мл.

Заключение. Полученные данные на этом этапе согласуются с тем, что основные механизмы положительного влияния ризобактерий на жизнедеятельность растений, которые можно условно разделить на два типа: 1) прямая или непосредственная стимуляция роста

растений за счет синтеза стимуляторов роста (фитогормонов и других метаболитов) и улучшения питания растений; 2) опосредованная стимуляция роста растений за счет вытеснения и подавления развития почвенных фитопатогенных микроорганизмов (микроскопических грибов и бактерий) [7, 8].

Таким образом, в ходе проделанных исследований были отобраны четыре перспективных штаммов ризобактерий *P. aeruginosa* C10, *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27, обладающих ростостимулирующей активностью для дальнейшего создания на их основе высокоэффективных микробиологических препаратов для растениеводства.

Библиографический список

1. Hayat, R., S. Ali, U. Amara, R. Khalid & I. Ahmed (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology* 60: 579–598.
2. Ma´rcia do Vale Barreto Figueiredo, Lucy Seldin, Fabio Fernando de Araujo, and Rosa de Lima Ramos Mariano Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications. 2010. In book: Plant Growth and Health Promoting Bacteria (pp.21-43).
3. Velázquez-Sepúlveda I, MC Orozco-Mosqueda, CM Prieto-Barajas, G Santoyo Bacterial diversity associated with the rhizosphere of wheat plants (*Triticum aestivum*): Toward a metagenomic analysis *FYTON*. (2012) 81: 81-87.
4. Afshan Majeed, M. Kaleem Abbasi, Sohail Hameed, Asma Imran and Nasir Rahim Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Front. Microbiol.*, 17 March 2015.
5. Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front Plant Sci* 2018; 9:1473.
6. Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and Fluorescent *Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan // *Turk. J. Biol.* 2005. V.29. P.29-34.
7. Couillerot O., Ramírez-Trujillo A., Walker V., von Felten A., Jansa J., Maurhofer M., Défago G., Prigent-Combaret C., Comte G., Caballero-Mellado J., Moënne-Loccoz Y. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*-*Pseudomonas*-*Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, vol. 9, no. 7, pp. 4639–4649.
8. Chowdhury S.P., Hartmann A., Gao X-W., Borriss R. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Front. Microbiol.*, 2015, vol. 6, art. 780, pp.1–11.

ИНГИБИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ИНДОЛПРОИЗВОДНЫХ ДИБЕНЗО-18-КРАУН-6 К БИОКОРРОЗИИ НЕФТЯНОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Козинская Л.К., доцент, доктор философии¹; Мирхамитова Д.Х., профессор, доктор химических наук¹; Нурмонов С.Э., профессор, доктор технических наук¹; Мавлоний М.И., академик, доктор биологических наук²

¹Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека,

² Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. Металлоконструкции нефтяного оборудования подвержены коррозионным повреждениям. Потери от биокоррозии составляют ежегодно до 10 % годового бюджета нефтедобывающих стран [1], поскольку промышленность теряет сотни-тысяч тонн металла. Современные исследования убедительно доказывают не только участие, но и первостепенную роль микроорганизмов в коррозионном процессе [2].

На предприятиях НХК «Узбекнефтегаз», а именно нефтяных месторождениях Зафар, Шода, Тошкудук, Маржон наиболее активными участниками процессов биокоррозии нефтепромысловых трубопроводов в условиях жаркого резко-континентального климата Центральной Азии являются представители семейств бактерий [3]:

Pseudomonaceae, *Rhodococcaceae*, *Vibrionaceae*,
Micrococcaceae *Desulfovibrioceae* *Bacillus subtilis* и др.

Выявление коррозионных процессов, изучение их возбудителей и поиск ингибиторов имеет исключительно важное значение для безопасной и надежной эксплуатации нефтяных скважин и трубопроводов [4,5].

Материалы и методы. В качестве биоингибиторов коррозии использованы 4 индолпроизводных дибензо-18-краун-6:

1. бисиндол-18-краун-6
2. 7'7''-диметилбисиндол-18-краун-6
3. 7'7''-диэтилбисиндол-18-краун-6
4. 7'7''-ди-*n*-пропилбисиндол-18-краун-6

Микробиологическую активность проверяли на твердой и жидкой среде Раймонда. Состав жидкой и твердой минеральной среды Раймонда (г/мл): KNO₃-1.0; NaHPO₄- 0.8; KPO 0.14; MgSO₄- 0.1; NaCl- 1.0; вода дистиллированная - 1 часть; 1-1.5% стерильной нефти. Чашки Петри с посевом инокулировали в термостате при температуре 20-30 °С, затем и в политермостате. Культивирование проводили на круговых качалках при 160 об/мин.

В стерильные чашки Петри вносили по 1 мл каждого разведения исследуемого препарата. В контрольные чашки вносили по 1 мл разбавителя, используемого для получения разведений. В чашки Петри, как в эксперименте, так и в контроле, добавляли по 10 – 15 мл расплавленного и охлажденного до температуры (42,5 ± 2,5) °С соево-казеинового агара или среды № 1, в другие – такое же количество агара Сабуро или среды № 2 и тщательно перемешивали. После застывания агара чашки подсушивали в термостате или ламинарном шкафу для удаления конденсата с поверхности среды, на которую затем бактериологической петлей, пипеткой или репликатором наносили рабочую взвесь каждого тест-штамма бактерий и грибов в виде бляшек. Посевы на средах инкубировали в стандартных условиях в течение 48 ч для бактерий.

Результаты и их обсуждение. Проведены микробиологические исследования индолкраун-эфиров в качестве ингибиторов металлоконструкций нефтяной промышленности. Единственным источником углерода и энергии служило стерильное дизельное топливо.

Таблица 1 – Патогенное кольцо роста микроорганизмов

Образцы	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Fusarium sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>
	Патогенное кольцо роста(мм)			
1	Антагонизм не сформировался	Антагонизм не сформировался	Антагонизм не сформировался	Антагонизм не сформировался
2	3-6	13-14	19-21	21-22
3	5-7	12-13	15-25	17-22
4	Антагонизм не сформировался	Антагонизм не сформировался	Антагонизм не сформировался	Антагонизм не сформировался

В ходе первичных исследований выявлено, что образцы 2 и 3 производных индолкраун-эфиров проявляют выраженную микробиологическую активность против бактерий рода *Pseudomonaceae*, *Bacillus subtilis* и патогенных грибов *Fusarium* и *Aspergillus*.

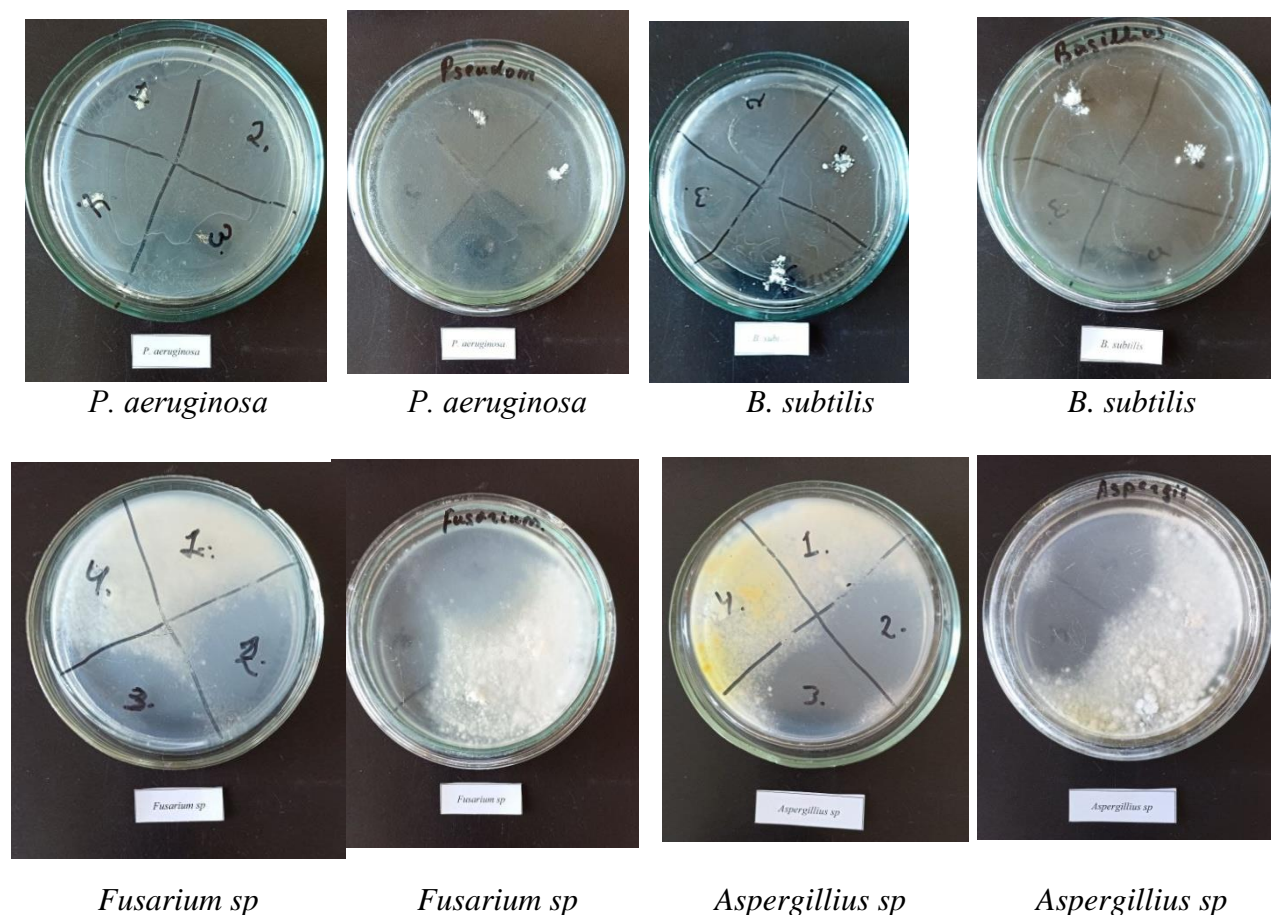


Рис. 1. Результаты влияния образцов на патогенные бактерии и грибки.

Заключение. Соединения 7'7''-диметилбисиндол-18-краун-6 и 7'7''-диэтилбисиндол-18-краун-6 рекомендованы для дальнейших исследований в качестве ингибиторов биокоррозии металлоконструкций нефтяной промышленности в условиях жаркого климата.

Библиографический список

1. Мясоедова М.Н., Насыбуллина А.Ш. Микрофлора нефтяных месторождений // Актуальные проблемы химии и нефтехимии. 2011. №1. С.309-313.
2. Тимергазина И.Ф. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмам // Нефтегазовая геология. Теория и практика – 2012. №1. С. 7.
3. Мавлоний М.И. Биологические и физико-химические свойства противокоррозионных биоцидов для нефтегазовой промышленности // ДАН РУз 2013, №1. С. 65-67.
4. Баландина А.В., Еремченко О.З., Одегова Т.Ф. Микробная ремедиация техногенных поверхностных образований Керженецкой нефтебазы // Фундаментальные исследования. 2013. № 10 (ч. 2) С. 328–333.
5. Старовойт Т.А., Голодяев Г.П. Консорциум штаммов микроорганизмов-деструкторов: *Alcaligenes denitricans*, *Bacillus species*, *Pseudomonas putida*, *Aeromonas species* для очистки почв, почвогрунтов, вод от нефти, нефтепродуктов и остаточной замазученности // Патент России № 2115629. 1996.

ВЛИЯНИЕ NaCl НА ПРОДУКЦИЮ ИНДОЛ-3 УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ЭНДОФИТНЫМИ ГРИБАМИ, АССОЦИИРОВАННЫМИ С РАСТЕНИЯМИ-ГАЛОФИТАМИ

**Кондрашева К.В.¹, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук;
Гулямова Т.Г.¹, профессор, доктор биологических наук;
Суярова Р.А.¹; Тожиев Б.Б.²**

¹**Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан**

²**Национальный Университет Узбекистана им. М. Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан**

Введение. Засоление почв является серьезным фактором, сдерживающим развитие сельского хозяйства, животноводства и лесного хозяйства повсеместно в мире [7]. Для снижения последствий засоления почв в последние годы специалисты стараются применять экологичные и безопасные методы, позволяющие снижать концентрацию солей и обогащать почву полезными веществами с помощью комплексов растений и микроорганизмов отдельно или в комбинации [4, 5]. В настоящее время имеется достаточно убедительных доказательств того, что толерантность растений к абиотическому стрессу может быть вызвана повсеместно распространенными микроорганизмами, которые живут во взаимовыгодных отношениях с растениями [6]. В частности, хорошо известно, что эндофиты, населяющие ткани растений-хозяев, рассматриваются как выдающийся источник биоактивных натуральных продуктов с огромным потенциалом в медицине и сельском хозяйстве [3]. Это всецело относится и к сообществам растений-галофитов и населяющих их эндофитных грибов.

Ранее нами было выделено 35 галотолерантных грибных изолята из 4 надземной и корневой части солеустойчивых растений Бухарской области Узбекистана (*Aeluropus litoralis*, *Climacoptera crassa*, *Halocnemum strobilaceum*, *Suaeda heterophylla*) и оценена их способность к синтезу индол-3 уксусной кислоты (ИУК) в условиях сильного солевого стресса (10% NaCl в среде) [2]. **Целью** настоящего исследования явилось сравнение продукции ИУК на средах без добавления соли в среду и при внесении 5% натрия хлорида в динамике.

Материалы и методы. Грибы выращивали в колбах с жидкой средой Чапека-Докса с добавлением NaCl в концентрации 5% и без добавления соли, при непрерывном вращении на круговой качалке (180 об/мин) при 28°C ±2°C. Отбор проб культуральной жидкости проводили в асептических условиях на 7, 10 и 14 сутки и центрифугировали при 3 тыс. об/мин 15 мин для осаждения биомассы. Концентрацию ИУК измеряли на спектрофотометре Metash UV-5100 при длине волны 540 нм по методу Сальковского [1].

Результаты и их обсуждение. В результате эксперимента изучена способность 35 эндофитных грибов, выделенных из галофитов, продуцировать ИУК в культуральную среду, а также показана динамика выхода фитогормона в зависимости от времени культивирования и наличия или отсутствия соли в среде.

Анализ динамики накопления ИУК в культуральной жидкости (КЖ) показал, что всего 2 эндофита синтезируют наибольшее количество ИУК на 7 сутки от начала культивирования: 1 на среде с солью, 1 на среде без соли. На 10 сутки культивирования максимальный выход ИУК наблюдался у 12 культур: у 3 на солесодержащей среде, у 9 на среде без натрия хлорида. На 14 сутки максимальная продукция ИУК обнаруживалась в культуральной жидкости 21 изолята (57%): 6 на среде с NaCl, 15 на среде без добавления соли. 25 эндофитов лучше продуцировали фитогормон на среде без соли, 10 грибов – на среде с солью. Данные на рисунке 1 отражают день и среду максимального накопления ИУК.

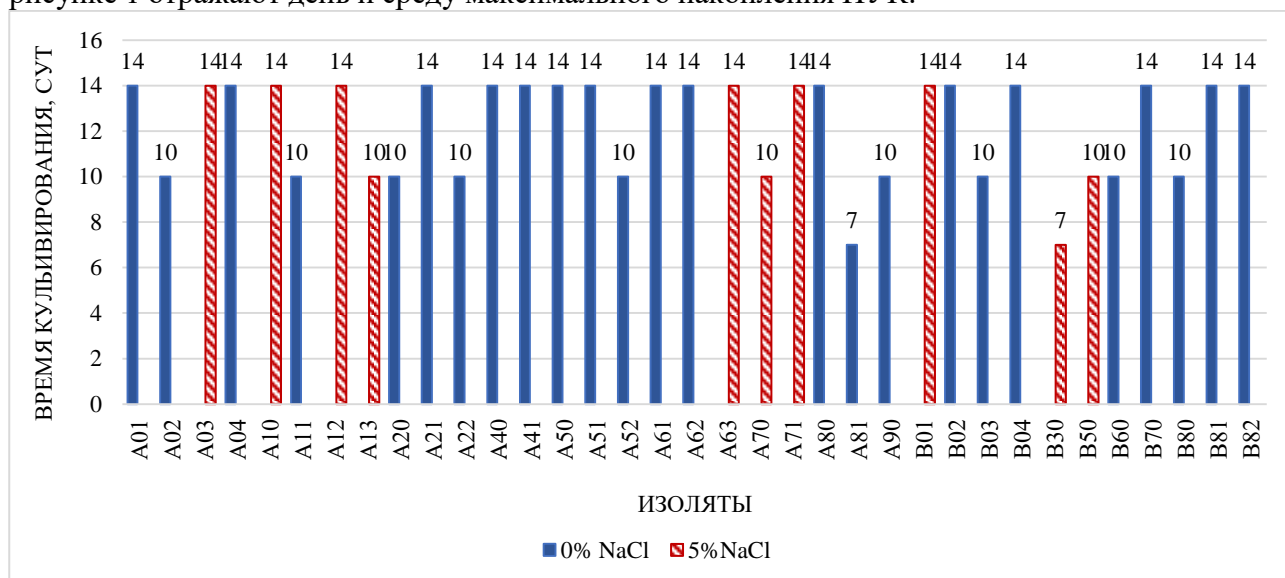


Рис. 1. Зависимость максимального уровня накопления ИУК от времени культивирования и наличия соли в среде.

Далее нами был изучен характер накопления ИУК в КЖ, в зависимости от наличия или отсутствия соли в среде. Большинство изолятов на среде, содержащей 5% натрия хлорида, продуцируют меньше фитогормона, чем на среде без соли. В присутствии соли 32 эндофита накапливали от 0,0 мкг/мл до 12,67 мкг/мл ИУК, тогда как без соли уровень фитогормона составлял от 0,5 мкг/мл до 18,5 мкг/мл.

Среди общего числа эндофитов особого внимания заслуживают 6 изолятов, которые проявляли наибольшую ИУК-синтезирующую активность по сравнению с другими: *Cladosporium sp. A01*, *Cladosporium sp. A02*, *Penicillium sp. A13*, *Penicillium sp. A70*, *Fuzarium sp. A71*, *Cladosporium sp. A80*. 3 культуры накапливали максимальное количество фитогормона на среде с солью, 3 – на среде без соли.

Самый активный продуцент ИУК - гриб *Fuzarium sp. A71* – выделял фитогормон в КЖ в концентрации 73,80 мкг/мл в солесодержащей среде на 14 сутки. 2 других эндофита *Penicillium sp. A13* и *Penicillium sp. A70* также продуцировали относительно высокие концентрации ИУК на 10 сутки на среде с солью: 30,62 мкг/мл и 28,10 мкг/мл соответственно.

Полученные данные интересны в первую очередь с точки зрения понимания возможностей эндофитов существовать и активно функционировать в агрессивных средах, что может иметь прямое отношение к их способности помогать растениям-хозяевам адаптироваться к жестким условиям окружающей среды.

Другие 3 эндофита – активные продуценты ИУК, отнесенные к роду *Cladosporium* (A01, A02 и A80) - лучше синтезировали данное вещество на среде без соли. Сравнительные данные для культур с наиболее высоким выходом фитогормона представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнение ИУК-синтезирующей способности эндофитов в зависимости от времени культивирования и наличия соли в среде

№	Изолят	Концентрация ИУК, мкг/мл					
		7 сут		10 сут		14 сут	
		5% NaCl	0% NaCl	5% NaCl	0% NaCl	5% NaCl	0% NaCl
1	<i>Cladosporium sp. A01</i>	5,74	3,89	2,29	17,34	4,13	41,92
2	<i>Cladosporium sp. A02</i>	36,61	2,87	1,67	44,95	4,33	7,52
3	<i>Penicillium sp. A13</i>	7,70	0,61	30,62	1,28	12,67	6,00
4	<i>Penicillium sp. A70</i>	3,88	1,11	28,10	1,10	0,40	2,40
5	<i>Fuzarium sp. A71</i>	64,75	0,61	64,33	12,94	73,80	11,84
6	<i>Cladosporium sp. A80</i>	0,98	14,34	0,86	23,39	4,93	28,56

Заключение. В результате скрининга активности 35 эндофитных грибов, выделенных из растений-галофитов Бухарской области, Узбекистан, показана способность культур продуцировать ИУК как в отсутствии соли в среде культивирования, так и при ее наличии. Для каждого изолята показана динамика накопления индол-3 уксусной кислоты и определено время максимального ее выхода в культуральную жидкость. Три изолята, показавшие относительно высокую синтезирующую активность на среде с натрием хлоридом, несомненно, являются претендентами для изучения их роли в адаптации растений к условиям засоления. Описанные культуры вместе с тремя другими эндофитами, отличавшимися повышенным накоплением ИУК в среде без соли, могут быть рассмотрены, как потенциальные объекты для разработки биологических препаратов и дальнейшего применения в растениеводстве.

Библиографический список

1. Свойства бактерий, стимулирующих рост растений (plant-growth promoting rhizobacteria (pgpr)): учебно-методическое пособие под ред. Шарипова М.Р. Казанский (Приволжский) Федеральный Университет. Казань, 2015. 19 с.
2. Эгамбердиев Ф.Б., Одилова Х.А., Кондрашева К.В. Некоторые метаболиты галотолерантных эндофитных грибов, выделенных из растений-галофитов. Республиканская научная конференция “O‘zbekistonda Mikrobiologiya Va Mikrob Biotexnologiyasining O‘rni Va Uni Yanada Rivojlantirish Istiqbollari”, Ташкент 17 ноября 2021 г.
3. Aly AH, Debbab A, Kjer J, Proksch P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products, *Fungal Diversity*, 2010; 41, 1-16.
4. Bandou E., Lebailly F., Muller F., Dulormne M., Toribio A., Chabrol J., Courtecuisse R., Plenchette C., Prin Y., Duponnois R., Thiao M., Sylla S., Dreyfus B., Ba A.M. The ectomycorrhizal fungus *Scleroderma bermudense alleviates* salt stress in seagrape (*Coccoloba uvifera L.*) seedlings. *Mycorrhiza*. 2006; 16:559-565.

5. Munns, R. Genes and salt tolerance: Bringing them together. *New Phytol.* 2005;167:645-663.
6. Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Kogel K.-H. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005;102:13386-13391.
7. Yan Xie, Shijuan Han, Xiaoning Li, Erick Amombo, Jinmin Fu. Amelioration of Salt Stress on Bermudagrass by the Fungus *Aspergillus aculeatu*. *MPMI* 2017;30(3):245–254. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-12-16-0263-R>

АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ПУТЕШЕСТВЕННИКОВ

Котелевец Е.П.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия

Введение. В последние годы на фоне процессов глобализации активно распространяются некоторые инфекционные заболевания. За последние десятилетия обнаружено более множество новых, преимущественно, зоонозных нозологий. Эта неблагоприятная ситуация поддерживается за счёт роста численности населения, преимущественно городского, освоения новых территорий, значительного ухудшения состояния окружающей среды, увеличение числа военных конфликтов и локальных войн, беженцев, развития туризма. Развитие транспортного сообщения, в том числе международного, способствует распространению возбудителей и переносчиков по другим странам, чаще регистрируются завозные случаи инфекционных и паразитарных заболеваний, зачастую с неблагоприятным исходом. Для практикующего врача в современном мире знание болезней путешественников является необходимым условием успешной работы.

Целью нашего исследования явилось изучение возможных проблем, связанных с выявлением болезней путешественников.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели выполнен обзор литературных источников по изучаемой тематике.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что среди нозологий данной группы часто регистрируются трансмиссивные болезни, передающиеся при укусе комаров (малярия, жёлтая лихорадка, арбовирусные геморрагические лихорадки Денге, Чикунгунья, Зика, энцефалиты Японский и Западного Нила; филяриозы); передающиеся при укусе mosquitos (лейшманиозы); клещами (бабезиоз, риккетсиозные лихорадки); мухой цеце (африканский трипаносомоз) и триатомовыми клопами (американский трипаносомоз).

Довольно часто регистрируются заболевания, передающиеся через заражённую пищу и воду (холера, сальмонеллезы, кампилобактериозы, гепатиты А и Е, энтеровирусные инфекции, амёбиаз, криптоспоридиоз, шистосомозы).

Установление этиологического фактора болезней путешественников весьма затруднительно. В Российской Федерации структура, подобная Travel medicine, имеющаяся в странах Европы, отсутствует, а профилактика завозных болезней осуществляется в основном в рамках надзора за инфекциями, на которые распространяются Международные медико-

санитарные правила. Исследования, необходимые для верификации диагноза, зачастую проводятся не в полном объеме и при условии госпитализации пациента в инфекционную больницу или инфекционное отделение стационара. Также лаборатории не всегда располагают необходимым набором диагностических систем для идентификации возбудителей тропических и редких инфекций. Затягивает и исключает возможность 100%-ной диагностики низкая обращаемость заболевших к врачам страны путешествия из-за финансовых проблем или отсутствия медицинской страховки. В связи с этим обстоятельством заболевшие зачастую идут в аптеку, надеясь там получить грамотные советы по выбору лечебных медикаментозных препаратов.

Практикующие врачи, на наш взгляд, имеют низкую степень настороженности в отношении данной группы заболеваний по ряду причин. Например, отсутствие в программах подготовки на базовом и последипломном уровне обучающих программ по медицине путешествий; недостаточная информированность медицинских работников об эпидемиологической ситуации в той или иной стране мира; отсутствие медицинского персонала в штате туроператора и в туристических агентствах, что затрудняет реализацию необходимого минимума профилактических мероприятий среди туристов.

Заключение. Необходимо чаще напоминать практикующим врачам, руководителям лечебных учреждений и клиничко-диагностических лабораторий о настороженности в отношении завозных случаев, необходимости иметь в наличии диагностические наборы, питательные среды, тест - системы, в том числе для экспресс-диагностики, требуемые для выявления завозных патогенов; напоминать фармацевтам о недопустимости самолечения среди заболевших и необходимости постановки этиологического диагноза заболевшим путешественникам. Адекватные советы медицинских работников по грамотной неспецифической и специфической профилактике возможных заболеваний, достаточная информированность путешественников о возможных инфекциях помогут значительно снизить количество завозных случаев заболеваний и исключить отрицательные эмоции туристов, связанные с посещением той или иной страны.

Библиографический список

1. Голубовская О.А., Шкурба А.В. Особенности лечения пациентов с острыми кишечными инфекциями во время диареи и в восстановительном периоде. Клиническая инфектология и паразитология. 2016. Т. 5. № 4. С. 419-425.
2. Ермоленко К.Д., Комарова А.М., Драп А.С., Раздьяконова И.В. Диарея путешественников у детей. Фарматека. 2016. № 11 (324). С. 88-94.
3. Иванов Д.О., Малиновская В.В., Тимченко В.Н., Каплина Т.А., Хакизимана Ж.К. Глобальные и педиатрические аспекты лихорадки Зика. Педиатр. 2016. Т. 7. № 1. С. 129-134.
4. Нечаев В.В., Гардеробова Л.В., Бахтина И.С. Медицина путешествий: современное состояние проблемы и актуальность для отечественной системы здравоохранения. Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20. № 3. С. 277-288.
5. Соломай Т.В. Инфекционная и паразитарная безопасность водных ресурсов при совершении путешествий, туристических и паломнических поездок. Санитарный врач. 2015. № 10. С. 59-62.

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДИНАМИКИ РОСТА И РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ГОРОДСКИХ ПОЧВАХ

Лазутин Н.А., старший научный сотрудник, кандидат биологических наук;
Зайнитдинова Л.И., профессор, доктор биологических наук; Мавжудова А.М., старший
научный сотрудник, кандидат биологических наук; Хегай Т.Б., младший научный
сотрудник; Эргашев Р.Б., младший научный сотрудник
Институт микробиологии АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. Впервые на почву как живую систему, один из ключевых факторов функционирования которой составляют микроорганизмы, обратили внимание основоположники научного почвоведения В.В. Докучаев и П.А. Костычев. Почва как среда обитания и продукт жизнедеятельности микроорганизмов представляет собой сложную систему, включающую разнообразные по физиологии виды, обеспечивающие биологический круговорот веществ, процессы формирования почв и их устойчивость к природным и антропогенным факторам. Этим определяется теоретическое и прикладное значение экологических исследований микробных сообществ [1].

Микробное сообщество представляет единый организм, способный не только чутко реагировать на изменения окружающей среды, но и противостоять внешним воздействиям. В зависимости от типа почвы и ее культурного состояния различия проявляются в значительных колебаниях численности и структуры почвенных микроорганизмов. Наибольшее разнообразие почвенных микроорганизмов наблюдается в черноземах и отдельных подтипах каштановых почв. Высокой численностью микроорганизмов характеризуются также сероземные почвы [2].

Температура может быть одним из главных факторов сезонной динамики микроорганизмов из-за влияния на их физиологическую активность. В тропических и субтропических областях, где в течение года отчетливо выделяется влажный и сухой сезоны, основным фактором сезонной динамики микроорганизмов является влажность [6, 7]. Однако влияние как температуры, так и влажности может быть не только прямым, но и косвенным, через регулирование активности растений. Содержание растворимых органических веществ, в том числе легкодоступных низкомолекулярных соединений в почве значительно изменяется в течение года, обычно достигая максимальных значений весной, в период активного роста растений [5].

Микробные сообщества почвы изменяются в широком диапазоне времени, от часов до тысячелетий. На самых коротких промежутках времени

под влиянием резких изменений почвенных условий или поступления свежего органического вещества преимущественно изменяется активность микроорганизмов. На более длительных промежутках вследствие динамики состава растений и физико-химических свойств почвы (особенно рН) изменяются общая биомасса и таксономическая структура микробного сообщества.

Общее разнообразие (α -разнообразие, видовое богатство) микробных сообществ может как увеличиваться, так и уменьшаться или оставаться неизменным на протяжении почвенных процессов самой разной продолжительности. Очевидно, конкретные схемы изменения микробного разнообразия определяются множеством различных параметров, и выделить единый тренд не представляется возможным [4].

Филогенетическая структура прокариотного сообщества определяется сочетанием экологических условий в почве.

Специфические особенности изменений разнообразия прокариотных сообществ связаны со свойствами отдельных генетических горизонтов и почв в целом [3].

Таким образом, исходя из выше сказанного **целью** настоящей работы являлось определение динамики изменения качественного и количественного состава микробиоценозов различных городских почв в зимний и весенний сезоны.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы почв города Ташкент, отобранные из различных точек – вдоль автотрасс и в рекреационных зонах – в зимний и весенний сезоны.

Отбор проводился из пяти точек методом «конверта» на глубине 10-15 см.

Во время отбора измерялась температура образца и pH.

Для выявления микроорганизмов использовались следующие питательные среды: среда Эшби, среда Эндо, полужидкая среда Гильтая.

Количественный учет микроорганизмов проводился методом предельных десятикратных разведений.

Подсчет микроорганизмов проводился по таблице МакКреди.

Результаты исследования и их обсуждение. Пробы образцов почв отбирались в семи различных зонах города Ташкент (табл. 1).

Таблица 1 – Характеристика мест отбора проб образцов почв

№	Номер пробы	Характеристика места отбора
1	Проба №1	Аллея в жилом квартале между подъездных дорог в центре города
2	Проба №2	Открытый грунт вдоль дороги в центре города
3	Проба №3	Хвойный газон в парке отдыха в центре города
4	Проба №4	Лиственный газон в парке отдыха в центре города
5	Проба №5	Зеленая зона в отдалении от трассы на окраине города
6	Проба №6	Открытый грунт вдоль трассы на окраине города
7	Проба №7	Сквер на берегу канала в центре города

В зимний и весенний сезоны пробы отбирались по фиксированным точкам. Непосредственно перед посевом определялась влажность образцов и проводилась корреляция навески для разведения.

Посев проводился стандартным микробиологическим методом.

Ниже приведены полученные данные по изменению сезонной динамики количества микроорганизмов по основным трем группам.

Следует отметить, что прямой взаимосвязи между количеством выявленных микроорганизмов и местом отбора проб не наблюдается. Однако весьма отчетливо заметна разница по сезонам.

Так, в отношении денитрификаторов, выявлено, что в зимний период количество КОЕ на порядок выше, нежели весной. Однако, в двух зонах картина складывалась обратная.

Примерно такая же ситуация складывается в отношении азотфиксаторов, разница была уже на два порядка (проба №1), но в пробе 3№ наблюдалась диаметрально противоположная картина.

Что же касается бактерий группы кишечной палочки, то с повышением температуры окружающей среды количество микроорганизмов, выявляемых во всех образцах почвы увеличивалось в разы. Непосредственно *Escherichia coli* была обнаружена в концентрации 1000 клеток в 1 г почвы пробы №7 (рис. 1).

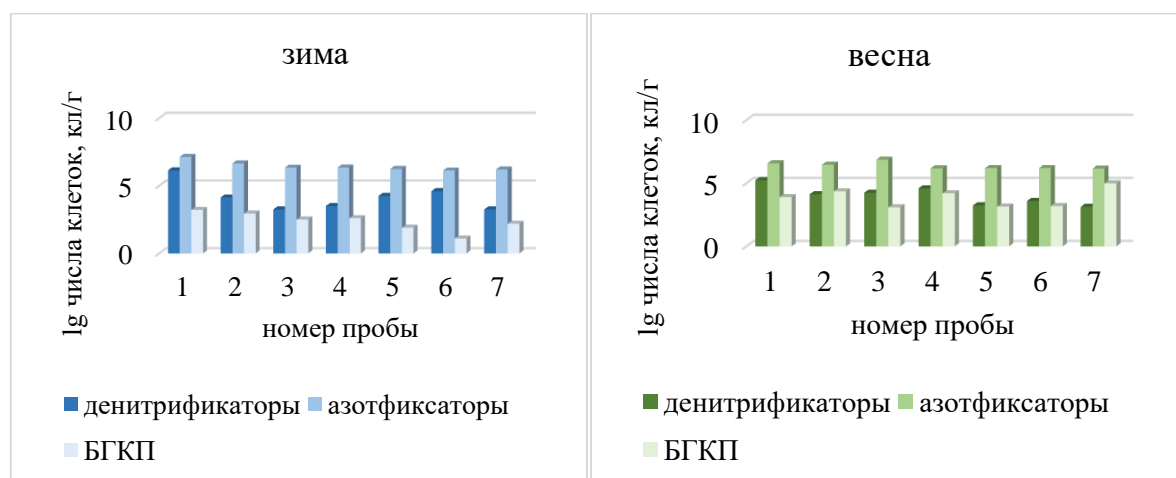


Рис. 1. Динамика развития почвенных микроорганизмов по сезонам

Заключение. Таким образом, можно заключить, что в целом при сезонном прогревании почвы количество микроорганизмов, выявляемых в отобранных образцах растет. А более высокое содержание бактериальных клеток в зимний период в отдельных пробах возможно связано с микроразональным влиянием некоторых факторов, таких как влажность, наличие органических веществ, попадание солнечного света на участки отбора.

Библиографический список

1. Круглов Ю.В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования // Сельскохозяйственная биология. 2016. том 51. 1. С. 46-59.
2. Патыка Н.В., Патыка В.Ф. Современные проблемы биоразнообразия // Корми і кормовиробництво. 2013. Вип. 76. С. 101-109.
3. Тихонович И.А., Чернов Т.И., Железова А.Д., Тхакахова А.К., Андронов Е.Е., Кутовая О.В. Таксономическая структура прокариотных сообществ почв разных биоклиматических зон // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2018. Вып. 95. С. 125-153. doi: 10.19047/0136-1694-2018-95-125-153.
4. Чернов Т.И., Железова А.Д. Динамика микробных сообществ почвы в различных диапазонах времени (обзор) // Пчвоведение. 2020. № 5. С. 590–600.
5. Isobe K., Oka H., Watanabe T., Tateno R., Urakawa R., Liang C., Senoo K., Shibata H. High soil microbial activity in the winter season enhances nitrogen cycling in a cool-temperate deciduous forest // Soil Biol. Biochem. 2018. V. 124. P. 90–100.
6. Lacerda-Júnior G.V., Noronha M.F., Cabral L., Delforno T.P., de Sousa S.T.P., Fernandes-Júnior P.I., Melo I.S. and Oliveira V.M. Land Use and Seasonal Effects on the Soil Microbiome of a Brazilian Dry Forest // Front. Microbiol. 2019. 10:648. doi: 10.3389/fmicb.2019.00648.
7. Wu H., Xiong D.H., Xiao L., Zhang S., Yuan Y., Su Z.A., Zhang B., Yang D. Effects of vegetation coverage and seasonal change on soil microbial biomass and community structure in the dry-hot valley region // J. Mountain Sci. 2018. V. 15. № 7. P. 1546–1558.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФОРМ ЖЕЛЕЗО- И МАРГАНЕЦОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ СВЯЗАННЫХ С КОНКРЕЦИЯМИ ПО ПОЧВЕННЫМ ГОРИЗОНТАМ

Мартыненко Е. С.

ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Введение. В наземных экосистемах почва имеет центральное значение, поскольку она является местом, где происходит много видов взаимодействий между твердыми телами, жидкостями, газами и биотой. В результате индустриализации в течение последних столетий загрязнение почв токсичными металлами стало серьезной экологической проблемой во многих частях мира. Оксиды Fe и Mn, оксигидроксиды и гидроксиды составляют лишь небольшую долю общей твердой фазы почвы, но их высокая сорбционная способность, позволяет контролировать местоположение, подвижность и биодоступность металлических загрязнений [3, 1]. В почвах образуются конкреции — стяжения минеральных компонентов, образующиеся путем разностороннего роста по субпараллельным, обычно кривым поверхностям за счет концентрации рассеянных компонентов вмещающей среды. Особый интерес представляют Fe-Mn конкреции, как основные формы осаждения оксидов Fe и Mn в наземных экосистемах. Образование конкреций Fe-Mn является наиболее эффективным и длительным процессом связывания металлов в почвах с чередующимися окислительно-восстановительными процессами [2].

Цель работы: выявить особенности распределения культивируемых форм железо- и марганецокисляющих микроорганизмов связанных с конкрециями по почвенным горизонтам

Материалы и методы. В работе использовали образцы залежной почвы (агротемногумусовый подбел), отобранные в августе 2021 г., на территории Приморского края. В разрезе было выделено пять горизонтов, в каждом из которых отобраны конкреции трех размерностей: 1-2мм; 2-3мм; 3-5мм. Всего было исследовано 15 проб, каждая в трехкратной повторности. Для проведения экспериментов использовались классические микробиологические методы. Железо- и марганецокисляющие микроорганизмы выделяли с использованием специальных плотных питательных сред.

Результаты и их обсуждение. В результате исследования установлено, что в конкрециях размерностью 1-2мм количественно преобладают марганецокисляющие микроорганизмы над железозакисляющими, как в экзосфере конкреций, так и в их эндосфере. Отмечено, что микроорганизмы были выделены из экзосферы конкреций, отобранных из горизонтов PU-Elnn (11–35 см) и BT (111–153 см). Из конкреций горизонта PU-Elnn (11–35 см) выделены железозакисляющие микроорганизмы ($0,05 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций), а из конкреций нижнего (111–153 см) горизонта выделены марганецокисляющие микроорганизмы ($0,11 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций). Из эндосферы конкреций были культивированы только марганецокисляющие микроорганизмы, из всех вмещающих горизонтов, за исключением нижних BTnn (55–111 см), BT (111–153 см), наибольшее количество ($0,38 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций) из верхнего PU (4–11 см). При этом количество марганецокисляющих микроорганизмов здесь снижается с глубиной залегания горизонтов.

В результате опыта стало понятно, что в конкрециях размерностью 2-3мм по количеству культивированных микроорганизмов преобладают марганецокисляющие. Из горизонтов: PU-Elnn, BTnn, BT (11–35 см, 55–111 см, 111–153 см, соответственно) выделены марганецокисляющие микроорганизмы экзосферы конкреций, их количество ($0,002 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций, $0,065 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций, $13,3 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций, соответственно)

увеличивается с глубиной залегания горизонтов. Железоокисляющие микроорганизмы не удалось культивировать из экзосферы конкреций. Из эндосферы конкреций также не удалось выделить железоокисляющие микроорганизмы. Из всех горизонтов за исключением среднего (35–55 см) выделены марганцеокисляющие микроорганизмы из эндосферы конкреций. Из верхнего горизонта (4–11 см) выделено наибольшее количество ($0,11 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций) микроорганизмов из эндосферы конкреций.

В результате исследования установлено, что в конкрециях размерностью 3–5 мм по количеству преобладают марганцеокисляющие микроорганизмы, также отмечено, что в конкрециях этого размера марганцеокисляющих микроорганизмов количественно больше, чем в конкрециях меньшего размера. В горизонтах: PU (4–11 см), PU-Elnn (11–35 см), VTnn (55–111 см) были обнаружены марганцеокисляющие микроорганизмы из экзосферы конкреций. Наибольшее их количество ($0,02 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций) было выделено из верхнего горизонта (4–11 см). Из эндосферы конкреций удалось выделить микроорганизмы из всех вмещающих горизонтов, кроме среднего (35–55 см). Наибольшее количество ($0,264 \times 10^3$ КОЕ/г конкреций) марганцеокисляющих микроорганизмов удалось культивировать из конкреций, находящихся в горизонте VTnn (55–111 см).

Заключение. В экзосфере и эндосфере конкреций залежной почвы (агротемногумусовый подбел) преобладают культивируемые формы марганцеокисляющих микроорганизмов над железоокисляющими. Последние выделены только из экзосферы конкреций размером 1–2 мм. Количество культивируемых микроорганизмов увеличивается с ростом размера конкреций.

Библиографический список

1. Enhanced soil toxic metal fixation in iron (hydro)oxides by redox cycles. / M. Contin, C. Mondini, L. Leita, M. De Nobili // *Geoderma*. 2007. Vol.140. P. 164–175.
2. Manceau A. Molecular-scale speciation of Zn and Ni in soil ferromanganese nodules from loess soils of the Mississippi basin / A. Manceau [et al.]// *Environ Sci Technol*. 2003. Vol. 37. P. 75–80.
3. McKenzie R. M. The adsorption of lead and other heavy metals on oxides of manganese and iron // *Environ Sci Technol*. 1980. Vol.18. P. 61–73.

ИЗУЧЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЯПОНСКОГО МОРЯ, И АНАЛИЗ НАЛИЧИЯ У НИХ МАРКЕРНЫХ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ДЕСТРУКЦИЮ Н-АЛКАНОВ И ПАУ

**Медведева А.Д., Ким А.В., Богатыренко Е.А., доцент, кандидат биологических наук
ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия**

Введение. Для экосистемы Японского моря отмечается высокая степень антропогенного воздействия, связанная с увеличением численности населения, урбанизацией побережий, активным судоходством, индустриализацией и развитием туризма. На берегах залива Петра Великого, самого крупного залива Японского моря у российского побережья, расположены порты г. Владивосток, г. Находка, г. Большой Камень, а также

специализированный морской нефтеналивной порт Козьмино. В большинстве прибрежных акваторий залива Петра Великого отмечается высокое содержание нефтяных углеводородов (НУ). Несмотря на хроническое загрязнение Японского моря нефтепродуктами, углеводородоокисляющая микробиота этого региона и ее участие в самоочищении экосистемы недостаточно изучены [7].

В последнее время для изучения метаболического потенциала нефтеокисляющих микроорганизмов нередко проводят молекулярно-генетические исследования, направленные на выявление у них маркерных функциональных генов. Однако информация о наличии и распространении маркерных генов нефтеокисления у микроорганизмов в Японском море в научной литературе практически отсутствует. Кроме того, не проводилось и исследований по выявлению маркерных генов среди отдельных таксономических групп микроорганизмов в данной акватории.

В связи с этим **цель** настоящей работы – выявить в коллекции углеводородоокисляющих бактерий Японского моря наличие маркерных генов, ответственных за деструкцию n-алканов и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ). В задачи исследования входило выделение и идентификация коллекции штаммов углеводородоокисляющих бактерий Японского моря и амплификация ДНК с праймерами на функциональные гены, кодирующие синтез ферментов расщепления n-алканов и ПАУ.

Материалы и методы. Материалом для работы послужили пробы поверхностных вод и верхнего окисленного слоя донных осадков Японского моря, полученные в 2018 и 2019 годах в ходе экспедиционных работ на НИС «Академик М.А. Лаврентьев», а также в ходе береговых экспедиций. Исследования проводились на 40 станциях в двух районах: в заливе Петра Великого и в западной части Японского моря. Согласно ГОСТ 31942-12 (2013) посев проб производили методом Дригальского на плотную модифицированную среду Ворошиловой-Диановой (1% нефть). Полученные чистые культуры бактерий использовали для всех последующих опытов.

Экстракция ДНК проводилась коммерческим набором «ДНК-сорбент» (фенол-хлороформным). Идентификацию бактерий проводили на основе анализа структуры их гена 16S рРНК: осуществляли секвенирование продуктов амплификации по методу Сенгера. Для выявления у бактерий генов, ответственных за разложение n-алканов и ПАУ использовали известные праймеры на функциональные гены: *alk1*, *alk2*, *alk3*, *Rh alk* (алкангидроксилазы), *Vph* (бифенил-2,3-диоксигеназа), *phn* (диоксигеназа, ответственная за деструкцию фенантрена), *ndo* (большая субъединица фермента нафталиндиоксигеназа), *nah* (нафталиндиоксигеназа) *narAa* и *narAb* (большая и малая субъединицы фермента цис-нафталин-1,2-диоксигеназы), *xylE* (катехол-2,3-диоксигеназа), *pdo* (диоксигеназа мета-пути) [2, 3, 4, 6]. Все ПЦР-продукты визуализировали с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле.

Результаты и их обсуждение. В ходе работы было выделено и идентифицировано 47 штаммов бактерий, выделенных из акваторий Японского моря. Представители обнаруженных родов *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcanivorax*, *Citrobacter*, *Halomonas*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Sphingomonas*, *Thalassospira*, согласно литературным данным, довольно часто встречаются в морской среде и способны к деструкции углеводородов [5]. Также удалось выделить в культуру и ряд микроорганизмов, чья углеводородоокисляющая способность гораздо менее

изучена, это представители родов *Idiomarina*, *Lechevalieria*, *Corynebacterium*, *Okibacterium*, *Cobetia*, *Pseudochrobactrum* [1].

В ходе проведенной работы у углеводородоокисляющих бактерий Японского моря были выявлены гены, ответственные за окисление n-алканов: 35 из 47 штаммов имели гены, опосредующие их деградацию. Наиболее часто в выделенной коллекции встречались гены, выявляемые праймерами *alk1* и *alk3* (21 и 17 изолятов соответственно), реже встречались гены *Rh ALK* – обнаружены в 4 изолятах. Гены, выявляемые праймером *alk2*, обнаружались лишь в одном изоляте.

Было выявлено, что у большинства выделенных из акваторий Японского моря штаммов бактерий чаще всего встречались ген *xylE*, ответственный за синтез фермента катехол-2,3-диоксигеназы (обнаружен в 27 выделенных штаммах). Следующим по встречаемости геном, ответственным за окисление ПАУ, оказался ген *nah*, кодирующий синтез фермента нафталиндиоксигеназы (обнаружен в 25 изолятах). Ген *phn*, ответственный за синтез диоксигеназы, катализирующей деградацию фенантрена, обнаружен в 12 изолятах. Ген, ответственный за синтез большой субъединицы фермента нафталиндиоксигеназы *ndo*, обнаружен в 9 изолятах. Гены *narAa* и *narAb* кодирующие, большую и малую субъединицы фермента цис-нафталин-1,2-диоксигеназы, которая опосредует деградацию нафталина, были обнаружены в шести и девяти изолятах, соответственно. Меньше всего представлены гены *pdo* и *Bph*, первый ответственен за расщепление ароматического кольца ПАУ по мета-пути, второй - ответственен за разложение бифенила. Оба гена были выявлены только в двух изолятах.

Полученные данные свидетельствуют о том, что бактерии, благодаря широкому метаболическому потенциалу, способны к деструкции разнообразных углеводородов нефти. Помимо этого, у представителей одного или разных родов бактерий трансформация одних и тех же нефтяных углеводородов может осуществляться различными метаболическими путями.

Интересно отметить, что наибольшее число и разнообразие маркерных генов окисления нефтяных углеводородов встречается у представителей рода *Pseudomonas* (4-5 генов на один изолят), а также у представителей родов *Acinetobacter*, *Serratia*, *Halomonas*, *Pseudoalteromonas* и *Citrobacter* (по 4 гена на один изолят). Наиболее скудные по числу генов окисления нефтяных углеводородов представители родов *Paenibacillus*, *Pseudochrobactrum*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Idiomarina* (по 1-2 гена на изолят), а также некоторые представители *Rhodococcus* (1 ген на изолят).

Заключение. Проведена работа по выявлению у коллекции углеводородоокисляющих бактерий Японского моря генов, регулирующих разложение n-алканов и ПАУ. Среди выделенных штаммов Японского моря выявлено таксономическое разнообразие бактерий, способных к деградации производных нефти. Большинство выделенных культур относятся к типичным деструкторам производных нефти. Кроме того, выделены бактерии, для которых слабо изучена способность к нефеокислению, а также, выявлены виды бактерий, для которых углеводородоокисляющая активность была описана впервые. Также выявлено наличие и разнообразие маркерных генов, опосредующих деградацию неразветвленных и полиароматических углеводородов. Чаще всего у микроорганизмов встречались гены деградации ПАУ – *xylE* и *nah*, а также ген алкангидоксилазы *alk1*.

Библиографический список

1. Buzoleva L.S., Bogatyrenko E.A., Repina M.A., Belkova N.L. Oil-oxidizing activity of bacteria isolated from Sakhalin coastal waters // *Microbiology*. 2017. Vol.86, №3. P.338-345.
2. Edlund A., Jansson J.K. Use of bromodeoxyuridine immunocapture to identify psychrotolerant phenanthrene-degrading bacteria in phenanthrene-enriched polluted Baltic Sea sediments // *FEMS Microbiology Ecology*. 2008. Vol.65, №3. P.513-525.
3. Ferrero M., Llobet-Brossa E., Lalucat J., García-Valdés E., Rosselló-Mora R., Bosch R. Coexistence of two distinct copies of naphthalene degradation genes in *Pseudomonas* strains isolated from the western Mediterranean region // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2002. Vol. 68, № 2. P. 957-962.
4. Laurie A.D., Lloyd-Jones G. The *phn* genes of *Burkholderia sp.* strain RP007 constitute a divergent gene cluster for polycyclic aromatic hydrocarbon catabolism // *Journal of Bacteriology*. 1999. Vol.181, №2. P.531–540.
5. Miettinen H., Bomberg M., Nyssonen M., Reunamo A., Jorgensen K.S., Vikman M. Oil degradation potential of microbial communities in water and sediment of Baltic Sea coastal area // *PLoS ONE*. 2019. Vol. 14, №7. e0218834.
6. Park J.W., Crowley D.E. Dynamic changes in *nahAc* gene copy numbers during degradation of naphthalene in PAH-contaminated soils // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Vol.72, №6. P.1322-1329.
7. Tanaka D., Tanaka S., Yamashiro Y., Nakamura S. Distribution of oil-degrading bacteria in coastal seawater, Toyama Bay, Japan // *Environ. Toxicol.* 2008. V. 23. P. 563–569.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ТОКСИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА ГРИБАМИ АСПЕРГИЛЛАМИ

Миндубаев А.З., старший научный сотрудник, кандидат химических наук
ИЭПТ ФИЦ Казанского научного центра РАН,
Бабынин Э.В., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
доцент Татарского НИИ АХП ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

Введение. Биodeградация занимает почетное место среди методов обезвреживания токсичных загрязнений окружающей среды [4]. Главное преимущество биodeградации, по сравнению с многочисленными другими методами обезвреживания стоков, заключается в том, что в ее основе лежат происходящие в природе естественные процессы биологической детоксикации. «Схема метаболического обезвреживания насыщенных углеводородов алканов (рис. 1), важнейших компонентов нефтей, представленная по литературным источникам [5-8], представляет удивительные возможности микробного метаболизма» [1].

Данный пример демонстрирует возможность обезвреживания таким же способом другого вещества первого класса опасности, белого фосфора, биodeградацию которого мы исследуем.

«Среди соединений фосфора встречаются самые токсичные вещества, созданные человеком, включая ставшие известными «Новички». Но, несмотря на это, они применяются практически во всех сферах деятельности – в металлургии, производстве пиротехники, спичек, полупроводников, пестицидов, лекарств, боевых отравляющих веществ, пластмасс,

фосфорной кислоты, моющих средств, удобрений. Следовательно, стоит задача создания методов обезвреживания как самого белого фосфора, так и производимых из него токсичных соединений фосфора» [2].

Материалы и методы. Нами выделена и изучена культура *Aspergillus niger*, превращающая ряд токсичных соединений фосфора в фосфат, безвредный для окружающей среды. Предлагаемый нами метод позволит производить очистку сточных вод предприятий и загрязненных территорий. «Нам удалось подвергнуть биологической деструкции токсичные неорганические вещества – белый и красный фосфор, ряд солей кислот восстановленного фосфора. Биодegradацию элементарного фосфора (рис. 2) мы наблюдали впервые в мире» [3].

Результаты и их обсуждение. При воздействии белого фосфора наблюдается достоверное увеличение толщины клеточной стенки. Поверхность клеточных стенок покрывается дополнительным слоем протеогликанов, поверхность гифов становится ворсистой, а в контроле остается гладкой. Помимо этого, в опыте в клетках более чем вдвое возрастает количество митохондрий и увеличиваются их размеры. Данные признаки, вероятно, связаны с защитой от воздействия токсичного вещества, поскольку митохондрии продуцируют активные формы кислорода, окисляющие ксенобиотики, а клеточные стенки служат барьером для токсичных веществ.

Показаны четкие различия белкового профиля при росте аспергилла в отсутствие и в присутствии белого фосфора. Таким образом, появление белого фосфора в культуральной среде оказывает влияние на экспрессию генов.

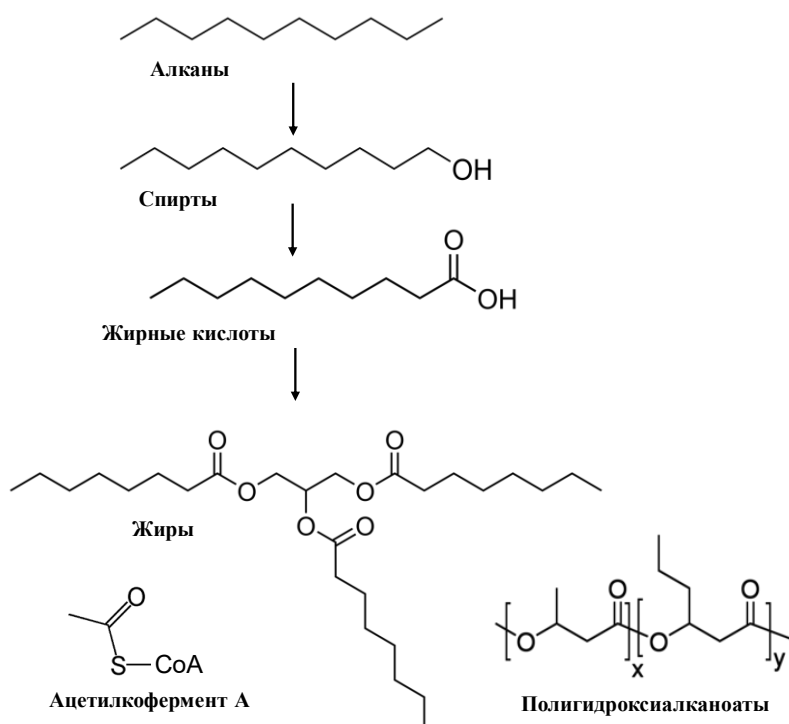


Рис. 1. Замечательным примером биодegradации является превращение алканов из нефтепродуктов в жирные кислоты и их производные посредством аэробного или анаэробного микробного окисления. Рисунок А.З. Миндубаева.



Рис. 2. Посев *A. niger* в культуральную среду, содержащую 0.05% белого фосфора. Через шесть суток наблюдался рост 11 крупных спорообразующих колоний.

Происхождение штамма *Aspergillus niger*, выделенного из емкости с кусковым белым фосфором, воспроизведена с построением филогенетического дерева. Для сравнения использовались штаммы *A. niger*, выделенные в разных странах мира и представленные в базе *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Результат сравнения свидетельствует о следующем. В наибольшем родстве со штаммом AM1 состоят два штамма черного аспергилла из почвы с соевых полей в районе Нанкина (Китай), которые способны к растворению малорастворимых в воде почвенных фосфатных минералов при помощи органических кислот, которые они продуцируют [9]. Указанные штаммы выделены из ризосферы растений сои (*Glycine max*) и, по всей видимости, повышают эффективность снабжения растений фосфором, вступая с ними в симбиотические отношения. Они имеют высокий процент сходства по гену ITS с объектом нашего исследования – *A. niger* AM1.

Заключение. Элемент фосфор в виде простых веществ и восстановленных соединений является опаснейшим загрязнителем окружающей среды. Однако, полностью окисленная форма фосфора – фосфат – является незаменимым компонентом любого живого организма. Поэтому, для фосфорных соединений велики перспективы биodeградации. Для фосфорорганических соединений биodeградация уже применяется [10]. Для элементного (белого и красного) фосфора она стала известна из наших работ. Планируется создание и вывод на рынок коммерческих биопрепаратов на основе наших культур микроорганизмов. Это было изначальной целью работы. Нами создано ООО Интехтокс, которое вошло в реестр участников проекта «Сколково» (рис. 3).



Рис. 3. Логотип ООО Интехтокс.

Библиографический список

1. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Ахмедова Г.Р. Солюбилизация фосфата *Aspergillus niger* AM1. Токсичность производных дитиофосфорной и борной кислот для данного штамма // Экологический вестник Северного Кавказа. 2022. Т. 18. № 2. С. 4-11.
2. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Минзанова С.Т. Как яд становится удобрением: становление проекта // Экологический вестник Северного Кавказа. 2022. Т. 18. № 1. С. 46-52.
3. Миндубаев А.З., Федосимова С.В., Григорьева Т.В., Романова В.А., Бабаев В.М.,

Бузюрова Д.Н., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А., Караева Ю.В. Влияние белого фосфора на клеточную морфологию и белковый профиль штаммов гриба *Aspergillus niger* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. № 1 (36). С. 69-79.

4. Meckenstock R.U., Elsner M., Griebler C., Lueders T., Stumpp C., Aamand J., Agathos S.N., Albrechtsen H.-J., Bastiaens L., Bjerg P.L., Boon N., Dejonghe W., Huang W.E., Schmidt S.I., Smolders E., Sørensen S.R., Springael D., vanBreukelen B.M. Biodegradation: Updating the Concepts of Control for Microbial Clean up in Contaminated Aquifers // Environ. Sci. Technol. 2015. Vol. 49. № 12. P. 7073-7081.

5. Yi Z.-H., Rehm H.J. A New Metabolic Pathway from n-Dodecane to α , ω -Dodecanedioic Acid in a Mutant of *Candida tropicalis* // European J Appl Microbiol Biotechnol. 1982. Vol. 15. № 3. P. 175-179.

6. Lageveen R.G., Huisman G.W., Preusting H., Ketelaar P., Eggink G., Witholt B. Formation of Polyesters by *Pseudomonas oleovorans*: Effect of Substrates on Formation and Composition of Poly-(R)-3-Hydroxyalkanoates and Poly-(R)-3-Hydroxyalkenoates // Applied And Environmental Microbiology. 1988. Vol. 54, № 12. P. 2924-2932.

7. Callaghan A.V., Morris B.E.L., Pereira I.A.C., McInerney M.J., Austin R.N., Groves J.T., Kukor J.J., Suflita J.M., Young L.Y., Zylstra G.J., Wawrik B. The genome sequence of *Desulfatibacillum alkenivorans* AK-01: a blueprint for anaerobic alkane oxidation // Environmental Microbiology. 2012. Vol. 14. № 1. P. 101-113.

8. Karasawa K., Harada A., Yamashita A. Transcriptional Regulation of Acyl-CoA:Glycerol-sn-3-Phosphate Acyltransferases // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20. № 964. P. 1-17.

9. Mindubaev A.Z., Babynin E.V., Bedeev E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Akosah Y.A. Biological Degradation of Yellow (White) Phosphorus, a Compound of First Class Hazard // Russian Journal of Inorganic Chemistry. 2021. Vol. 66. № 8. P. 1239-1244.

10. Singh B.K., Walker A. Microbial degradation of organophosphorus compounds // FEMS Microbiology Reviews. 2006. Vol. 30. № 3. P. 428-471.

ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ И ИНВАЗИЙ ПРИ ФЕКАЛЬНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВ НА ТЕРРИТОРИИ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Мыськова В.А.; Новак А.И., доцент, доктор биологических наук

**ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Рязань, Россия**

Введение. Необходимость постоянного мониторинга почв в населенных пунктах, в частности на игровых площадках во дворах жилых домов и в детских учреждениях, в парковых зонах и местах отдыха имеет немаловажное санитарно-эпидемиологическое значение. Почва является фактором передачи возбудителей острых кишечных инфекций, клостридиозов, геогельминтозов и протозоозов [6]. Физико-химические свойства почвы в течение продолжительного времени обеспечивают сохранность патогенных микроорганизмов, преимущественно за счет споробразования, цист простейших и яиц гельминтов. Кроме того, в яйцах геогельминтов во внешней среде происходит развитие

личинки, и в почве они достигают инвазионной стадии. Возбудители инфекций и инвазий попадают в почву с фекалиями животных и человека, с хозяйственно-бытовыми отходами, таким образом, обеспечивается прямая или косвенная передача инвазионного и инфекционного начала.

Материалы и методы. Выполнен аналитический обзор статистических сведений из Государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за 2013-2020 гг., «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения по Рязанской области» за 2013-2020 гг., а также литературных данных по проблеме паразитарного и микробного загрязнения почвы на урбанизированных территориях [1-7].

Результаты и их обсуждение. Согласно данным государственных докладов о санитарно-эпидемиологическом благополучии населения в Российской Федерации [2] наиболее высокий уровень микробиологического загрязнения почв наблюдался в 2020 г. на территориях Новосибирской (30,88 % проб с превышениями гигиенических нормативов), Еврейской автономной (28,94 %), Архангельской (24,63 %) областей, Приморского края (21,08 %), Республики Карелия (16,63 %), Удмуртской Республики (16,54 %), Республики Мордовия (14,63 %), Свердловской (14,34 %), Рязанской (12,25 %) и Владимирской областей (11,5 %). Средний по Российской Федерации уровень паразитарного загрязнения почв был значительно превышен в 2020 г. в Новосибирской области (7,42 % проб почвы, не соответствующих гигиеническим нормативам), в Республиках Коми (5,04 %), Карачаево-Черкессии (4,92 %), Северной Осетии – Алании (4,42 %), Ингушетии (4,04 %), в Смоленской (3,73 %) и Архангельской (3,69 %) областях. За период 2011-2020 гг. качество почв селитебных территорий Российской Федерации в целом улучшилось по сравнению с предыдущим десятилетием.

Наиболее высокий уровень паразитарного загрязнения почв был зафиксирован на территории детских организаций и детских площадок в Астраханской (3,78 % проб с превышениями гигиенических нормативов), Архангельской (3,2 %), Рязанской (1,93 %), Свердловской (1,38 %) областях, в Карачаево-Черкесской Республике (3,12 %), в Республике Коми (1,49 %), в Хабаровском крае (1,48 %) [2].

Как видно из вышесказанного, по паразитарному и микробиологическому загрязнению почвы Рязанской области стабильно превышают нормативные показатели. Так, опираясь на Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения по Рязанской области в 2020 году» [3] можно оценить несоответствие почв по гигиеническим и микробиологическим показателям в селитебной зоне и на детских площадках (рис. 1).

По данным ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Рязанской области» ведущей инвазией среди гельминтозов человека является энтеробиоз [1]. Благодаря ежегодному мониторингу удалось выяснить, что на долю энтеробиоза приходится 86,7 % всех гельминтозов, что объясняется высокой контагиозностью заболевания и несоблюдением людьми правил личной гигиены [3, 5, 7].

Вторым по распространенности гельминтозом является аскаридоз. За последнее время ежегодно в Рязанской области выявляется от 150 до 200 случаев инвазии аскаридами [3].

Серьезной проблемой стал возрастающий уровень заболеваемости токсокарозом [4]. За последние 10 лет в целом по области зарегистрировано 23 случая. Такое положение является следствием значительного увеличения численности собак, несоблюдением правил

их содержания, отсутствием дезинвазии экскрементов, что приводит к накоплению яиц возбудителя в почве и интенсивной его циркуляции в популяциях восприимчивых хозяев.

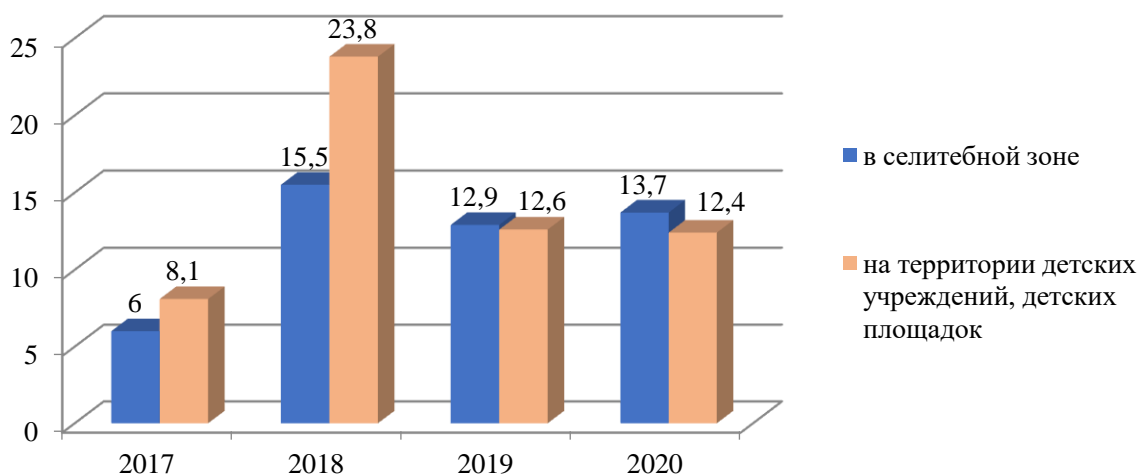


Рисунок 1. Доля проб почвы, не соответствующих гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям в Рязанской области.

Ежегодно в Рязанской области регистрируется от 350 до 750 случаев заболеваний лямблиозом [3]. Такая ситуация свидетельствует, прежде всего, о некачественной лабораторной диагностике лямблиоза в различных районах области, а также об отсутствии обследования заболевших на лямблиоз при наличии клинических показаний.

Не стоит недооценивать и серьезность микробиологического загрязнения почв урбанизированных территорий [1, 6]. Определение уровня фекального загрязнения, индикаторами которого являются бактерии группы кишечной палочки (общие колиформные бактерии) и энтерококки, позволяет по косвенным признакам судить о потенциальной опасности загрязнения почв кишечными гельминтами и простейшими.

На свежее фекальное загрязнение почвы указывает наличие высокого индекса бактерий группы кишечных палочек при низких титрах нитрификаторов, термофилов, а также относительно высокое содержание вегетативных форм *S. perfringens*. Наличие в пробах почв энтерококков всегда свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, спор клостридий – о давнем [6].

Заключение. Для городов с высокой плотностью населения биологическая нагрузка на почву очень велика и, как следствие, высоки индексы санитарно-показательных микроорганизмов и уровень контаминации яйцами гельминтов и цистами простейших, что наряду с санитарно-химическими показателями свидетельствует о неблагоприятности территорий и наличии повышенного риска заражения людей.

Библиографический список

1. Бубнов Д.Н., Назаров А.Ф., Герасимова Л.М. и др. Гигиеническая и эпидемиологическая оценка условий проживания населения Рязанской области // Рязанский экологический вестник. 2004. № 7. С. 18-20.
2. Государственные доклады «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации», 2013-2020 гг.
3. Государственные доклады «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения по Рязанской области» 2013-2020 гг.
4. Косова А.А. Современные тенденции в эпидемиологии токсокароза и методические подходы к прогнозированию эпидемического процесса // Автореф. дисс. канд. мед. наук. Пермь, 2012. 25 с.
5. Летюшев А.Н., Степанова Т.Ф. Активность эпидемического процесса энтеробиоза в Российской Федерации // ЗНиСО. 2020. № 5 (326). С. 57-64.

6. Мороз Н.В., Хроменкова Е.П., Димидова Л.Л. и др. Лабораторный контроль за объектами окружающей среды как составная часть санитарно-паразитологического мониторинга // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2008. № 2. С. 29-32.

7. Упырев А.В., Хроменкова Е.П., Димидова Л.Л. и др. Санитарно-паразитологический мониторинг в очагах энтеробиоза // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2014. № 15. С. 329-331.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ОТКРЫТЫХ ВОДОЁМОВ БУХАРСКОГО РЕГИОНА ПРИ ПОМОЩИ ПЕРИФИТОНА

Назаров Ж.С.Э.

**БГМИ «Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино»
город Бухара, Республика Узбекистан**

Введение. Водоемы Узбекистана играют важную роль в поддержании окружающей среды в условиях аридного климата. Одним из важных компонентов индикаторов их экологического состояния и качества воды являются сообщества гидробионтов. Их видовой состав и структура целиком определяются климатическими и ландшафтными условиями, которые сложились в водосборных бассейнах или непосредственно в речных и коллекторных коридорах, и прибрежных зонах озер. Повышение уровня минерализации и органического загрязнения возвратного стока влияет на снижение качества воды, как главных водоносных поверхностных артерий, так и грунтовых вод Узбекистана. В связи с ухудшением качества воды в источниках питьевого и рекреационного назначения, как в результате интенсивного развития ирригации, так и промышленного роста городов, возникает острая необходимость более широкого использования инструментов для оценки различных видов загрязнений. Не в последнюю очередь это касается и органолептических свойств воды [1]. Причины появления запахов, привкуса, цветности и мутности воды, весьма различны. Для поверхностных водоисточников это в первую очередь почвенные загрязнения, поступающие со стоком атмосферных вод. Запах и привкус могут быть связаны и с цветением воды, за которым следует отмирание водорослей и разложение растительности на дне водоемов. Изменение органолептических свойств природных вод возникает и в результате их загрязнения поступающими в поверхностные водоисточники, реже и в подземные водоносные горизонты, недостаточно очищенных бытовых и в особенности производственных сточных вод [2]. Вследствие возрастания антропогенных факторов загрязнения окружающей среды возникает острая необходимость в более широком использовании инструментов для оценки различных загрязнений водных источников. Перифитон является исключительно подходящим объектом для исследований в области экологии, а также имеет первостепенное значение в качестве показателя при санитарно-биологической оценке вод [5]. Высокая информативная ёмкость перифитона и, следовательно, его высокая индикаторная способность в первую очередь обусловлены сложным видовым составом организмов, представленных многочисленными и экологически разнообразными видами. Поэтому индикаторные сообщества различных гидробионтов имеют большое значение при оценке экологического состояния различных водных объектов [4].

Материалы и методы. Наиболее пригодными для сбора перифитона являются нейтральные субстраты (камни, бетонные сооружения и т.п.), соскобы производили с помощью скребка, ножа, скальпеля и пинцета. Сбор обрастаний с талломов высшей водной растительности осуществляли лишь в тех случаях, когда не было никаких других субстратов. Небольшое количество отобранного материала вместе с водой помещали в широкогорлую банку с крышкой емкостью 0,2-0,5 л и с большим запасом воздуха. При невозможности

доставки живой пробы в лабораторию, ее консервировали на месте отбора 40% формалином. В лаборатории отобранные пробы перед её обработкой помещали в чашку Петри и производили разборку материала с помощью препаровальной иглы и пинцета. Затем небольшое количество материала помещали на предметное стекло, покрывали покровным и проводили анализ (идентификацию микроорганизмов) с помощью микроскопа МЕИЛ согласно общепринятым методикам. Для определения видового состава водорослей использовали определители пресноводных водорослей в соответствии с анализируемой группой гидробионтов и другими общепринятыми определителями. Одновременно с определением видового состава перифитона оценивали частоту встречаемости (показатель обилия) h для каждого вида по глазомерной шкале: от 1 балла (единичные экземпляры в пробе) до 9 баллов (очень часто встречаются в поле зрения). Для исследований водных обрастающих был применен биотический перифитонный индекс (БПИ), который необходим для оценивания экологического состояния и качества водных объектов.

Результаты и их обсуждение. Точек для забора проб воды было несколько. Из них следует отметить несколько ключевых пунктов. Это озеро (водохранилище) Тудакуль, которое находится в 26 километрах восточнее города Бухары. Озеро парка Саманидов, находящееся в западной части города Бухары. Парк Саманидов это рекреационная зона города Бухары, где имеется свой, особый микроклимат. Бухарское очистное канализационное сооружение Нометан (отстойник № 2), которое находится в нескольких километрах юго-западнее границ города Бухары. Сюда поступает использованная вода по канализационным сетям города Бухары. Соответственно, делалось сравнение анализов проб воды до города Бухары, непосредственно в самом городе и за городом. В 2020 году нами были проведены рекогносцировочные обследования ряда водоемов и водных объектов Бухарской области и в городе Бухара. Всего за исследованный период (весна-лето-осень 2020 год) в пробах перифитона было отмечено 190 видов, разновидностей и форм микроводорослей, из которых: сине-зеленых (Cyanophyta) – 45 видов, диатомовых (Bacillariophyta) – 111 видов, зеленых (Chlorophyta) – 27 видов, криптофитовых (Cryptophyta) – 1 вид, динофитовых (Dinophyta) – 3 вида и эвгленовых (Euglenophyta) – 3 вида. Наиболее показательными пробами были из озер Тудакуль, Саманидов. Очень слабое развитие было отмечено в пробе из Нометана (отстойник). Сообщества перифитона представлены в основном широко распространенными b-, b-a- и a-сапробными пресноводно-солонатоводными планктонными колониальными и нитчатymi формами микроводорослей. В пробах перифитона отмечено умеренное развитие сине-зеленых (Cyanophyta) водорослей 45 (23,68%) видов, которые представлены в основном широко-распространенными пресноводно-солонатоводными колониальными и нитчатymi формами из родов *Microcystis*, *Merismopedia*, *Gloeocapsa*, *Gomphosphaeria*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Lyngbya*, *Tolypothrix*, *Calothrix* и др. Диатомовые водоросли (Bacillariophyta) по таксономическому разнообразию занимают доминирующее положение в перифитоне исследованных водных объектов Бухарской области 111 видов (58,42%). Диатомовые водоросли представлены как широко-распространенными планктонными пресноводно-солонатоводными формами водорослей родов *Asterionella*, *Cyclotella*, *Melosira*, *Fragilaria*, *Synedra*, так и фитобентоса *Cocconeis*, *Diatoma*, *Achnanthes*, *Navicula*, *Rhoicosphenia*, *Diploneis*, а также солонатоводными и солонатоводно-морскими видами, характерными для водоемов с несколько повышенной минерализацией воды (*Gyrosigma spenserii* (W.Sm.) Cl., *Pleurosigma elongatum* W.Sm., *Chaetoceros Mulleri* Lemm., *Nitzschia sigma* (Kütz.) W.Sm., *N.hungarica* Grun., *Campylodiscus clypeus* Ehr. и др.). Зеленые водоросли (Chlorophyta) на исследованных участках развивались слабо-умеренно 27 (15,95%) видов и представлены в основном широко-распространенными b-мезосапробными видами протококковых, десмидиевых и нитчатых водорослей из родов *Ankistrodesmus*, *Oocystis*, *Chlorella*, *Chlorococcus*, *Carteria*, *Chlamidomonas*, *Scenedesmus*, *Tetraedron*, *Cosmarium*, *Coelastrum*, нитчатками *Cladophora glomerata* (L.) Kütz., *Cl.fracta* (Vahl.) Kütz., *Spirogyra* sp., *Ulothrix tenerrima*, *Ul. aequalis* Kütz., *Mougeotia* sp., желто-зеленой *Tribonema* sp. и др., которые

совместно образуют довольно устойчивые фитоценозы. Последние являются хорошей базой для развития и размножения водных беспозвоночных, в том числе и для организмов планктона. С невысоким обилием 1-3 вида были отмечены в береговой части криптофитовые, динофитовые и эвгленовые водоросли. Как правило, вышеуказанные водоросли были отмечены в пробах летне-осеннего периодов и представлены в основном видами из родов *Cryptomonas*, *Glenodinium*, *Peridinium*, *Phacus*. Организмы из группы консументов постоянно присутствовали в обрастаниях с невысоким обилием и представлены простейшими, сидячими инфузориями, коловратками и нематодой (*Chilodonella*, *Stylonichia*, *Rotaria*, *Colurella*, *Lecana*, *Nematoda*). Биоценозы перифитона исследованных водных объектов представлены в основном диатомовыми, сине-зелеными и зелеными водорослями. С невысоким обилием (1-3) в обрастаниях также были отмечены динофитовые, эвгленовые и криптофитовые водоросли. Организмы из группы консументов постоянно присутствовали в обрастаниях с невысоким обилием и представлены родами *Amoeba*, *Chilodonella*, *Rotaria*, *Colurella*, *Vorticella*, *Nematoda* и другие [6].

Заключение. Антропогенное загрязнение вызывает изменения в составе и структуре водных сообществ, выражающиеся в смене доминантных комплексов организмов, упрощении экологической структуры, появлении в составе доминантов высокосапробных видов. Значения биотического перифитонного индекса (БПИ) составило при оценке водных резервуаров – 4-6 баллов, что характеризует качество воды как умеренно-загрязненное, в связи с повышением минерализации водных объектов. Таким образом, на основании полученных результатов исследования биоразнообразия перифитонных сообществ водных объектов Бухарской области можно отметить, что современный комплекс сообществ гидробионтов представлен широко распространенными b-, b-a-, a-эврисапробными видами организмов, которые претерпевают как качественные, так и количественные изменения в течение года [3]. Тем самым, по мере повышения уровня минерализации воды (в период сброса воды к осени) в водоемах увеличивается удельное соотношение солоноватоводных видов организмов, а также видов - индикаторов, характерных для биотопов со скоплением растительного детрита и повышенной минерализации.

Библиографический список

1. Гинатуллина Е.Н. и др. Индикаторы экологического состояния питьевых и рекреационных водоисточников Узбекистана // *Узбекский биологический журнал*. 2020. № 1. С.39-44.
2. Назаров Ж.-С. Э. Отбор проб воды для исследования её органолептических свойств согласно нормативам ГОСТ // *Новый день в медицине*. 2021. №. 2. С. 217-225.
3. Назаров Ж. Э. Перифитон как один из индикаторов экологического состояния поверхностных вод открытых водоёмов (на примере водных объектов Бухарской области) // *Узбекский биологический журнал*. 2022. С. 44-49.
4. Nazarov Jalolitdin Sulton Erkinovich Indicator value of periphyton for assessing the quality of water in open reservoirs // *International scientific and practical conference Cutting-Edge Science* May, June 2021 Shawnee USA. 2021. P. 9-10.
5. Nazarov J.-S. E. Biomonitoring of the ecological state of water bodies of the Bukhara region with the help of periphyton // *Microbiology: yesterday, today, tomorrow. Abstract book of International conference devoted to the 100th anniversary of Microbiology Department at Kazan University*. 2021. P. 141.
6. Nazarov Jalolitdin-Sulton Erkinovich Assessment of the ecological state and water quality class of water bodies in the Bukhara region according to the periphyton indicators // *Indian journal of environmental protection*. 2022. Volume 42. No 3. P. 367-373.

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ОБЪЕКТОВ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Окунев Н.Д.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия

Введение. Среди трансмиссивных природно-очаговых инфекций значительную долю составляют инфекции, передающиеся клещами (клещевые инфекции), к числу которых в России относят иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), клещевой вирусный энцефалит (КВЭ), крымскую геморрагическую лихорадку (КГЛ), сибирский клещевой тиф (СКТ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ), астраханскую пятнистую риккетсиозную лихорадку (АПРЛ).

В Рязанской области из перечисленных инфекций регистрируется, главным образом, ИКБ. В отдельные годы отмечаются единичные случаи МЭЧ.

Эпизоотологический мониторинг за клещевыми инфекциями в Рязанской области включает исследование методом ПЦР клещей на наличие возбудителей КВЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ.

Цель работы – анализ результатов эпизоотологического мониторинга, на наличие возбудителей клещевых инфекций в Рязанской области.

Материалы и методы. В работе использованы материалы ежегодных государственных докладов территориального управления Роспотребнадзора по Рязанской области «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения по Рязанской области» с 2013 по 2020 гг. Статистическая обработка материалов проводилась в программе Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. По результатам лабораторных исследований клещей средний уровень их инфицированности возбудителями ИКБ составил 10,2% с выраженной тенденцией к росту (Т ср.пр. = 15,5%). Доля клещей, инфицированных ГАЧ, составила 4,5%, возбудители МЭЧ обнаруживались 0,21% проб. Возбудитель КВЭ в исследованном материале не обнаруживался.

Среди клещей, как возможных переносчиков возбудителей клещевых инфекций, на территории Рязанской области распространены клещи рода *Ixodes* (*I.persulcatus* *I.ricinus*) и *Dermacentor reticulatus*.

Пораженность клещей возбудителями клещевых инфекций служит главным фактором риска развития данной группы заболеваний. Вместе с тем, уровень заболеваемости клещевыми инфекциями зависит не только от инфицированности клещей, но и от интенсивности контакта с ними людей.

По данным государственных докладов доля укушенных клещами людей за исследуемый период составила 212,2 на 100 тыс. нас. с выраженной тенденцией к росту (Т ср.пр. = 11,7%)

Заболеваемость населения Рязанской области в среднем за последние 8 лет составляет 4,5 на 100 тыс. нас. и характеризуется выраженной тенденцией к росту (Т ср.пр. = 13,5%)

Показатели заболеваемости ИКБ коррелируют с показателями инфицированности клещей ($R_{x/y} = 0,8$) и долей укушенных клещами людей ($R_{x/y} = 0,8$).

Заключение.

В Рязанской области клещи инфицированы возбудителями ИКБ, ГАЧ, МЭЧ. Инфицированность клещей ИКБ имеет тенденцию к росту.

Наличие корреляционной связи инцидентности ИКБ с инфицированностью клещей и долей укушенных клещами людей свидетельствует о влиянии этих факторов на уровень заболеваемости данной инфекции.

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИТЬЕВОЙ БУТИЛИРОВАННОЙ ВОДЫ

Пархоменко А.Н., доцент, кандидат биологических наук; Умбеткалиева А.А.
ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет»,
г. Астрахань, Россия

Введение. Вода – это прозрачная жидкость, не имеющая цвета, запаха и вкуса. Она является самым распространенным соединением на Земле.

Среди проблем, обусловленных хозяйственной деятельностью человека, важное место занимает проблема чистой питьевой воды. Вода всегда рассматривается как исходное сырьё для того или иного технологического процесса, в связи с чем и устанавливают специальные стандарты, сопоставление с которыми и определяет качество воды для нужд человека [5].

Кроме количества воды, необходимого организму для восстановления водного баланса, много воды требуется для санитарных и хозяйственно-бытовых целей. Чем больше воды можно использовать в быту, тем легче обеспечить чистоту тела, вещей личного обихода и жилища, что способствует укреплению здоровья и предупреждению многих заразных заболеваний. Когда все анализируемые показатели качества оказываются в пределах, допускаемых ГОСТом, вода может считаться годной к употреблению [3].

К микробиологическим показателям безопасности питьевой воды относят общее микробное число, содержание бактерий группы кишечной палочки (общие колиформные бактерии и колифаги), споры сульфитредуцирующих клостридий и цисты лямблий. Мы рассмотрели такие показатели как общее микробное число и общие колиформные бактерии [2].

Материалы и методы. В качестве объектов исследования выбрано шесть образцов бутилированной питьевой воды с шифрами проб – 8414, 8415, 8416, 8417, 8418, 8419, отобранные согласно ГОСТ Р 51232-98 «Вода питьевая» [1].

Применяли количественные, качественные методы исследования и специальный набор дифференциально-диагностических питательных сред, используемых в санитарной микробиологии [3].

Общее микробное число (ОМЧ) - это количественный показатель, отражающий общее содержание мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в 1 мл исследуемой воды [2].

Значение ОМЧ выражается в КОЕ/мл и представляет собой общее число колоний гетеротрофных бактерий, вырастающих в течение 24 ч при температуре 37 °С при посеве 1 мл воды на МПА.

Норматив ОМЧ-37 °С на воду питьевую централизованного водоснабжения допускает не более 50 КОЕ/мл, нецентрализованного – до 100 КОЕ/мл. Превышение норматива ОМЧ в распределительных системах свидетельствует о нарушениях в системе водоподготовки, возможном застое или развитии биопленок.

Общее микробное число определяют согласно МУК 4.2.1018-01. Определение общего числа микроорганизмов, образующих колонии на питательном агаре.

Метод позволяет определять в питьевой воде общее число мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (ОМЧ), способных образовывать колонии на питательном агаре при температуре 37 °С в течение 24 ч, видимые с увеличением в 2 раза [2].

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 представлены результаты контроля общего микробного числа.

По истечении 24 ч подсчитывали все выросшие на чашке колонии, наблюдаемые при увеличении в 2 раза. На диагностических агаризованных средах отсутствовал рост. Таким образом, общее микробное число не превышало норм установленных МУК 4.2.1018-01.

ОКБ (Общие Колиформные Бактерии) – это граммотрицательные палочки, не обладающие ферментом цитохромоксидазой, которые могут сбраживать до кислоты и газа не только глюкозу, но и лактозу при температуре 37 °С за 48 часов. Поэтому на среде Эндо они

образуют темно-малиновые, бордовые или красные колонии с отпечатком и металлическим блеском или без него [2].

Таблица 1 – Результаты контроля общего микробного числа

Шифр пробы	Дата приема проб в лабораторию	Объем пробы для анализа (мл)	Залив чашек с пробами 8-12 мл ГРМ-агара	Инкубация 37 °С 24 ч	КОЕ ОМЧ в 1 см ³
8414	04.10.21 г.	1 мл	✓	✓	не обнаружено
8415	04.10.21 г.	1 мл	✓	✓	не обнаружено
8416	04.10.21 г.	1 мл	✓	✓	не обнаружено
8417	04.10.21 г.	1 мл	✓	✓	не обнаружено
8418	04.10.21 г.	1 мл	✓	✓	не обнаружено
8419	04.10.21 г.	1 мл	✓	✓	не обнаружено

Общие колиформные бактерии определяются согласно МУК 4.2.1018 с помощью метода мембранной фильтрации.

Метод основан на фильтрации установленного объема воды через фильтрующие материалы, выращивании посевов на дифференциальной питательной среде с лактозой и последующей идентификации колоний по культуральным и биохимическим свойствам [2].

Результаты контроля общих колиформных бактерий представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты содержания ТКБ в 100 мл исследуемой питьевой воды

Шифр пробы	Объем пробы для анализа (мл)	Ферментация лактозы	Инкубация 37° С 48 ч	Результаты расчета КОЕ в 100 мл
8414	300	✓	✓	3,3
8415	300	✓	✓	1,3
8416	300	✓	✓	2
8417	300	✓	✓	1,6
8418	300	✓	✓	2,6
8419	300	✓	✓	1,5

Общие колиформные бактерии в воду попадают, как правило, с фекальными стоками и способны выживать в ней в течение нескольких недель, хотя и лишены (в подавляющем большинстве) способности к размножению.

По истечении 24 часов на фильтрах был обнаружен рост изолированных типичных лактозоположительных колоний: темно-красных, красных с металлическим блеском с отпечатком на обратной стороне фильтра. Подсчитали число колоний каждого типа отдельно и приступили к подтверждению их принадлежности к ОКБ (таблица 3).

Результаты исследований показали, что общие колиформные бактерии выявлены во всех образцах питьевой воды.

Таблица 3. Характерные признаки ОКБ

№ пробы	Кислота	Газ	Изменение цвета
8414	+++	+++	+++
8415	+++	+++	+++
8416	+++	+++	+++
8417	+++	+++	+++
8418	+++	+++	+++
8419	+++	+++	+++

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что в исследуемых образцах питьевой воды общее микробное число не обнаружено. Однако были выявлены общие колиформные бактерии в 100 мл воды (недопустимое содержание в данном объеме), что свидетельствует о некачественном водоснабжении и возможном фекальном загрязнении водоисточника, что создает потенциальную угрозу развития и распространения кишечных заболеваний.

Библиографический список

1. Виноградова А.П., Пахомчук Т.К. Комплексные санитарно-микробиологические оценки качества водных объектов в условиях антропогенной нагрузки//Гигиена и санитария. 1991. № 1. С. 24-26.
2. МУК 4.2.1018-01 МУК 4.2.1018-01. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды. М.: Дрофа, 2001. 304 с.
3. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Широкобоков В.Н. Медицинская и санитарная микробиология. М.: Издательский центр Академия, 2006. 464 с.
4. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга 1/ Под. ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Воиной. М.: Издательство БИНОМ, 2008. 1080 с.
5. СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». 59 с.

ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВОДОЁМОВ ГОРОДА КРАСНОДАР ЗА 2020-2021 ГГ.

**Супрун И.В., Мелконян К.К., Табачникова А.А.,
Волченко Н.Н., доцент, кандидат биологических наук
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», г. Краснодар, Россия**

Введение. Водные объекты являются неотъемлемой частью жизни человека, поэтому важно следить за их экологическим состоянием. Известно, что пруды, озёра и реки Краснодарского края и в целом регионов юга России могут загрязняться не только промышленными стоками. Так в Краснодаре уже много лет закрыты все городские пляжи из-за регулярного превышения в воде численности бактерий по санитарно-гигиеническим нормам, в частности из-за большого числа бактерий группы кишечной палочки (БГКП). В связи с этим возникает необходимость проведения мониторинга микробиологического состояния водоёмов с учётом и контролем качественных и количественных характеристик

микроорганизмов. Повышение температуры способствует увеличению скорости роста микроорганизмов, но дальнейший её подъём ведёт к необратимой инактивации клеточных компонентов и гибели клеток [1-2]. При низких температурах микроорганизмы не размножаются, и активная жизнедеятельность их приостанавливается путём перехода в анабиотическое состояние, либо происходит их гибель. Отмирание при низких температурах происходит значительно медленнее, чем под действием высоких [2, 5].

Материалы и методы. Отбор проб проводился в первой половине дня согласно ГОСТ 31942–2012 и ГОСТ 17.1.5.01–80 [3]. Определялось общее микробное число (ОМЧ) – один из стандартных показателей для оценки общей бактериальной обсеменённости, а также энтеробактерии на среде Эндо. Определение общей численности микроорганизмов проводилось согласно методическим указаниям МУК 4.2.1884–04 [4]. Для накопления энтеробактерий, последующего определения коли-титра и коли-индекса в воде бродильным методом обнаружения *Escherichia coli* использовалась ГПС (глюкозо-пептонная среда) или среда Эйкмана [1,4]. Проводилось измерение биохимического потребления кислорода (БПК) системой Lovibond® BD600.

Результаты и их обсуждение. В результате исследования изучены санитарно-микробиологические характеристики водоёмов города Краснодар. Ни один из водоёмов согласно ГОСТ 17.1.5.02–80 по результатам БПК, коли-титра и коли-индекса не соответствует микробиологическим требованиям для культурно-бытовых водоёмов, в частности для купания – превышение ПДК составляло более, чем в десять раз по сравнению с действующей нормой не более 1000 КОЕ в 1 дм³. БПК исследуемых проб в большинстве случаев выходила за допустимые значения согласно СанПиН 2.1.5.980–00, однако при низких температурах данный показатель был в пределах нормы. В разных водоёмах БПК находилась в пределах от 1,3 мг О₂/л до 8,8 мг О₂/л при норме 4 мг О₂/л. Наиболее загрязнённой оказалась цепь Карасунских озёр. Критическими периодами с самыми высокими показателями ОМЧ и числа энтеробактерий оказались сентябрь, самые минимальные показатели наблюдались в зимне-весенний период. Предположительно, это связано с сильной урбанизацией данных мест. БПК и ОМЧ оцениваются как общесанитарный признак, поэтому можно предположить, что исследуемые водоёмы богаты органическими веществами. Концентрация высеваемых энтеробактерий может косвенно свидетельствовать о фекальном загрязнении.

Заключение. Микробиологический мониторинг крайне важен для отслеживания и поддержания нормального состояния водоёмов. Мониторинг имеет большое значение для объективной оценки экологического состояния водных ресурсов. Своевременное обнаружение эпидемически опасных возбудителей, превышения допустимых значений по ОМЧ и БПК позволяет предупредить население о риске возможных инфекций, а также разработать меры для предупреждения дальнейшего загрязнения вод.

Библиографический список

1. Мудрецова–Висс К.А., Дедюхина В.П., Масленникова Е.В. Основы микробиологии: учебник. М.: ИНФРА, 2020. 384 с.
2. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов: учебник для бакалавров. М.: Издательство Юрайт, 2019. 267 с.
3. Нечаева И.А., Акатова Е.В. Оценка микробного состояния рек Тульской области // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2014. №2. С. 270–281.
4. Санитарно–бактериологические исследования качества воды / И. Г. Ушакова [и др.] // Вестник ОмГАУ. 2013. №4 (12). С. 29–32.
4. Osama Shaltami, Namat Hamed, Fares Fares. Water pollution – A review // Virtual Conference on Environment and Health (VCEH). Iceland : Agricultural University of Iceland. 2020. P. 55–62.

БИОИНДИКАЦИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ ПО СОСТОЯНИЮ ПЕДОБИОТЫ Г. КИРОВА

Трефилова Л.В., доцент, кандидат биологических наук
ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет»,
г. Киров, Россия

Введение. На экологическое состояние населенных пунктов оказывают влияние как биотические так и абиотические факторы, в том числе и в большей степени деятельность человека. Развитие промышленности и транспорта значительно ухудшают качество окружающей среды и пагубно влияют на жизнедеятельность всего живого и самого человека. Состояние экологической ситуации урбаноземов оценивают комплексом методов: биоиндикация основана на наблюдении за составом и численностью видов-индикаторов (микро- и макроорганизмов); физико-химический анализ почвы, воздуха, воды [1]. Пренебрегая одним из методов, часто не удается обнаружить неустойчивые соединения или количественно определить ультрамалые концентрации экотоксикантов. Биологические объекты чувствительны к наличию в почве поллютантов различной химической природы. Современные средства химического анализа не показывают наличия токсикантов, тогда как использование биологических тест-объектов напротив свидетельствует об их присутствии [2]. При скрининговых исследованиях удается быстро получить интегральную оценку токсичности при использовании методов биотестирования [3, 4].

Для оценки степени антропогенного влияния на городские почвы целесообразно сравнивать результаты химических анализов с микробиологическими.

Цель работы: оценить состояние почв г. Кирова методами биотестирования.

Материалы и методы. Объектами исследования были образцы урбанозёмов г. Кирова, отобранные на территориях с различной антропогенной нагрузкой и удалённостью друг от друга. Образцы отбирали из верхнего горизонта почвы с глубины 0-5 см. Для биотестирования использовали почвенные вытяжки в соотношении почва и дистиллированная вода 1 : 4 соответственно, согласно стандартной методике [5].

Результаты и их обсуждение. Микробиологический анализ отобранных образцов урбанозёмов показал, что существуют значительные колебания численности всех групп исследованных микроорганизмов (МО). Так, в группе аммонификаторов максимальные показатели выявлены на участках расположенных в селитебной и парковой зонах, численность МО составила 2,6 и 1,1 млн КОЕ/г соответственно (табл. 1). На всех остальных участках, кроме участка, численность гнилостных бактерий лежит в пределах от 300 до 400 тыс. КОЕ/г почвы. В группе азотфиксаторов максимум численности (1,4 и 1,1 млн КОЕ/г соответственно) зарегистрирован на участках транспортной и селитебной зон. Разброс результатов по численности азотфиксаторов на остальных участках значительный – от 160 тыс. до 970 тыс. КОЕ/г. При этом колебания численности азотфиксаторов по разным зонам города значительно сильнее, чем для аммонификаторов. Максимальные показатели численности азотфиксаторов совпадают с минимальным содержанием нитратного азота в почве [6, 7].

Таблица 1 – Численность различных групп микроорганизмов в городских почвах
(тыс. КОЕ/г)

Зоны города	Аммонификаторы	Азотфиксаторы	Грибы	Общая численность
1. Транспортная	330±45	350±17	23,3±2,5	703,3
2. Селитебная	2560±289	1140±175	25,7±3,1	3725,7
3. Парковая	1103±49	1440±82	60±6,1	2603,1
4. Промышленная	380±26	160±10	16,3±2,5	556,3

Примечание: Жирным шрифтом выделены максимальные значения.

Самой малочисленной группой из исследованных групп МО городских почв оказались грибы. Их невысокая численность (16-60 тыс. КОЕ/г) свидетельствует о малой обеспеченности исследуемых урбаноземов свежим органическим веществом.

Подтверждением разнокачественности микробных комплексов изучаемых урбаноземов служат показатели их структуры (табл. 2). На всех участках минорный компонент – микромицеты, чей вклад в структуру микробоценозов не превышает 3,3%. В то же время наблюдается сдвиг доминирования от аммонификаторов к азотфиксаторам на отдельных участках. Пик доминирования аммонифицирующих бактерий (более 68%) отмечается на участках, расположенных в селитебной и промышленной зонах. Пик доминирования азотфиксаторов (более 76%) установлен на участке транспортной зоны.

Таблица 2 – Структура микробных комплексов городских почв (%)

№ участка	Аммонификаторы	Азотфиксаторы	Грибы
1. Транспортная	20,5	76,2	3,3
2. Селитебная	68,7	30,6	0,7
3. Парковая	60,2	36,5	3,3
4. Промышленная	68,3	28,8	2,9

Отличительной особенностью всех исследованных в данном опыте урбаноземов является низкое содержанием микромицетов, которое на несколько порядков ниже, чем в луговых и лесных почвах.

Вероятно, на развитие МО в урбаноземах может оказать существенное влияние такой неучтенный фактор, как загрязнение почвы различными поллютантами.

Заключение. По результатам биотестирования наиболее токсичными оказались почвы отобранные с участков, расположенных в транспортной и промышленной зонах города Кирова, что свидетельствует о высокой токсичности этих почв.

Библиографический список

1. Парамонов В.Ю., Кирюшин В.А., Паненкова Е.А., Кучумов В.В., Моталова Т.В. Результаты оценки риска для здоровья населения рязанской области при употреблении воды из систем хозяйственно-питьевого водоснабжения // Фундаментальные и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения. Материалы всероссийской научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием. Пермь, 2020. С. 60-67.

2. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Скугорева С.Г., Лялина Е.И., Трефилова Л.В. Совершенствование тетразольно-топографического метода биотестирования с использованием цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. №1. 2017. С. 31-41.

3. Зыкова Ю.Н., Скугорева С.Г., Товстик Е.В., Ашихмина Т.Я. Подходы к оценке состояния городских почв методами биотестирования с использованием организмов различной систематической принадлежности и данных химического анализа // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 3. С. 38-46.

4. Зыкова Ю.Н. Комплексы водорослей, цианобактерий и грибов городских почв и их реакции на действие поллютантов. Автореф. канд. биол. наук. Москва, 2013. 22 с.

5. Скугорева С.Г., Дабах Е.В., Адамович Т.А., Кантор Г.Я., Шуктомова И.И., Ашихмина Т.А. Изучение состояния почв на территории вблизи КирОВО-Чепецкого химического комбината // Экологический риск и экологическая безопасность. 2009. 37 с.

6. Скугорева С.Г., Домрачева Л.И., Бушковская М.А., Трефилова Л.В. Оценка состояния почв г. Кирова методами химического анализа и биодиагностики // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Матер. XV

Всероссийской научно-практической конф. с международ. уч. Кн. 1. Киров: ВятГУ, 2017. С. 119-124.

7. Скугорева С.Г., Бушковская М.А., Трефилова Л.В., Зыкова Ю.Н. Биотестирование с использованием *Hordeum vulgare* L. в оценке состояния урбанизированных почв // Почвы и их эффективное использование: Матер. Международ. научно-практической конф., В 2 ч. Ч. 2. Киров: ФГБОУ ВО Вятская ГСХА, 2018. С. 85-91.

ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ Ni^{2+} НА ФАЗЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ БАКТЕРИЙ

Усманкулова А.А., Кадырова Г.Х., доктор биологических наук
Институт микробиологии Академия Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан

Введение. Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами оказывает прямое воздействие на микроорганизмы. Известно, что под влиянием тяжелых металлов происходят существенные изменения в морфологических, анатомических, биохимических и физиологических показателях микробных клеток. Хотя некоторые тяжелые металлы необходимы для физиологических процессов жизнедеятельности (например, компоненты металлоферментов), их избыточное накопление в живых организмах всегда вредно. Как правило, токсичные металлы вызывают инактивацию ферментов, повреждают клетки, действуя как антиметаболиты, или образуют осадки или хелаты с основными метаболитами [1,2]. В частности, катионы Ni^{2+} вызывают окислительный стресс у микроорганизмов, дестабилизируют функцию белков, нарушают целостность мембран, приводят к ассимиляции питательных веществ и повреждению ДНК [3]. Следовательно, устойчивость микроорганизмов к токсичности тяжелых металлов зависит от многих внешних и внутренних факторов.

Целью данной работы является анализ влияния различных концентраций высокотоксичного катиона никеля на стадии роста и развития бактерий.

Материалы и методы. В исследовании использованы штаммы *Bacillus thuringiensis* 1 и 4, *Pseudomonas aeruginosa* хранящиеся в коллекции института, а также чистые изоляты бактерий, выделенные из загрязненных тяжелыми металлами образцов почв - №11.2. Данные культуры выращивали в присутствии различных концентраций катионов Ni^{2+} в составе МПБ: 95,7 мг/л; 191,4 мг/л и 574,2 мг/л. В качестве контрольных образцов служила МПБ без добавления солей тяжелых металлов. Культуры инкубировали при 28°C. Для изучения влияния тяжелых металлов на продолжительность фазы роста бактерий проводили подсчет количество клеток, образовавшихся на 2, 4, 8, 10, 12, 15, 24 и 30 часах инкубации относительно контроля с помощью камеры Горяева [4].

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что стрессовое состояние в присутствии катионов Ni^{2+} немного ускоряет фазы развития штамма *Bacillus thuringiensis* 1 по сравнению с контролем, а фазы развития и репродукции штамма *Bacillus thuringiensis* 4 оказались на 7-8 час медленнее, чем в контроле.

Продолжительность фазы развития штамма *Pseudomonas aeruginosa* не изменяется относительно контроля, но при этом количество клеток культуры несколько уменьшается. Количество клеток данного штамма при выращивании при концентрации Ni^{2+} - 574,2 мг/л не изменяется относительно контроля, но увеличивается продолжительность фазы развития. Продолжительность логарифмической фазы составляет 5 часов. Латентная фаза (фаза гибели) начинается с 20 час инкубации культуры.

Показано, что максимальное время нарастания изолята №11.2 в 2 раза медленнее контроля при концентрации катиона Ni^{2+} - 95,7 мг/л. При этом, культура показывает наибольший прирост за 24 часа инкубации. А фаза гибели клеток начинается через 30 часов культивирования. Количество клеток культуры, выращенных при наиболее высокой

концентрации Ni^{2+} - 574,2 мг/л, достигает максимума через 12 часов инкубации. Следует отметить, что продолжительность стационарной фазы составляет 3 часа, а фаза гибели начинается с 15 часов инкубации.

Заключение. Результаты исследования показывают, что имеются существенные различия во времени и продолжительности фазы развития и размножения бактерий, выращенных при разных концентрациях катионов Ni^{2+} по отношению к контролю. Так как, в условиях стресса сохранение состояния гомеостаза у микроорганизмов обусловлено ферментативными свойствами каждого микроорганизма, потоком энергии, связыванием и уменьшением поступления тяжелых металлов в клетку [5,6]. На сегодняшний день изучение металлорезистентности микроорганизмов к ионам тяжелых металлов имеет важное значение для развития многих отраслей, таких как биоремедиация почвы, загрязненной тяжелыми металлами, и биологическая добыча полезных ископаемых. Таким образом, были отобраны изоляты и штаммы с высокой устойчивостью к катионам никеля и определено влияние ионов никеля на стадии развития исследованных культур по отношению к контролю.

Библиографический список

1. Reyes C, Hodgskiss LH, Kerou M, Pribasnig T, Abby SS, Bayer B, Kraemer SM, Schleper C. Genome wide transcriptomic analysis of the soil ammonia oxidizing archaeon *Nitrososphaera viennensis* upon exposure to copper limitation. *ISME J* 2020;14(11):2659–2674.
2. Gwak J-H, Jung M-Y, Hong H, Kim J-G, Quan Z-X, Reinfelder JR, Spasov E, Neufeld JD, Wagner M, Rhee S-K. Archaeal nitrification is constrained by copper complexation with organic matter in municipal wastewater treatment plants. *ISME J* 2020;14(2):335–346.
3. Lemire JA, Harrison JJ, Turner RJ. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat Rev Microbiol* 2013;11 (6):371–384.
4. Лабораторный практикум по общей микробиологии / О. В. Прунтова, О. Н. Сахно; Владим. гос. ун-т. - Владимир: Изд-во ВлГУ, 2005. -76 с.
5. Xu S, Xing Y, Liu S, Luo X, Chen W, Huang Q. Co-effect of minerals and Cd(II) promoted the formation of bacterial biofilm and consequently enhanced the sorption of Cd(II). *Environ Pollut* 2020; 258:1137-1174.
6. Hodgkinson V, Petris MJ. Copper homeostasis at the host-pathogen interface. *J Biol Chem* 2012;287(17):13549–55.

ПРОКАРИОТЫ ЧЕРНОЗЕМА ТИПИЧНОГО МОЛДОВЫ

Фрунзе Н.И., доктор сельскохозяйственных наук; Индоиту Д.Д.; Тону Н.И.

**Институт Микробиологии и Биотехнологии Академии наук Молдовы,
г. Кишинёв, Республика Молдова**

Введение. Прокариоты имеют исключительное значение для жизни на Земле. Им принадлежит основополагающая роль в циклических превращениях основных элементов, необходимых для жизни (углерод, кислород азот, сера, фосфор) [1, 3]. Интерес к ним особенно возрос с внедрением молекулярно-биологических методов, которые внесли особый вклад в развитие микробиологии. Событием особой важности стало и открытие третьего домена жизни. В предложенной Карлом Вёзе трёхдоменной системе представители прокариот - археи и бактерии выделены в отдельные домены, наряду с доменом эукариоты. Теперь археи и бактерии связаны между собой не более тесно, чем с эукариотами. Термин «прокариоты» означает только «не эукариоты» [5]. Использование метода секвенирования гена 16S рРНК в филогенетической таксономии помогает изучить структуру микробных сообществ почвы, а затем оценить их связи с изменениями свойств почвы, что в конечном счёте играет важную роль в решении наиболее актуальных проблем экологии, например, таких как дегумификация почв и глобальное потепление [2, 4]. В данной работе были

изучены таксономическая структура и разнообразие прокариотных сообществ чернозема типичного Молдовы на основе анализа гена 16S рНК.

Материалы и методы. Исследования проводились в 2020 году в длительном стационарном опыте «Биотрон» (г. Кишинев, опыт с 1995 г). Изучались 4 варианта в рамках двух систем земледелия - пашня кормового севооборота и лесополоса. Исследуемые варианты: 1 - контроль (севооборот, без удобрений); 2 - минеральный фон (севооборот, минеральные удобрения); 3 - органический фон (севооборот, навоз КРС); 4 - естественный фон (лесополоса). Анализировался весенний и летний период. Почва – чернозем типичный слабо гумусированный, содержание гумуса в слое 0-60 см - от 2,2 до 3,4 %. Метагеномный анализ почвенного микробиома осуществлялся с применением технологии высокопроизводительного секвенирования, т.е. «считывания» нуклеотидных последовательностей в нуклеиновой кислоте. Молекулярно-генетический анализ проводился с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия.

Результаты и их обсуждение. В изученном черноземе были представлены оба домена прокариот, как бактерии (*Bacteria*), так и археи (*Archaea*). Хотя основную часть прокариот составляли представители домена *Bacteria* – 71,4-87,7 %, обилие прокариот домена *Archaea* было обратно пропорциональной домену *Bacteria*. Коэффициент корреляции весной составил -0,4, а летом -0,3. В весенний период доля бактерий в общем составе прокариотического сообщества почвы на контроле (неудобренный фон) составила 87,7 %, в почве лесополосы (естественный фон) – 76,6 %, на других вариантах обилие бактерий уменьшалось: минеральный фон – 71,4 %, органический фон – 72,7 % (рис. 1).

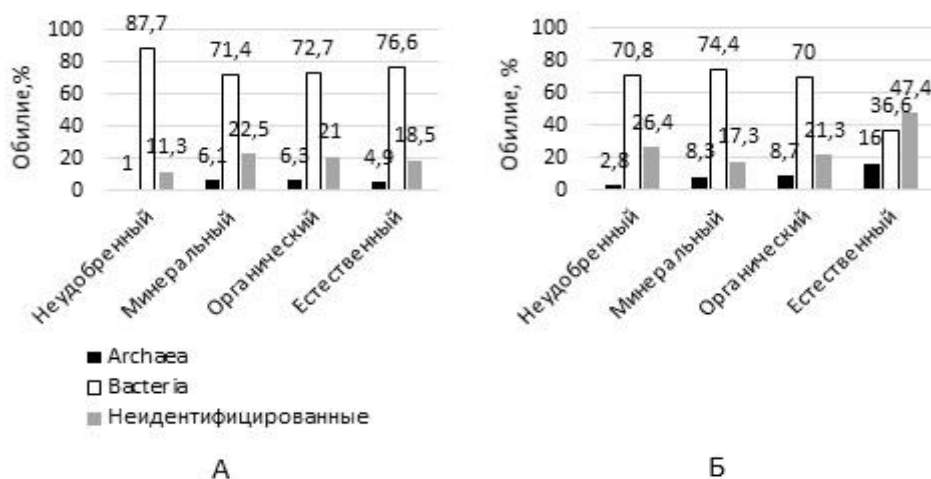


Рис. 1. Соотношение прокариот *Bacteria* : *Archaea* в черноземе типичном слабо гумусированном: А – весенний период, Б – летний период.

Присутствие представителей домена *Archaea* было минимальным в почве неудобренного фона – 1,0 %, затем в почве лесополосы – 4,9 %, в почве минерального и органического фона – 6,1 и 6,3 % соответственно. Следует отметить, что при этом самое большое количество неидентифицированных прокариот регистрировалось в почвенном микробиоме удобренных фонов – 21,0-22,5 %, затем в почве лесополосы – 18,5 %. Количество неидентифицированных прокариот в почве неудобренного фона было минимальным – 11,3 %.

В летний период присутствие представителей домена *Bacteria* отличалась меньше: в неудобренном фоне – 70,8 %, в минеральном и органическом фонах – 74,4 и 70 % соответственно. В почве лесополосы обнаружено наименьшее обилие бактерий – 36,6 %, тогда как доля представителей домена *Archaea* составила 16 %, доля неидентифицированных прокариот была наибольшей. Количество прокариот домена *Archaea* в почве лесополосы составило 2,8 %, на удобренных вариантах – в 2 раза меньше, чем количество бактерий. На

самом деле такое снижение подчеркивает увеличение обилия представителей домена *Archaea* в сравнении с весенним периодом, а также снижение количества неидентифицированных прокариот на варианте с применением минеральных удобрений и увеличение их количества в почве неудобренного фона.

С помощью метагеномного анализа установлено, что бактериальные сообщества почв сформированы 12 филумами, 11 из которых относились к домену *Bacteria*: *Proteobacteria* – в среднем 29,3 %, *Actinobacteriota* – 20,7 %, *Firmicutes* – 14,2 %, *Bacteroidota* – 4,2 %, *Cyanobacteria* – 1,6 %, *Verrucomicrobiota* – 0,9 %, *Planctomzcecota* – 0,5 %, *Gemmatimonadota* – 0,5 %, *Mухосoccota* – 0,4 %, *Fusobacteriota* – 0,3 %, *Nitrospirota* – 0,2 %. Только один филум относится к домену *Archaea*: *Crenarchaeota* – 5,31 %. Среди них можно выделить 5 доминирующих филумов: *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, *Crenarchaeota* и *Bacteroidota*.

Присутствие прокариот изменялось в зависимости от системы землепользования, фона, а также от вегетационного периода. В основном наблюдалось доминирование филумов *Actinobacteriota* и *Proteobacteria*, за исключением естественного фона (лесополоса) в весенний период и минерального фона в летний период, когда наблюдалось доминирование филума *Firmicutes* (рис. 2). Стоит отметить, что в почве лесополосы в летний период эта доля значительно снизилась, и первенство принадлежало филуму *Crenarchaeota*. Количество неидентифицированных таксонов в домене *Bacteria* составило около 0,8 %. Микроорганизмы со случайной или редкой встречаемостью относились к следующим филумам: *Gemmatimonadota* 2,0-0,6 %, *Cyanobacteria* 1,3-2,1 %, *Mухосoccota* 0,9-1,3 %, *Nitrospirota* 0,2-0,4 %, *Patescibacteria* 0,1-0,2 %, *Fibroacterota* 0-0,1 %.

В весенний период доля представителей филума *Actinobacteriota* была наивысшей в почве неудобренного фона (рис. 2А), на остальных вариантах филум *Actinobacteriota* был на втором месте в общем составе прокариотического сообщества. Представители филума *Proteobacteria* имели наибольшее обилие в почве удобренных вариантов, в почве неудобренного варианта занимали второе место, а на естественном фоне третье место. Прокариоты филума *Firmicutes* занимали первое место только в почве лесополосы 50,1 %, на остальных вариантах - третью позицию. Представители филума *Bacteroidota* регистрировали наивысшее обилие в удобренных вариантах, затем в почве неудобренного фона, самое низкое обилие наблюдалось в почве естественного фона. Доля представителей филума *Crenarchaeota* из домена *Archaea* колебалась от 1,0 до 6,3 %, что составляло пятое место, и только в почве естественного фона – четвертое.

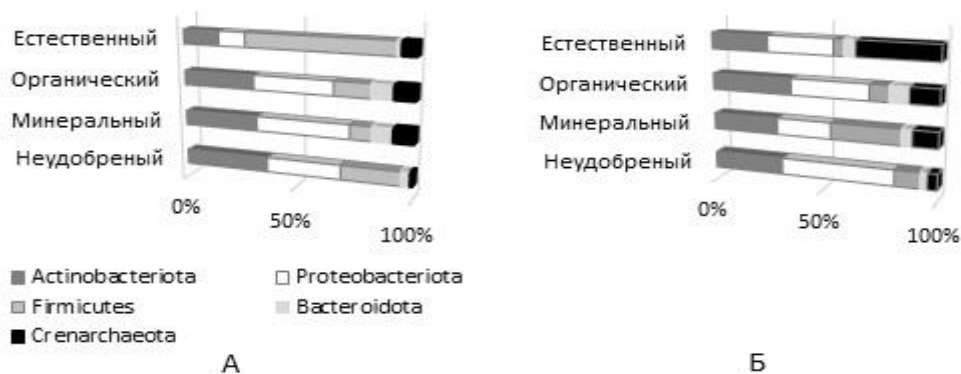


Рис. 2. Доминирующие филумы прокариотических сообществ чернозема типичного: А – весенний период, Б – летний период.

В летний период наблюдалась перестройка прокариотических сообществ, но в основном доминантными оставались те же филумы с некоторыми исключениями. Так, доля представителей филума *Proteobacteria* уже была максимальной на неудобренном фоне, наименьшее их относительное обилие регистрировалось в почве минерального фона (рис.

2Б). Представители филума *Actinobacteria* в наибольшем количестве содержались в почве органического фона, в почве неудобренного и минерального фона они занимали второе место, а в почве лесополосы (естественный фон) - третье. Прокариоты филума *Firmicutes* доминировали в почве минерального фона, затем неудобренного, органического, естественного. Примечательно что, хотя в почве естественного фона наивысшее обилие представителей домена *Firmicutes* наблюдалось весной, летом уже доля этих представителей в этом же фоне была наименьшей, и первенство принадлежало археям филума *Crenarchaeota*. Последние увеличивали своё присутствие в летний период и на других фонах. В почве естественного фона наблюдалось также увеличение доли представителей филума *Bacteroidota*, в остальных вариантах их относительное обилие уменьшилось, и они в основном замыкали список доминирующих филумов.

Заключение. В черноземе Молдовы идентифицированы 12 филумов прокариот, 11 из которых принадлежат домену *Bacteria* и один домену *Archaea*. Основную часть прокариот составляли представители домена *Bacteria* 71,4-87,7 %. Обилие прокариот домена *Archaea* было обратно пропорционально домену *Bacteria* ($r_{\text{весна}} = -0,4$, а $r_{\text{лето}} = -0,3$). Филумы *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, *Crenarchaeota* и *Bacteroidota* составляли большую долю в изученных почвенных микробиомах. Во всех вариантах выявлены малоизученные представители домена *Archaea*. Наибольшей долей археи обладали почвенные микробиомы лесополосы в летний период.

Исследования выполнялись в рамках научно-исследовательского проекта 20.80009.5107 «Эффективное использование почвенных ресурсов и микробного разнообразия за счет применения элементов биологического (органического) земледелия».

Библиографический список

1. Изучение структуры микробного сообщества почв разной степени засоления с использованием T-RFLP и ПЦР с детекцией в реальном времени / Е.Е. Андронов, С.Н. Петрова, А.Г. Пинаев, Е.В. Першина, С.Ж. Рахимгалиева, К.М. Ахмеденов, А.В. Горобец, Н.Х. Сергалиев // Почвоведение. 2012. № 2. С. 8-18.
2. Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические аспекты исследований в экологии и микробиологии. Москва : Изд-во Моск. ун-та, 2010. 47 с.
3. Сезонная динамика почвенного микробиома многолетнего агрохимического опыта на черноземах Каменной Степи / Т. И. Чернов, А. К. Тхакахова, Е. А. Иванова, О. В. Кутовая, В. И. Турусов // Почвоведение. 2015. № 12. С. 1483–1488.
4. Trevors J. T. One gram of soil: a microbial biochemical gene // Antonie van Leeuwenhoek. 2010. № 97. С. 99-106.
5. Woese C.R. Bacterial evolution // Microbiol. Rev. 1987. № 51. P. 221-271.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Хусанов Т.С., старший научный сотрудник, PhD; Кадырова Г.Х., старший научный сотрудник, доктор биологических наук; Абдуллаев А.К., старший научный сотрудник, PhD; Атаджанова Ш.Ш.; Нармухаммедова М.К.

**Институт микробиологии Академия Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан**

Введение. Антагонисты — это встречающиеся в природе организмы со свойствами, позволяющими им препятствовать росту различных патогенов растений [1]. Механизмы, ответственные за антагонистическую активность, включают: (1) ингибирование возбудителя антибиотиками, токсинами и биосурфактантами; (2) конкуренция за места колонизации,

питательные вещества и минералы; (3) паразитизм, который может включать продукцию внеклеточных ферментов, разрушающих клеточную стенку, таких как хитиназа и β -1,3 глюканаза; (4) микофагия [2-5]. Антагонистические бактерии играют важную роль в подавлении болезней растений, передающихся через почву, и могут использоваться в качестве агентов биологического контроля. Известно, что многие микроорганизмы заселяют зону почвы, прилегающую к корням растений, называемую ризосферой. Они обладают способностью взаимодействовать с корнями растений; и в последние годы привлекает внимание многих исследователей [6, 7].

В настоящее время необходимо разработать альтернативные механизмы индуцирования резистентности растений к патогенам, таким как грибы, бактерии, насекомые, простейшие и вирусы. Так, биологический контроль с использованием антагонистических микроорганизмов предлагает недорогую экологически чистую технологию, которая снижает количество и активность фитопатогенов растений.

Исходя из вышесказанного, **целью** исследования является изучение антифунгальной и антибактериальной активности местных штаммов ризосферных бактерий пшеницы (*Triticum aestivum* L.) рода *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Материалы и методы. В работе использовали штаммы бактерий рода *Bacillus* и *Pseudomonas* выделенные из ризосферы пшеницы «Дустлик» и «Гром» возделываемый в Сырдарьинском регионе Республики. Для хранения, размножения и поддержания культур ризосферных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* C10, *P. aeruginosa* C23, *P. stutzeri* C4, *Bacillus pumilus* C16, *Bacillus cereus* C19 и *Bacillus subtilis* C27 использовались следующие питательные среды: мясо-пептонный агар (МПА); мясо-пептонный бульон (МПБ); картофельно-глюкозный агар (КГА) (состав г/л): картофельный отвар (0,2 кг картофеля в литре воды), глюкоза – 20, агар-агар – 15.

Тест-культурами при изучении фунгицидных свойств ризобактерий послужили штаммы фитопатогенных грибов: *Verticillium dahlia* 57, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* 181, *Alternaria alternata* (штаммы из коллекции Института микробиологии АН РУз). Культуры бактерий-антагонистов выращивали на жидкой среде МПБ стационарно при 28°C в течение 3-х суток, фунгицидную активность определяли с помощью метода «колодцев» [8] на картофельно-глюкозном агаре.

Бактерицидную активность проверяли на 3-х штаммах фитопатогенных бактерий: *Bacillus badius*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus mojavensis* выделенных из заражённых листьев томата, выращенного в условиях закрытого грунта в Ташкентской области, и идентифицированного методом масс-спектрометрии MALDI-TOF. Бактерицидную активность изучали с помощью метода «колодцев» [8] на 2% картофельном агаре (20 г очищенного картофеля отваривали 30 мин, фильтровали через марлю, к фильтрату добавляли 15 г агара, объем доводили до 1 л, устанавливали pH=7,0, разливали по колбам, стерилизовали 20 мин при 1 атм.).

Антимикробные вещества, диффундирующие в толщу агара, задерживали рост чувствительных к ним микроорганизмов, что проявлялось в образовании зон отсутствия роста микробов-патогенов.

Результаты и их обсуждение. В данной работе исследовали антагонистические свойства эффективных ростостимулирующих и фосформобилизующих ризобактерий к фитопатогенным грибам *Fusarium* sp. 17, *F. oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* 181, *Alternaria alternata* и бактериям *Bacillus badius*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus mojavensis*. Результаты экспериментов свидетельствуют о более эффективном подавлении фитопатогенных грибов рода *Fusarium* ризобактериями *P. aeruginosa* C10, *P. aeruginosa* C23, *P. putida* 12, *P. stutzeri* C4, *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27. Антагонистический эффект ризобактериальных штаммов измеряли по диаметру зоны ингибирования гриба-патогена. Следовательно, зоны подавления роста фитопатогенных грибов *Fusarium* sp.17, *F. oxysporum* и *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* 181 ризобактериями *P. aeruginosa* C10 составляет 21,6 мм, 26 мм и 22 мм, соответственно. Известно, что бактерии рода *Pseudomonas* являются

одним из наиболее распространенных полезных ризобактерий среди больших и гетерогенных бактериальных популяций в ризосфере и поэтому привлекают все большее внимание как источник потенциальных биологических агентов контроля [2, 6].

Показано, что зоны подавления роста и развития фитопатогенных грибов *Fusarium sp.*17, *F. oxysporum* и *F. oxysporum f. sp. vasinfectum* 181 ризобактериями *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27 составляет 16 мм, 18 мм и 15 мм; 14мм, 12 мм и 14 мм; 12 мм, 10 мм и 14 мм, соответственно. Следует отметить, что *P. aeruginosa* C10 активно подавляет рост и развитие фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, но не активен к *Alternaria alternata*. В то же время ризобактерии рода *Bacillus* демонстрировали наиболее высокую антагонистическую активность к патогену *Alternaria alternata*. Так, зоны подавления роста и развития *Alternaria alternata* культурами *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27 составляет 20 мм, 24 мм и 25 мм, соответственно. Это согласуется с тем, что бактерии рода *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Serratia* являются хорошо известными бактериями-антагонистами. Они обладают широким спектром антагонистической активности для борьбы с фитопатогенами [9].

Также была проанализирована бактерицидная активность ризосферных штаммов рода *Bacillus* и *Pseudomonas* по отношению к различным штаммам фитопатогенных бактерий (*Bacillus badius*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus mojavensis*).

Экспериментально установлено, что штамм *P. aeruginosa* C10 обладает наиболее высокой бактериоцидной активностью против исследованных фитопатогенных бактерий. Так зона ингибирования в отношении *Bacillus badius* составляла 26 мм, *Bacillus mesentericus* – 18 мм, на *Bacillus mojavensis* – 22 мм. Полученные результаты согласуется с тем, что многие виды *P. aeruginosa* обладают особенностями, которые могут быть ценными с точки зрения использования их в сельском хозяйстве, главным образом благодаря своей устойчивости, способности конкурировать с патогенами и способности продуцировать вторичные метаболиты, подавляющие рост патогенов. Соответственно, такие штаммы являются потенциальными агентами биоконтроля. Проведенными исследованиями установлено, что ризобактерии *P. putida* C12, *P. stutzeri* C4, *B.cereus* C19, *B. subtilis* C27 подавляют рост и развитие патогенов *Bacillus badius*, *Bacillus mesentericus* и *Bacillus mojavensis*. Тогда как культура *B. pumilus* C16 оказался самым неустойчивым к действию исследуемых патогенов. Следует отметить, что культура *B. cereus* C19 проявляет выраженную антагонистическую активность в отношении трех исследуемых тест-культур.

Заключение. Таким образом, проанализирована фунгицидная и бактерицидная активность ростостимулирующих ризобактерий *P. aeruginosa* C10, *P. aeruginosa* C23, *P. stutzeri* C4, *P. putida* C12, *B. pumilus* C16, *B. cereus* C19 и *B. subtilis* C27. Экспериментально установлено, что исследуемые штаммы ризобактерий обладают фунгицидной активностью против фитопатогенных грибов *Fusarium sp.*17, *F. oxysporum* и *F. oxysporum f. sp. vasinfectum* 181. Показано что *P. aeruginosa* C10 активно подавляет рост и развитие фитопатогенных грибов рода *Fusarium*. Штамм ризобактерий *B.cereus* C19 проявляет выраженную антагонистическую активность в отношении фитопатогенных бактерий: *Bacillus badius*, *Bacillus mesentericus* и *Bacillus mojavensis*. Ризобактерии - антагонисты могут быть полезны при разработке новых инокулянтов с комбинациями различных механизмов действия, что приведет к более эффективному использованию стратегий биоконтроля для улучшения продуктивности сельскохозяйственных растений.

Библиографический список

1. Chernin L Chet I (2002) Microbial enzymes in biocontrol of plant pathogens and pests. Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications (Burns R Dick R, eds), pp.171–225. Marcel Dekker, Inc., New York.
2. De Souza JT De Boer M De Waard P Van Beek TA Raaijmakers JM (2003) Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. Appl Environ Microbiol 69:7161–7172.

3. Saraf M., Pandya U. and Thakkar A. (2014): Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. *Microbiol. Res.*, 169: 18-29.
4. Zandi P., Basu S.K. Role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) as biofertilizers in stabilizing agricultural ecosystems. In *Organic Farming for Sustainable Agriculture*; Nandwani, D., Ed.; Springer: Cham, Switzerland, 2016; pp. 71–87.
5. Raklami A., Bechtaoui N., Tahiri A., Anli M., Meddich A., Oufdou K. Use of rhizobacteria and mycorrhizae consortium in the open field as a strategy for improving crop nutrition, productivity and soil fertility. *Front. Microbiol.* 2019, 10, 1106.
6. Yasmin, S.; Hafeez, F.Y.; Mirza, M.S.; Rasul, M.; Arshad, H.M.I.; Zubair, M.; Iqbal, M. Biocontrol of Bacterial Leaf Blight of rice and profiling of secondary metabolites produced by rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* BRp3. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 1895.
7. Chandra H., Kumari P., Bisht R., Prasad R., Yadav S. Plant growth promoting *Pseudomonas aeruginosa* from *Valeriana wallichii* displays antagonistic potential against three phytopathogenic fungi. *Mol. Biol. Rep.* 2020, 47, 6015–6026.
8. Magnusson J., Schnurer, J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad – spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology.* 2001. Vol.67. No.1. P.1–5.
9. Balthazar C., Novinscak A., Cantin G., Joly D.L., Filion M. Biocontrol activity of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. Against *Botrytis cinerea* and other cannabis fungal pathogens. *Phytopathology* 2021, 1–47.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ФИТОПАТОГЕНОВ В ИНТЕНСИВНОМ ЯБЛОНЕВОМ САДУ

**Хусанов Т.С., старший научный сотрудник, PhD;
Нармухаммедова М.К.; Жумаёров Ш.И.**

**Институт микробиологии Академия Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан**

Введение. Возбудители различных болезней растений, особенно фруктовых деревьев, наносят огромный ущерб не только на их урожайность, но и окружающую среду, здоровье населения. Подавляющее количество, исчисляющие более 80 % относятся к фитопатогенным грибам относящиеся различным таксономическим группам. Потери урожая и снижение их качества, вкусовых показателей зависит от возбудителей грибных болезней, в зависимости от агроэкологии в различные годы, что варьируют от 5 до 30 %, тогда как эпифитотийные – до 50 % и более.

Научно обоснованная защита растений и мероприятия по максимальному снижению потерь урожая основываются на точной диагностике вредящего вида, его систематической принадлежности, знании жизненного цикла развития гриба, путей и способов его сохранения, распространения, возобновления и динамики вызванного ими болезней инфекционного процесса [3].

Растущий из года в год спрос на продукты питания в мире, требует дальнейшего расширения сельскохозяйственного производства и стабильных поставок высококачественных продуктов питания. На сегодняшний день в мире существует площадью 4,9 миллиона гектара яблоневых садов, в них производятся до 83,1 миллиона тонн яблоки/год.

Яблони подвержены болезням точно так же, как и другие растения на садовом участке. К сожалению, каждый садовод хотя бы раз сталкивался с заболеваниями яблони. К числу болезней относятся пятна на листьях, нарушенная пигментация, сморщение, высыхаемость, искривление, сопровождающиеся с параллельным ухудшением вкуса плодов,

поражение растения, приводящий иногда к их гибели. Быстро распространяясь с дерева на дерево, грибки и бактерии ослабляют их, зачастую приводя к гибели. К числу наиболее распространенных в условиях республики болезней относятся: парша яблони и груши, плодовая гниль, раковые болезни грибного и бактериального происхождения.

Поражение паршой приводит к снижению роста, развития растений и их зимостойкости. На ослабленных болезнью деревьях уменьшается количество плодовых почек, что приводит к ощутимым потерям урожая.

В этой связи сочли нужным перечислить некоторые широко Распространенные болезни:

Плодовая гниль яблони и груши. Возбудитель болезни – гриб *Monilia fructigena Pers.* Кроме яблони и груши болезнь может развиваться и на плодах косточковых культур. Поражает в основном плоды, но может поражать цветы и плодовые прутики. При теплой погоде и обилии осадков в июле-августе болезнь достигает высокого уровня и уничтожает до 50% урожая[1].

Альтернариоз. Заражение болезнью плодов яблони и груши происходит в саду, но признаки болезни появляются на плодах в период хранения. Альтернариоз яблони распространен в основном в странах теплого и влажного климата (Япония, Южная Корея, Индия и др.). Возбудитель болезни — гриб *Alternaria* поражает листья яблони, вызывая образование небольших округлых пятен бурого цвета, часто с темным окаймлением. Они могут разрастаться, объединяться, что приводит к пожелтению и преждевременному опадению листы. Заболевание проявляется также на плодах в виде опробковевших пятен, напоминающих симптомы недостатка кальция.

В 90-х годах альтернариоз стал распространяться во многих странах Европы и Америки. В 1993 г. отмечена эпифитотия альтернариоза в Северной и Центральной части штата Каролина (США), в результате которой произошло опадение 50—60% листы яблонь. В настоящее время заболевание регистрируется в США в штатах Джорджия, Вирджиния и на севере Атлантического региона[2,4].

Мучнистая роса. Это грибковое заболевание поражает все виды плодово-ягодных культур, в том числе яблони. У зараженных деревьев листья скручиваются, приобретают сероватый оттенок, быстро засыхают. Молодые побеги останавливаются в росте. Если грибок распространился на бутоны – они не завяжут плодов, что приведет к снижению урожайности и ослаблению дерева[4].

Цитоспороз. Этот грибок поражает кору яблонь, вызывая высыхание ее отдельных участков. На коре ствола или веток можно заметить язвы. Они разрастаются довольно быстро и темнеют. При цитоспорозе яблони кора отомрет вместе с отдельными ветками. Погибнуть от этого грибка может и молодое, и старое дерево.

Материалы и методы. Научные исследования проводилась на опытном участке НИИ садоводства, виноградарства и виноделия имени акад. М. Мирзаева, который расположен в 3 км к северу от г. Ташкента, на высоте 486 м над уровнем моря. Почва участка типично сероземная, орошаемая с глубокими грунтовыми водами. С целью выделения фитопатогенов изначально проводили фитосанитарный контроль деревьев яблони. Было обнаружены деревья, с ярко пораженными листьями, В ходе идентификации в яблоневом саду было обнаружено 35 различных сортов яблок: зимний, осенний, ранней и летний.

Результаты и их обсуждение. Наблюдение за интенсивными семенными и фруктовыми садами показали наличие в саду бактериальных, грибковых и вирусных заболеваний, вызванные болезнетворными микроорганизмами.

Подвергнуты к болезни были сорта яблони «Осенний-кинг Девид», «Зимний-муцу», «Ранний осенний – «Гондраш», осенний- «Стар-кинг», «Делишес».

Для изучения морфологии и систематическое положение фитопатогенов их выращивали на различных питательных средах в течение 10-15 дней в камере с искусственным климатом при +25 +26⁰ С. Загрязненные образцы очищали методом

предельного разведения суспензии пораженных листьев, с последующим их выкашиванием до получения одиночных колоний грибов.

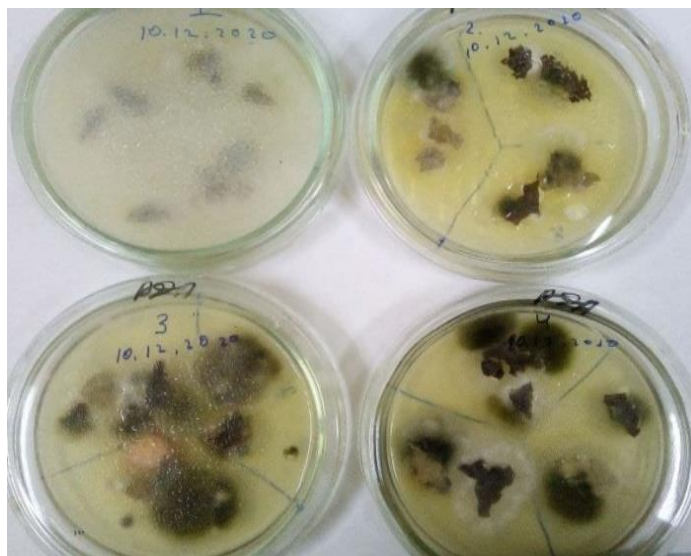


Рис. 1. Образцы грибов, выделенные из листьев яблони сорта «Осенний-кинг Девид», «Ранний осенний – Гондраш», выращенные на среде картофель декстрозный агар в течение 3–5 дней

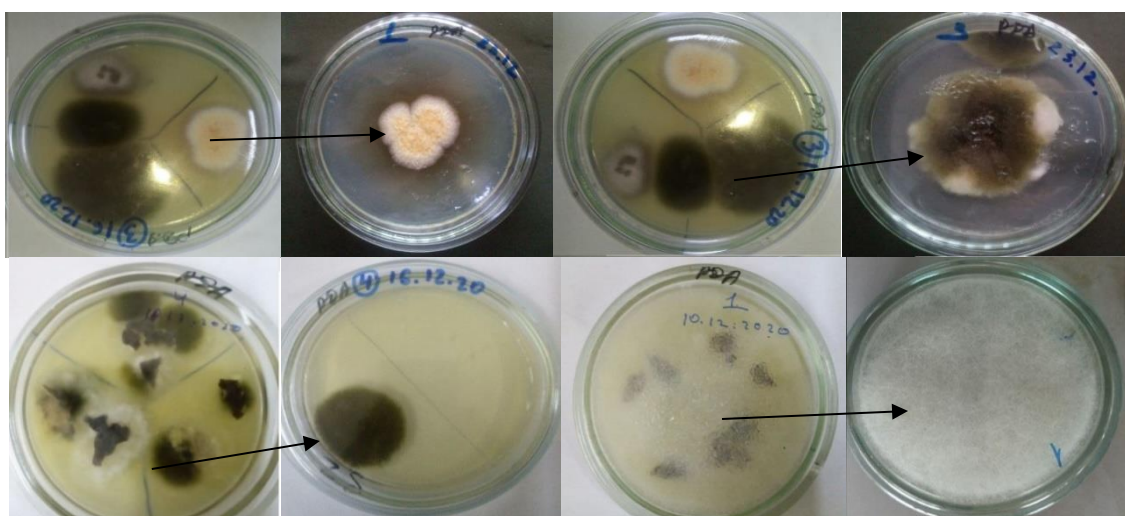


Рис. 2. Внешний вид колоний отдельно высаженные изолятов грибов, полученные из больных листьев яблони сорта «Осенний-кинг Девид», «Ранний осенний – Гондраш».

Заключение. Образцы отделенных колоний идентифицировали на приборе методом MALDI-TOF. В результате исследования из образцов пораженных листьев больных растений в саду и выделены чистые культуры грибов *Alternaria alternata*, *Alternaria longipes*, *Aspergillus flavus*. Далее были проведены исследования по изучению морфологические, систематические, биологические особенности выделенных штаммов.

Библиографический список

1. Гагкаева Т.Ю., Левитин М.М.: Альтернариоз – новое опасное заболевание яблони на Юге России, Всероссийский НИИ защиты растений. СПб., 2009.
2. Григорцевич Л.Н. Защита плодовых деревьев от болезней в садах интенсивного типа. Минск, 2010. С. 11-14.

3. Сокирко В.П., Горьковенко В.С., Зазимко М.И. Фитопатогенные грибы (морфология и систематика). Краснодар, 2014.
4. <https://agro-market.net>

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МИКРОБИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Чердакова А.С., кандидат биологических наук;

Гальченко С.В., доцент, кандидат биологических наук; Ситкина Н.А.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина»,
г. Рязань, Россия

Введение. Одними из наиболее опасных и распространенных загрязнителей почв являются нефть и продукты ее переработки. Среди способов ремедиации нефтезагрязненных почв весьма эффективными и экологически безопасными являются биологические методы, основанные на использовании микробиодеструкторов, для которых углеводороды служат питательным субстратом [2-4]. Учитывая объемы и масштабы загрязнения почв нефтепродуктами возникает необходимость научного поиска способов стимуляции процессов их биоремедиации [1, 5-7]. По нашему мнению, в данном аспекте весьма перспективны гуминовые вещества и препараты на их основе.

Целью наших исследований являлась экспериментальная оценка влияния гуминовых препаратов на процессы микробиологической ремедиации почв, загрязненных нефтепродуктами различных фракций.

Материалы и методы. Объектом исследования служили промышленные гуминовые препараты, полученные из различного сырья.

Основой исследования выступали вегетационные эксперименты, в рамках которых были смоделированы процессы микробиологической ремедиации серой лесной почвы, загрязненной нефтепродуктами различных фракций (бензин, дизельное топливо, мазут). В качестве источника нефтеокисляющей микрофлоры применяли биопрепарат «Дестройл» (культура штамма *Acinetobacter species JN-2*). В искусственно загрязненную нефтепродуктами серую лесную почву вносили указанный биоремедиатор и гуминовые препараты (в виде 0,01 % водных растворов). Контролем выступали образцы без внесения гуминовых препаратов.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что гуминовые препараты оказывают выраженный стимулирующий эффект на процессы микробиодеструкции различных нефтепродуктов в загрязненной почве, но его наличие и выраженность зависит как от свойств нефтепродукта-загрязнителя, так и от характеристик применяемых гуминовых препаратов.

В отношении почв, загрязненных бензином, эффективность гуминовых препаратов не установлена, поскольку на контрольных вариантах практически весь загрязнитель к моменту окончания эксперимента улетучился.

В отношении нефтепродуктов средних и тяжелых фракций стимулирующее действие гуминовых препаратов проявилось весьма отчетливо, но определялось источником их получения.

Так, при ремедиации почвы, загрязненной дизельным топливом, более эффективными являлся гуминовый препарат «Экорост», полученный из торфа. Под его воздействием степень биодеструкции загрязнителя выросла на 25-70 %, в зависимости от варианта эксперимента. Максимальная стимуляция микробиоремедиации почв, загрязненных мазутом, наблюдалась при использовании гуминового препарата «Гуми», полученного из угля. Его внесение стимулировало процессы биоутилизации мазута на 10-40 % по сравнению с контролем.

Заключение. Таким образом, отмечена высокая эффективность совместного использования нефтеокисляющей микрофлоры и гуминовых препаратов в целях биоремедиации серой лесной почвы, загрязненной нефтепродуктами средней и тяжелой фракций.

Библиографический список

1. Гречищева Н.Ю. Разработка научных основ применения гуминовых веществ для ликвидации последствий нефтезагрязнения почвенных и водных сред : дис. ... д-ра хим. наук: 03.02.08 / Гречищева Наталья Юрьевна. Москва, 2016. 326 с.
2. Aerobic degradation of crude oil by microorganisms in soils from four geographic regions of China / Q. Liu, J. Tang, K. Gao, J. P. Giesy // *Scientific Reports*. 2017. № 7 (Part C). pp. 15-38.
3. Atlas R. M., Hazen T.C. Oil Biodegradation and Bioremediation: A Tale of the Two Worst Spills in US History // *Environmental Science & Technology*. 2011. № 45 (16). pp. 67-75.
4. Bioremediation of Oil Spills on Land / L. D. Brown, D. L. Cologgi, K. F. Gee, F. Gee, A. C. Ulrich // *Oil Spill Science and Technology: Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey Published simultaneously in Canada*, 2015. 724 p.
5. Lipczynska-Kochany E. Humic substances, their microbial interactions and effects on biological transformations of organic pollutants in water and soil: A review // *Chemosphere*. 2018. V. 202. pp. 420-437.
6. Stimulation of the activity of microorganisms by humin preparations in oil-polluted soils / A. A. Ivanov, N. V. Yudina, E. V. Mal'tseva, E. Ya. Matis, L. I. Svarovskaya // *Eurasian Soil Science*. 2010. V. 43. pp. 210-215.
7. Stabilization of oil-in-water emulsions by highly dispersed particles: role in self-cleaning processes and prospects for practical application / N.Y. Grechishcheva, S.V. Meshcheryakov, I.V. Perminova, V.A. Kholodov // *Russian journal of general chemistry*. 2017. V. 87. pp. 2166-2180.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СКЛАДИРОВАНИЯ ТВЕРДЫХ КОММУНАЛЬНЫХ ОТХОДОВ НА ЗЕМЛИ СЕЛЬХОЗНАЗНАЧЕНИЯ ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Шеховцова Н.Н., доцент, кандидат биологических наук¹, **Холошненко А.В.**²

¹ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова»,

²Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору
по Тверской и Ярославской областям, г. Ярославль, Россия

Введение. Развитие промышленности и рост городов способствуют улучшению качества жизни населения. Однако, одновременно возникают санитарно-экологические проблемы, вследствие интенсивного образования разнообразных твердых коммунальных отходов (ТКО) и недостаточно развитой промышленной базы по их переработке. Земли сельскохозяйственного назначения являются стратегически и жизненно важной категорией земель. Они используются для производства сельскохозяйственной продукции, являются основой экономического и экологического благополучия страны. Плодородие сельскохозяйственных почв влияет не только на количество, но и на качество выращиваемой продукции, которое имеет прямое воздействие на организм человека. В ходе антропогенной деятельности населения на землях сельскохозяйственного назначения появляются несанкционированные свалочные образования. Они изменяют почвенно-геологическую среду, нарушая геохимический барьер для поллютантов, вымываемых из мусорной толщи, расположенной на поверхности [5]. Свалки ТКО, как правило, являются источником загрязнения окружающей природной среды (ОПС) тяжелыми металлами (ТМ). В некоторых

случаях отмечают превышение ПДК по формальдегиду, фенолам, фторидам и нефтепродуктам в почвах и промывных водах, а в приземных слоях атмосферы – по диоксиду серы, аммиаку, формальдегиду, метилмеркаптану и сероводороду [6]. Дополнительно, под воздействием солнечного света, пожаров и атмосферных осадков на свалках ТКО могут образовываться токсичные вещества, такие как диоксины и фураны [4]. Несанкционированные свалки ТКО, привлекая животных, являются и источником биологического загрязнения: яйцами гельминтов, яйцами и куколками паразитирующих насекомых. За счет физического перемещения и функционирования пищевых цепей происходит расширение зоны биологического загрязнения и распространения патогенных микроорганизмов [2, 7]. Между тем, изменения в аборигенном почвенном микробоценозе под свалочным телом являются более чутким индикатором экологического неблагополучия по сравнению с визуальным осмотром места складирования ТКО. В связи с вышесказанным, **цель** настоящего исследования состоит в оценке влияния складирования твердых коммунальных отходов на земли сельскохозяйственного назначения по некоторым микробиологическим показателям циклов углерода и азота.

Материалы и методы. Материалом исследования являются 4 объединенные почвенные пробы, отобранные из двух верхних горизонтов (0-10 и 10-20 см) согласно ГОСТ 17.4.4.02-84 в месте складирования ТКО и на фоновом участке сельхозугодья, расположенных близ д. Щурово Борисоглебского района Ярославской области. Стандартными методами посева на твердые и жидкие селективные питательные среды определяли численность некоторых эколого-трофических (сапротрофы, олиготрофы, аборигены) и метаболических (азотфиксаторы и углеводородокисляющие бактерии) групп. Качественный состав микробоценозов изучали путем определения культуральных, морфологических и тинкториальных свойств изолированных микроорганизмов с помощью световой микроскопии. Для интерпретации полученных результатов параллельно изучали химические свойства почв: обменную кислотность и содержание гумуса [3]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Excel 2007.

Результаты и их обсуждение. Полученные нами химические и микробиологические параметры (таблица 1), показывают, что фоновые почвы малогумусированы, имеют слабокислую реакцию среды и невысокую численность сапротрофных микроорганизмов (10^5 КОЕ/г). В верхнем горизонте почвы под свалочным телом гумуса в 2 раза больше фоновых значений, что свидетельствует о поверхностном загрязнении, а повышение рН до 6,9 согласуется с выводом других авторов о том, что ТКО оказывают подщелачивающее действие на плодородный слой [1]. Несмотря на нейтральную среду, численность сапротрофных микроорганизмов увеличилась, но в пределах того же порядка.

Численности таких групп микроорганизмов, как сапротрофы, выделенные на МПА, аборигены, изолированные на почвенном агаре, приготовленном из почвы *in situ*, и азотфиксаторы (изолированные на *Azotobacter*-агар), согласуются с распределением органического вещества, превышая в верхнем слое аналогичные показатели нижнего горизонта в 3-4 раза. Характер изменения численности азотфиксаторов и высокая численность олиготрофов (10^6 КОЕ/г) в верхнем горизонте свидетельствуют об увеличении дефицита азота под свалочным телом, что косвенно может указывать на наличие углеводородного загрязнения. Действительно, на среде с гексадеканом были выделены углеводородокисляющие микроорганизмы, их численность (10^2 кл/г) под свалочным телом на 1-2 порядка выше, чем на фоновом участке.

Таблица 1 – Химические и микробиологические показатели почвы в месте складирования твердых коммунальных отходов (ТКО)

Численность микроорганизмов	Место складирования ТКО		Контроль	
	Горизонт отбора пробы, см			
	0-10	10-20	0-10	10-20
рН, ед.	6,90±0,06	6,63±0,03	6,03±0,03	6,03±0,03
Содержание гумуса, %	3,05±0,04	1,56±0,02	1,43±0,04	1,49±0,07
Сапротрофы, КОЕ/г	6,5*10 ⁵	1,9*10 ⁵	1,7*10 ⁵	1,2*10 ⁵
Олиготрофы, КОЕ/г	1,1*10 ⁶	1,2*10 ⁵	2,0*10 ⁵	1,0*10 ⁵
Аборигены, КОЕ/г	6,2*10 ⁵	2,4*10 ⁵	1,3*10 ⁵	7,0*10 ⁴
Азотфиксаторы, КОЕ/г	4,0*10 ⁵	1,1*10 ⁵	3,0*10 ⁴	7,0*10 ⁴
Углекислотфиксирующие бактерии, кл/г	1,4*10 ²	1,1*10 ²	2,5*10 ¹	4,5*10 ⁰

Влияние ТКО на биоразнообразие почвенных микроорганизмов (рис. 1) оценивали визуально по различиям во внешнем виде колоний и морфологии образующих их микроорганизмов. На фоновом участке максимальное разнообразие наблюдали среди олиготрофов верхнего горизонта фонового участка – 14 типов колоний, минимальное – у азотфиксаторов (4), за исключением которых остальные микробные сообщества становились беднее видами в нижнем горизонте. Под свалочным телом в изменении биоразнообразия наблюдали иную тенденцию: при неизменном разнообразии сапротрофов (10 типов колоний) многообразии других групп увеличивалось в 1,5-2,0 раза, что может указывать на успешную деструкцию органического вещества, увеличение разнообразия низкомолекулярных источников углерода и энергии, стабилизацию микробсообщества в нижнем горизонте.

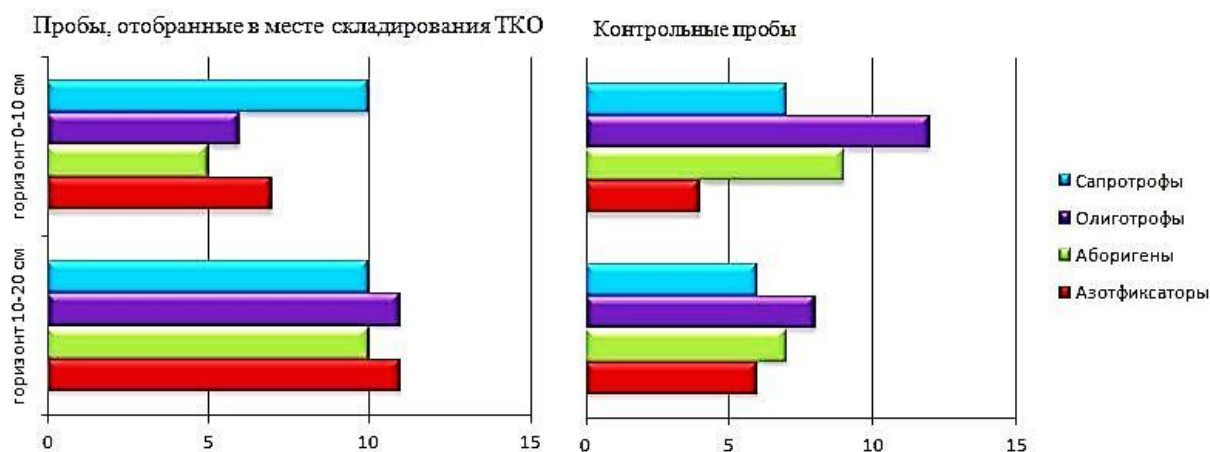


Рис. 1. Биоразнообразие разных эколого-трофических групп (число типов колоний) в месте складирования ТКО (слева) и контрольной почве (справа).

При микроскопировании изолированных колоний были обнаружены дрожжи и бактерии, у которых выявлено 7 морфотипов: грамотрицательные коккобациллы и палочки, грамположительные кокки, грамположительные бесспорные и спорообразующие палочки, актиномицетный мицелий без спор и со спорами. Дрожжи и грамотрицательные бактерии были обнаружены исключительно под свалочным телом. Дрожжи обнаружены в нижнем горизонте аборигенного (32%), олиготрофного (35%) и сапротрофного (48% численности группы) микробных сообществ. Грамотрицательные палочки составляли в верхнем горизонте 15% от численности сапротрофов и в нижнем горизонте 2% азотфиксаторов. В

целом изменение биоразнообразия микробных сообществ, как по числу видов, так и по их обилию позволяет заключить, что ТКО изменяют природу органического вещества почв замусоренной территории. Ввиду отсутствия субстратного ингибирования аборигенный микробиоценоз вступает в сукцессию, которая связана с закономерной деструкцией внесенных загрязняющих веществ. Однако стрессовый характер воздействия можно усматривать в том, что среди аборигенных микроорганизмов начинают доминировать спорообразующие виды бактерий.

Заключение. Выявлено, что в месте складирования ТКО имеет место слабое углеводородное загрязнение. Внесенное органическое вещество вызывает перестройку аборигенного микробного сообщества, стимулируя размножение микроорганизмов. В целом микробиоценоз изучаемой территории способствует самоочищению почвы под свалочным телом, но доминирование спорообразующих бактерий свидетельствует о стрессовом воздействии ТКО на экосистему.

Библиографический список

1. Басов Ю.В. Влияние свалки бытовых отходов на агроэкологические показатели // Научный журнал: Вестник ОрелГАУ. 2017. № 2. С. 559.
2. Вайсман Я.И. Основные направления снижения экологической нагрузки на окружающую среду и население при почвенных методах обезвреживания твердых бытовых отходов // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета, 2011. № 2. С. 40-59.
3. Волкова И.Н. Почвоведение: практикум. Ярославль: ЯрГУ, 2016. 52 с.
4. Гринин А.С., Новиков В.Н. Промышленные и бытовые отходы. Хранение, утилизация, переработка // М.: ФАИР-ПРЕСС. 2002. 336 с.
5. Иванова Ю.С., Каздым А.А. Литолого-микроморфологический анализ почвоподобного субстрата свалок в свете концепций «памяти почв» и экологических функций почвы // Минералогия техногенеза. 2011. № 12. С. 239-261.
6. Иванова Ю.С., Каздым А.А. Об актуальной опасности стихийных свалок бытового мусора // Вестник Волжского университета им. В.Н. Татищева. 2010. № 10. С. 86-89.
7. Романова Е.М., Мишонкова А.Н., Романов В.В., Игнаткин Д.С., Баева Т.Г., Щеголенкова А.Е. Экологические закономерности циркуляции геонематодозов на территории Ульяновской области // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2014. №1 (25). С. 58-62.

СЕКЦИЯ 4. ТРАДИЦИОННЫЕ И ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРЕПОДАВАНИИ МИКРОБИОЛОГИИ

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В АГРАРНОМ ВУЗе

Алексеева С.М., доцент, кандидат ветеринарных наук;

Дансарунова О.С., кандидат ветеринарных наук

ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия
имени В.Р. Филиппова», г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия

Введение. Система высшего аграрного образования Российской Федерации включает в себя сельскохозяйственные университеты, академии и институты, которые расположены во многих субъектах Российской Федерации. В том числе и в Республике Бурятия есть Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова, которая входит в число ведущих образовательных аграрных вузов в Дальневосточном федеральном округе Российской Федерации и в 2021 году исполнилось 90 лет со дня образования.

Результаты и их обсуждение. Изучение микробиологии обучающимися в Академии сосредоточены в двух укрупненных группах специальностей и направлений. Согласно учебным планам практически каждого направления УГСН 35.00.00 Сельское, лесное и рыбное хозяйство и 36.00.00 Ветеринария и зоотехния, обучающиеся изучают микробиологию, как одну из фундаментальных дисциплин аграрного профиля.

Микробиология (от греч. micros – малый, bios – жизнь, logos – наука) представляет собой науку о мельчайших, не видимых простым глазом организмов, названных микроорганизмами или микробами [2]. К настоящему времени мир микробов в природе широкий и разнообразный и основная группа – это одноклеточные, примитивные организмы, которые относятся прокариотам (бактерии, актиномицеты и цианобактерии). Микроорганизмы с примитивным строением имеют огромное значение, так как они являются возбудителями инфекционных болезней человека, сельскохозяйственных, промысловых животных, птиц, рыб и растений, а также влияют на различные превращения органических и минеральных веществ [4].

В зависимости от различных особенностей микроорганизмов и от практических потребностей человека наука о мельчайших в Академии дифференцируется на специальные дисциплины:

Микробиология (общая),
Ветеринарная микробиология и микология,
Микробиология и иммунология,
Клиническая микробиология,
Санитарная микробиология,
Сельскохозяйственная микробиология и др. [3]

В самостоятельные дисциплины из микробиологии по учебным планам в Бурятской государственной сельскохозяйственной академии выделились следующие курсы: Диагностика бактериальных инфекций, Токсины микроорганизмов, Бактериальные токсикозы и токсикоинфекции и др.

Преподавание дисциплины учитывает методологические и теоретические основы микробиологической науки, в связи с этим коллектив кафедры ВСЭ, микробиологии и патоморфологии факультета ветеринарной медицины применяет все методы современного образования и создают необходимые условия для эффективного обучения студентов. В связи с этим, изучение дисциплины проходит в форме лекционных, семинарских занятий и в виде самостоятельной работы обучающимися.

По лекционным занятиям обучающиеся изучают основные фундаментальные положения по микробиологии и теоретические знания по систематике, морфологии, строению, физиологии, генетике и экологии микроорганизмов, роли микроорганизмов в

круговороте веществ в природе, а также возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных и диких животных, птиц и др.

Целью семинарских занятий является закрепление теоретических знаний по предмету и изучение микробиологических методов по дисциплине. Для освоения микробиологических методов применяются следующие темы согласно календарно-тематическому плану:

- По общей микробиологии:

микробиологическая лаборатория и ее оборудование; правила техники безопасности при работе с микроорганизмами; устройство микроскопа (демонстрируются различные модели микроскопов) и техника микропирования; учение о санитарно-показательных микроорганизмах; основные формы бактерий, приготовление бактериального препарата, бактериальные красители; простые и сложные методы окраски; приготовление питательных сред; изучение биологических свойств микроорганизмов; постановка биологической пробы на лабораторных животных; различные виды брожения; санитарно-микробиологическое исследование объектов ветеринарного надзора (воды, воздуха, кормов, зеленой растительной массы, почвы и ее роль в почвообразовательном процессе).

- По частной (специальной) микробиологии:

типы взаимоотношений микроорганизмов с макроорганизмами; учение об инфекции и иммунитете; серологические методы диагностики инфекционных болезней животных; *заболевания, вызываемые резидентной микрофлорой*; возбудители пищевых токсикоинфекций; возбудители бактериальных инфекций (актиномицеты, патогенные анаэробы; грамотрицательные и грамположительные палочки; иерсинии; пастереллы; извитые бактерии и др.; патогенные микоплазмы, риккетсии и хламидии); микроскопические грибы – возбудители микозов и микотоксикозов; санитарно-микробиологическое исследование сырья и продуктов животного (мяса и мясопродуктов, яиц и яичных продуктов, молока и молочно-кислых продуктов, рыбы и рыбных продуктов и др.) и растительного происхождения.

В процессе преподавания микробиологии учтена и специфика изучения предмета для обучающихся различных факультетов, таких как, ветеринарный, технологический и агрономический.

В тоже время на формирование мировоззрения у обучающихся влияет не только обучение в Академии, но и самообразование. Поэтому одна из основных задач преподавателей в подготовке будущих специалистов в аграрных вузах – это научить приобретать знания, умения и опыт познавательно-творческой самостоятельной деятельности [5]. Организация самостоятельной работы обучающихся по курсу микробиологии базируется на систематичности и последовательности тем. В связи с этим, темы для самостоятельной работы связаны с темами лекционных и семинарских занятий.

Один из основных видов самостоятельной работы является подготовка рефератов, которые имеют следующие примерные темы:

История развития микробиологии,

Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии;

Микроорганизмы и круговорот веществ в природе;

Формы адаптации бактерии к окружающей среде;

Материалы, реактивы, приборы и оборудование, применяемые в микробиологической практике;

Морфология и ультраструктура прокариотов;

Метаболизм бактерий;

Возбудители бактериальных инфекций;

Возбудители дерматомикозов;

Возбудители микотоксикозов;

Микрофлора воздуха;

Характеристика почвенных микроорганизмов;

Микрофлора кормов для сельскохозяйственных животных;

Микрофлора сточных вод животноводческих и птицеводческих помещений и др.

Одним из видов современного обучения является дистанционное образование, которое проводится с помощью специализированной образовательной среды [1]. В настоящее время, в связи со сложившейся сложной ситуацией в мире в период пандемии коронавирусной инфекции дистанционное образование стало еще более актуальным.

В Академии к специализированной образовательной среде относится система moodle.bgsha.ru, являющаяся определенным показателем качества образовательных процессов и содействующая формированию уровня образованности студентов.

При проведении дистанционного образования специализированная информация: обеспечивает доставку обучаемого материала, происходит интерактивное взаимодействие между участниками образовательного процесса, предоставляет обучающимся возможностей самостоятельной работы и оцениваются знания и навыки, полученных ими в процессе обучения.

Заключение. Таким образом, преподавание микробиологии обучающимся в ФГБОУ ВО Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова строится по принципу системного подхода с учетом индивидуальных особенностей участников учебного процесса, а также сочетание различных методических подходов преподавателя к усовершенствованию учебного процесса обеспечат качественное образование и получение полной информации у обучающихся по курсу «Микробиология».

Библиографический список

1. Дмитренко Т.А. Новые образовательные технологии в высшей педагогической школе // Высшее образование сегодня. 2003. № 8. С. 26-30.
2. Кисленко В.Н., Азаев М.Ш. Микробиология: Учебник. М.: ООО "Научно-издательский центр ИНФРА-М", 2015. 272 с.
3. Колычев Н.М., Госманов Р.Г. Ветеринарная микробиология и микология: учебник. СПб.: Лань, 2019. 624 с.
4. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология: учебник. М.:Агропромиздат, 1987. 368 с.
5. Щербакова Е.В. Самостоятельная работа студентов как важнейшая составляющая организации учебного процесса в вузе // Молодой ученый. 2010. № 8 (19). Т. 2. С. 188-190.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ТЕМЫ «АНТИБИОТИКИ» СТУДЕНТАМИ 2 КУРСА ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

**Воронков Т.А., ассистент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия**

Введение. В настоящее время в РФ фиксируется неуклонный рост распространённости антибиотикорезистентности среди штаммов возбудителей основных внебольничных инфекций [2, 5]. Зачастую в основе распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов лежит незнание врачами принципов рациональной химиотерапии инфекционных заболеваний [3, 4]. В свете чего особенно актуальным становится повышение качества усвоения студентами микробиологических аспектов химиотерапии инфекционных заболеваний.

Результаты и их обсуждение. Многогранность темы и дефицит учебных материалов, изложенных в доступной для студентов форме, затрудняет глубокое освоение проблемы химиотерапии студентами. Для повышения усвояемости студентами материала данной темы

на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ использовалась педагогическая технология, подразумевающая вовлечения студентов в работу над созданием учебно-методического издания. Кроме того, вовлечение студентов в написание учебно-методического издания позволяет повысить доступность материала для самих же студентов [1].

Таким образом, для повышения доступности изложения и усвояемости теоретического и практического материала по вышеуказанной теме студенты привлекались к написанию Методических указаний «Микробиологические аспекты химиотерапии инфекционных заболеваний» по дисциплине «Микробиология» для обучающихся по специальности 31.05.01 Лечебное дело. Создание методического пособия реализовывалось в рамках проекта ФГБОУ ВО РязГМУ «Учимся вместе» для «Школы молодых преподавателей». Проект «Учимся вместе» разработан с целью формирования педагогического взаимодействия в системе «преподаватель-студент» и взаимообучения студента и молодого преподавателя по наиболее сложным разделам дисциплин.

В соответствии с положениями проекта написание методических указаний осуществлялось в тесном взаимодействии со студентами. Для оценки доступности материалов и заданий учебно-методического издания привлекались как уже освоившие дисциплину студенты, так и находящиеся в процессе освоения. Оценивание производилось в форме рецензирования.

Заключение. В результате совместной работы со студентами были разработаны методические указания «Микробиологические аспекты химиотерапии инфекционных заболеваний» по дисциплине «Микробиология» для обучающихся по специальности 31.05.01 Лечебное дело полностью соответствующие требованиям Федерального государственного стандарта высшего образования, Основной образовательной программой по специальности 31.05.01 «Лечебное дело» и учебной программой по дисциплине «Микробиология» и оцениваемые студентами, как содержащие материал легкий для восприятия. Студенты, привлекавшиеся к рецензированию методических указаний, показали полное освоение темы «Микробиологические аспекты химиотерапии инфекционных заболеваний» и более глубокие знания в сравнении со студентами, не участвовавшими в проекте.

Библиографический список

1. Веденева О.А., Савва Л.И., Сайгушев Н.Я. Педагогические технологии в современном образовательном процессе. Учебное пособие. М.: Мир науки, 2016. 284 слайда.
2. Иванчик Н.В., Чагарян А.Н., Сухорукова М.В. и соавт. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ПЕГАС 2014-2017» Клинический журнал микробиологии и химиотерапии 2019;21(3): 230-237.
3. Arnold S.R., Straus S.E. Interventions to improve antibiotic prescribing practices in ambulatory care // Cochrane Database of Systematic Reviews: journal. 2005. No. 4. P. CD003539.
4. Gilberg K., Laouri M., Wade S., Isonaka S. Analysis of medication use patterns: apparent overuse of antibiotics and underuse of prescription drugs for asthma, depression, and CHF // J. Managed Care Pharm. 2003. Vol. 9. P. 232-237
5. Sivaya O., Kozlov R., Sukhorukova M. et al. Long-term surveillance of antimicrobial resistance of *H. influenzae* in Russia: are there any changes in ten years? ECCMID 2016, Amsterdam, 9-12 April, Poster.

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ АКТИВНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ОСВОЕНИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ НА КАФЕДРЕ МИКРОБИОЛОГИИ

Головина Н.А., кандидат биологических наук; Канина И.В.;

Евдокимова О.В., доцент, кандидат медицинских наук

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Рязань, Россия

Введение. Одной из главных задач высшего медицинского образования является качественная подготовка врача [5]. Современный образовательный процесс направлен на подготовку профессионально компетентных будущих врачей. Федеральные государственные образовательные стандарты высшего образования 3-го поколения предполагают модернизацию системы образования за счет внедрения в учебный процесс активных методов обучения, которые позволяют студентам самостоятельно приобретать знания, необходимые для формирования базовых профессиональных компетенций [4]. Для повышения эффективности освоения профессиональных компетенций коллектив кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России совершенствует и внедряет в учебный процесс активные образовательные технологии для освоения студентами профессиональных навыков. Активные технологии – это технологии, которые стимулируют обучающихся активно мыслить в процессе изучения учебного материала [1].

Цель – обзор используемых на кафедре микробиологии активных образовательных технологий для усвоения учащимися профессиональных компетенций.

Материалы и методы. Ежегодно на кафедре проходят обучение около 1500 студентов разных специальностей: Лечебное дело, Педиатрия, Медико-профилактическое дело, Стоматология и Фармация. Для усвоения студентами профессиональных компетенций преподаватели кафедры микробиологии непрерывно совершенствуют образовательные технологии преподавания дисциплины, внедряя активные методы, такие как предметная олимпиада, творческие задания, мозговой штурм, микробиологические диктанты, решение ситуационных задач по частной микробиологии, чек-листы с заданиями после просмотра учебных видеofilьмов и тест-задания.

Результаты и их обсуждение. При реализации образовательного процесса с использованием активных технологий принимали участие студенты всех факультетов. Предметные олимпиады по дисциплине Микробиология проходили в два этапа. На первом этапе необходимо было ответить на уникальные тестовые задания, составленные профессорско-преподавательским составом кафедры. Студенты, успешно прошедшие первый этап, проходили на второй. Второй этап заключался в решении ситуационных задач по частной микробиологии. Целью творческого задания было создание модели микроорганизма из любых доступных экологически чистых и безопасных материалов, иллюстрирующей биологические свойства микроорганизмов, характерные для данного биологического вида и отличающие его от близкородственных микроорганизмов, с последующей его идентификацией. Метод мозгового штурма является способом поиска идеи в решении поставленной задачи, формируя навыки работы в команде. Две группы участвующих определяли систематическую принадлежность микроорганизмов по ряду свойств, механизмам патогенеза и клиническим проявлениям. Микробиологические диктанты, проводимые на кафедре, представляют собой фронтальные письменные работы, состоящие из перечня вопросов и заданий по основным темам общей и частной микробиологии. Решение ситуационных задач по частной микробиологии заставляет учащихся систематизировать полученные знания и применять творческое мышление [3]. Ситуационные задачи составлены так, что обучающийся, опираясь на приобретенные знания, по результатам исследования пациента мог предположить и аргументировать выбор

диагноза [2]. Для объективной оценки приобретенных профессиональных компетенций преподавателями кафедры также были разработаны и внедрены чек-листы и тестовые задания по изученным темам общей и частной микробиологии.

Заключение. Применение современных активных образовательных технологий в освоении профессиональных компетенций дает возможность повысить интерес к дисциплине, стимулирует творческую активность, самостоятельность обучающихся, способствует формированию коммуникативных навыков и навыков работы в команде.

Библиографический список

1. Байгужина С.К., Шамбилова Н.А., Николаева А.Б. Особенности проведения практических занятий на кафедре микробиологии // Медицина и экология. 2016. № 1. С. 106-108.
2. Камышный А. М. Некоторые аспекты преподавания микробиологии в медицинском вузе // Медицинское образование и профессиональное развитие. 2014. № 4 (18). С. 69-74.
3. Нараева Н.Ю., Земсков А.М., Старцева С.В. [и др.] Особенности педагогического процесса на кафедре микробиологии // Инновации в науке: сб. ст. по матер. XXXIX междунар. науч.-практ. конф. № 11 (36). Новосибирск: СибАК, 2014. С. 124-129.
4. Подгрушная Т.С., Протасова И.Н., Осипова Н.П. Способы реализации практико-ориентированного подхода при изучении микробиологии // Медицинское образование и профессиональное развитие. 2019. Т. 10. № 2. С. 67-75.
5. Подгрушная Т.С., Рукосуева Т.В., Протасова И.Н. Повышение познавательной активности студентов при изучении микробиологии в медицинском ВУЗе // Профессиональное образование в России и за рубежом. 2018. № 4 (32). С. 197-204.

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ «СПЕЦИАЛИСТ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ»: ВЕКТОР РАЗВИТИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

Евдокимова О.В., доцент, кандидат медицинских наук; **Котелевец Е.П.**
**ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,**
г. Рязань, Россия

Введение. Министерство науки и высшего образования РФ внесло специальность «Медицинская микробиология» в перечень специальностей высшего образования – подготовки кадров высшей квалификации по программам ординатуры.

Материалы и методы. С целью исследования возможных изменений в организации и работе лабораторной службы, связанных с появлением новой специальности, был проведен ретроспективный анализ литературных источников и нормативной документации.

Результаты и их обсуждение. Профессиональный стандарт (ПС) «Специалист в области медицинской микробиологии» был утвержден приказом Министерства труда РФ №384н в июне 2021 года. Ответственная организация – разработчик: Межрегиональная ассоциация общественных объединений «Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии» (Смоленск).

Разработка ПС проходила в несколько этапов. В апреле 2018 г. подготовлена 4-я версия и согласована в Минздраве; в мае 2018 г. Роспотребнадзор опубликовал письмо с поддержкой введения единой специальности «Медицинская микробиология» (объединяющей бактериологию, вирусологию и паразитологию) и ПС «Специалист в области медицинской микробиологии»; в июне 2018 г. проект ПС представлен в

Национальную Медицинскую Палату; с июня по ноябрь 2018 г. проект ПС проходил согласование в Минздраве; в октябре 2018 г. проходила подготовка итоговых версий ПС «Специалист в области медицинской микробиологии» и пояснительной записки и их передача в Национальную Медицинскую Палату.

«Медицинская микробиология» внесена в Номенклатуру специальностей выпускников, имеющих высшее медицинское и фармацевтическое образование, в начале 2020 года. Приказ вступил в силу с 1 марта 2022 года.

Занимать должность «Врач - медицинский микробиолог» имеет право лицо с высшим образованием: специалитет по направлениям «Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело», ординатура по «Медицинской микробиологии»; специалитет «Лечебное дело», «Педиатрия» или «Медико-профилактическое дело», профессиональная переподготовка «Бактериология», «Вирусология», «Лабораторная микология», «Паразитология», при наличии подготовки в соответствии с квалификационными требованиями и дополнительное профобразование - программа переподготовки по «Медицинской микробиологии»; специалитет «Лечебное дело», «Педиатрия» или «Медико-профилактическое дело», интернатура (ординатура) «Клиническая медицина», «Науки о здоровье и профилактическая медицина», а также профессиональная переподготовка «Медицинская микробиология».

В числе особых условий допуска значится наличие у специалиста свидетельства об аккредитации по специальности «Медицинский микробиолог». Кроме того, документ для карьерного роста и профессионального развития рекомендует проходить курсы повышения квалификации.

Образовательный стандарт по специальности ординатуры «Медицинская микробиология» утвержден приказом Минобрнауки №1230 от 13 декабря 2021 года (зарегистрирован 14 января 2022 года). Срок обучения в ординатуре по специальности «Медицинская микробиология» составит два года. Поступить в профильную ординатуру смогут выпускники специалитета по направлениям «Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело» и «Медицинская биохимия». После прохождения обучения они получают квалификацию «Врач – медицинский микробиолог».

К образовательным программам, необходимым для освоения по специальности «Медицинская микробиология», помимо ординатуры, относят дополнительную профессиональную программу (ДПП) переподготовки по специальности «Медицинская микробиология» для бактериологов, вирусологов, паразитологов (576 часов), а также ДПП повышения квалификации по специальности «Медицинская микробиология» для преподавателей (144 часа).

К обобщенным трудовым функциям специалиста относят: организационно-методическое обеспечение и выполнение микробиологических исследований (бактериологических, вирусологических, микологических и паразитологических); оказание консультативной помощи медицинским работникам в планировании микробиологических исследований (бактериологических, вирусологических, микологических и паразитологических); организация деятельности находящихся в подчинении медицинских работников; ведение документации, в том числе микробиологической лаборатории; обеспечение биологической безопасности при проведении микробиологических исследований; оказание медицинской помощи в экстренной форме.

Также специалист обязан уметь обеспечивать организацию работы микробиологической лаборатории: планирование и контроль ее деятельности; управление качеством проведения микробиологических исследований; управление медико-биологическими рисками микробиологической лаборатории и организация обеспечения биологической безопасности; обеспечение деятельности микробиологической лаборатории при чрезвычайных ситуациях, террористических актах и военных конфликтах, в том числе при угрозе их возникновения.

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ от 8 октября 2015 года № 707н «Об утверждении Квалификационных требований к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием по направлению подготовки «Здравоохранение и медицинские науки» (с изменениями на 4 сентября 2020 года) специальность «Медицинский микробиолог» не заменяет собой уже существующие специальности «Бактериология», «Вирусология», а также «Паразитология».

Заключение. В условиях тенденций централизация лабораторной деятельности появление новой специальности весьма актуально. В совокупности с современными информационными технологиями централизация позволяет максимально эффективно решить основные задачи: повышение качества исследований и снижение затрат на лабораторную службу. В некоторых регионах России постепенно появляются централизованные лаборатории (как государственные, так и частные), консолидирующие потоки исследований из лечебных учреждений.

Библиографический список

1. <https://www.antibiotic.ru>
2. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации «Об утверждении Квалификационных требований к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием по направлению подготовки «Здравоохранение и медицинские науки» от 8 октября 2015 года № 707н (с изменениями на 4 сентября 2020 года).
3. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области медицинской микробиологии» от 8 июня 2021 года №384н.
4. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от «25» июня 2015г. № 399н «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области медико-профилактического дела».

РАЗРАБОТКА УЧЕБНОГО ЛАБОРАТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА В КУРСЕ ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

**Круглова А.П., доцент, кандидат биологических наук; Фирсин И.Д., Егорова Н.А.
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина»,
г. Рязань, Россия**

Введение. Курс промышленной микробиологии является одним из ключевых в подготовке студента-биотехнолога, так как в настоящее время основой большинства биотехнологических производств до сих пор является микробный синтез. [1] Поэтому весьма важной проблемой остается формирование у студентов умений и навыков правильного выбора условий культивирования микроорганизма-продуцента и условий процесса биосинтеза. Выбор условий проведения этих процессов (рН культуральной жидкости, интенсивность аэрации, температура, концентрация растворенных веществ и активность воды, наличие факторов роста, концентрация токсикантов и ингибиторов и т.д.) проводится с помощью лабораторных экспериментов с микроорганизмом-продуцентом: оценивается скорость роста и интенсивность накопления целевого продукта при различных параметрах процесса, выбираются те значения изменяемых параметров, при которых скорость роста и накопления продукта наибольшие. Отклонения от оптимальных значений параметров процесса приводят к уменьшению скорости роста микроорганизма, а иногда и к его частичному отмиранию. Понимание процессов, реализующихся в клетке под действием различных физико-химических факторов, может сформировать у студента представление о

том, почему разные микроорганизмы имеют различные оптимальные параметры их культивирования и биосинтеза. Поэтому считаем целесообразным разработать и внедрить в курс промышленной микробиологии лабораторный эксперимент по изучению действия различных факторов на микробную клетку, основанный на определении содержания мертвых и почкующихся клеток в культуральных жидкостях, инкубируемых при различных значениях pH и температуры.

Известно, что во многих биотехнологических процессах используется ограниченное число микроорганизмов, которые классифицируются как GRAS-микроорганизмы («generally recognized as safe» - «общепризнанный безопасным»). [5] GRAS-микроорганизмы непатогенны и нетоксичны, поэтому используются как базовые объекты биотехнологии. К таким микроорганизмам относят бактерии *E. coli*, *B. subtilis* и других представителей родов *Bacillus* и *Lactobacillus*, а также различные виды грибов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Saccharomyces* и др. Модельным микроорганизмом-продуцентом являются одноклеточные грибы *Saccharomyces cerevisiae* – эукариотический гетеротрофный микроорганизм, принадлежащий к классу сахаромикетов, отдела аскомицетов. Оптимальный pH для роста и размножения – 3.5-5.0 [3], температурный оптимум – 32.3°C [4]. Из-за способности этого микроорганизма размножаться и существовать как в гаплоидной, так и в диплоидной формах, его часто используют как объект биотехнологического производства и исследований. *Saccharomyces cerevisiae* имеет ряд преимуществ для использования в производстве: микроб относительно устойчив в широком диапазоне параметров окружающей среды, в оптимальных условиях время генерации составляет всего 90 минут. [2] В биотехнологии широко используется при производстве хлебобулочных изделий, алкогольных напитков, этилового спирта, а также, что особенно актуально в последнее время, для промышленного получения рекомбинантных белков, например, α -интерферона и различных вакцин, в том числе поверхностного антигена вируса гепатита В. Около 6000 генов *Saccharomyces cerevisiae* в высокой степени гомологичны генам человека [2], поэтому данный объект часто служит модельной культурой при изучении молекулярно-биологических процессов обмена веществ. Именно этот микроорганизм был выбран объектом исследования в разрабатываемом лабораторном эксперименте, как наиболее доступный и безопасный для студентов.

Материалы и методы. Для разработки лабораторного эксперимента использовалось следующее лабораторное оборудование и реактивы: микроскоп биологический Микромед 2 (2-20 inf.) в комплекте с видеоокулярном Levenhuk M35 BASE, термостат суховоздушный ТСО-1/80 СПУ, pH-метр/иономер Анион 4100, сахароза, метиленовый синий (водный раствор 1:5000), чистая культура *Saccharomyces cerevisiae*, выделенная из образца коммерчески доступных пекарских дрожжей.

Для определения относительного содержания мертвых и почкующихся клеток в культуральной жидкости готовили препарат «раздавленная капля» по следующей методике: на предметное стекло наносили каплю исследуемой культуральной жидкости и каплю раствора метиленового синего (1:5000), через 2 минуты препарат накрывали покровным стеклом, микроскопировали в 5 полях зрения, подсчитывая общее количество клеток и количество клеток, окрасившихся в синий цвет. Относительное содержание мертвых клеток равно отношению числа мертвых клеток к общему количеству клеток в поле зрения. Параллельно подсчитывали количество почкующихся клеток, определяли их относительное содержание. На рисунке 1 изображена фотография поля зрения, полученная студентами в ходе выполнения эксперимента.

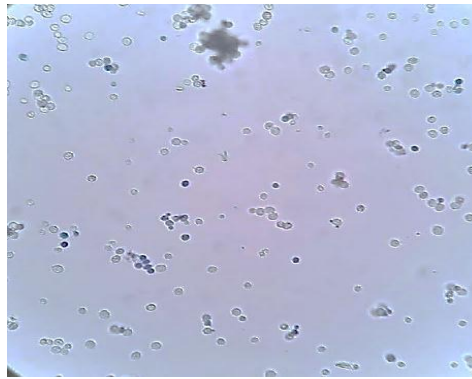


Рис. 1. Картина, наблюдаемая при микроскопии окрашенного образца суспензии *Saccharomyces cerevisiae*

Эксперимент по изучению влияния рН культуральной жидкости на процесс инкубации проводили по следующей методике: в пробирках готовили раствор сахарозы (2%) с различным значением рН, в пробирки вносили суспензию клеток *Saccharomyces cerevisiae* и инкубировали в термостате при температуре 32°C в течение 2 часов. Далее подсчитывали относительное содержание мертвых и почкующихся клеток в культуральных жидкостях.

Эксперимент по изучению влияния температуры на процесс инкубации проводили по следующей методике: в пробирки с раствором сахарозы (2%) вносили суспензию клеток *Saccharomyces cerevisiae*, инкубировали 2 часа при разной температуре: в холодильнике - 2°C, при комнатной температуре - 20°C, в термостате - 32°C, на водяной бане - 50°C. Далее определяли содержание мертвых и почкующихся клеток в каждой культуральной жидкости.

Результаты и их обсуждение. В ходе проведенных экспериментов было определено оптимальное значение температуры для роста *Saccharomyces cerevisiae*: в пробирке, выдерживаемой при температуре 32°C наблюдалось максимальное содержание почкующихся клеток (43%), мертвых клеток обнаружено не было. При низкой температуре (2°C) не было обнаружено почкующихся клеток, но количество мертвых клеток было невысоким (3%), что говорит об относительной устойчивости *Saccharomyces cerevisiae* к низким температурам. При высокой температуре (50°C) роста не наблюдалось, практически все клетки погибли (мертвых клеток - 98%). Данный эксперимент наглядно показывает обучающимся температурный оптимум *Saccharomyces cerevisiae*, а также результаты воздействия слишком низких и слишком высоких температур на их рост и жизнеспособность. Для наглядности обучающимся было предложено отобразить полученные данные в виде графика, который представлен на рисунке 2.

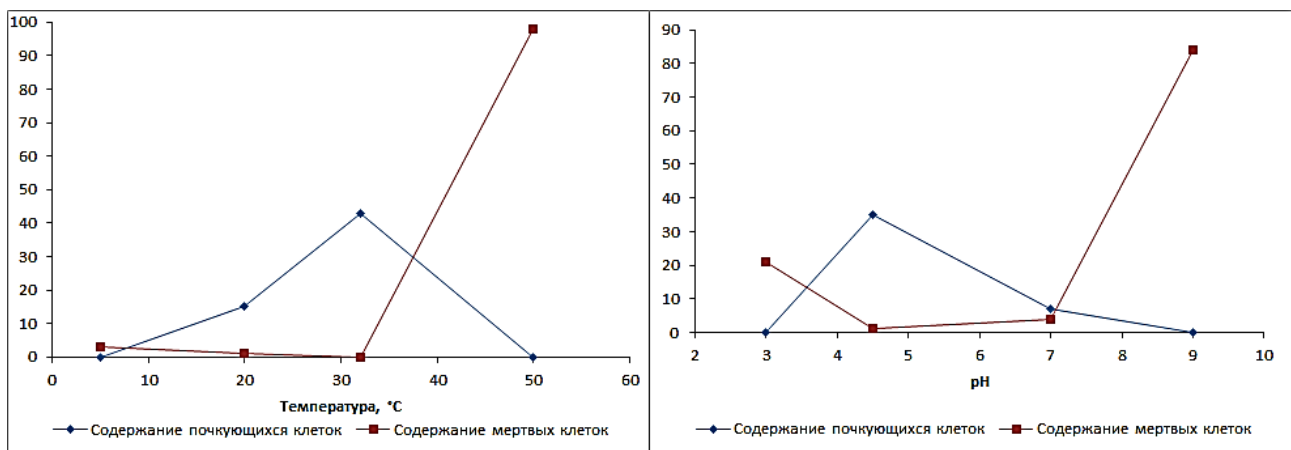


Рис. 2. Влияние температуры и рН питательной среды на рост и жизнеспособность клеток *Saccharomyces cerevisiae*

Также был проведен модельный эксперимент по изучению влияния pH на рост и жизнеспособность *Saccharomyces cerevisiae*. Был определен оптимум pH – 4,5, при этом значении наблюдался максимальный рост (почкующихся клеток 35%) и минимальное отмирание (1%). При pH = 3 почкующихся клеток обнаружено не было, а содержание мертвых клеток было невелико – 21%. В щелочной среде (pH 9) деления не наблюдалось, содержание мертвых клеток было высоким – 84%. Этот опыт демонстрирует обучающимся относительную устойчивость клеток *Saccharomyces cerevisiae* к кислым средам и малую жизнеспособность их в щелочных средах. Полученные данные были также отображены студентами в виде графика (рис. 2).

Заключение. Разработанные методики учебного лабораторного эксперимента могут применяться в образовательном процессе: в курсе промышленной микробиологии для формирования компетенций, связанных с выбором оптимальных условий биотехнологических процессов, а также в курсе общей микробиологии для изучения влияния физико-химических факторов на клетки микроорганизмов. Лабораторный эксперимент совершенствует у студентов практические навыки приготовления «живых» микропрепаратов (типа «раздавленная капля») и микроскопирования, которые также необходимы при выполнении курсовых и выпускных квалификационных работ по микробиологическим и биотехнологическим тематикам. Апробация разработанного эксперимента проводилась в группе студентов-биотехнологов 3 курса РГУ имени С.А. Есенина. Время, необходимое для выполнения эксперимента – 4 академических часа.

Библиографический список

1. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид ; пер. с нем. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. 324 с.
2. Goffeau, A. Life with 6000 Genes / A. Goffeau, B. G. Barrell, H. Bussey [и др.]. // Science. 1996. № 5287. С. 546-567.
3. Neelakantam V.N., Power Ronan. Relationship between pH and Medium Dissolved Solids in Terms of Growth and Metabolism of Lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during Ethanol Production // Appl Environ Microbiol. 2005. № 71 (5). P. 2239-2243.
4. Salvadó Z., Arroyo-López F.N., Guillamón J.M. [и др.]. Temperature Adaptation Markedly Determines Evolution within the Genus *Saccharomyces* // Applied and Environmental Microbiology. 2011. № 77.
5. Microorganisms and Microbial-Derived Ingredients Used in Food // FDA : [сайт]. — URL: <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/microorganisms-microbial-derived-ingredients-used-food-partial-list> (дата обращения: 02.04.2022).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ УСВОЕНИЯ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ПОМОЩИ ИНТЕРАКТИВНЫХ МЕТОДОВ

Назаров Жалолитдин Султон Эркинович

**БГМИ «Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино»,
г. Бухара, Республика Узбекистан**

Введение. По данным некоторых исследователей, было выяснено, что если сразу же после лекции опросить студентов, то они могли воспроизвести 65-70% учебного лекционного материала, спустя 3-5 дней этот показатель равнялся в лучшем случае 45%. Через неделю вспомнить учебный материал могли только треть учащихся (34%). Через 2 недели эта цифра снижалась до 30%. Это свидетельствует о роли пассивного восприятия информации, и его влияния на длительность запоминания. В случае пассивного восприятия и

освоения преподносимой извне информации учащийся играет роль приемника готовой информации. В основе научения лежит сообщение и навязывание ему готовой информации и учебных действий. Информация такого типа как правила не запоминается надолго [4]. С точки зрения современных педагогических технологий и эффективности усвоения учащимися учебного материала пассивный метод считается самым неэффективным. Учитывая современный темп жизни, колоссальный объем новой информации, острую нехватку времени для обработки информационного потока, важно донести смысл учебного материала, причем за короткий период времени. В этом педагогу могут помочь различные интерактивные методы, при помощи которых проводимые занятия становятся более понятными и интересными.

Материалы и методы. Интерактивные формы обучения принято делить на имитационные и неимитационные. Имитационные методы, к которым относятся различные учебные ситуационные игры, погружают студентов в атмосферу, предельно близкую практической работе врача. Учебные интерактивные игры позволяют систематически контролировать качество прироста профессиональной подготовки студентов, и исполняют роль барьера на пути их следования к постели больного, пропуская к пациентам только подготовленную их часть. Учитывая, вышеизложенное предпринята настоящая работа целью, которой явилась сравнительная оценка уровня медицинских знаний студентов, приобретенных интерактивными формами обучения «слабое звено» и «case-study» [1].

Результаты и их обсуждение. По дисциплине «Медицинская микробиология» целенаправленно применялись интерактивные способы обучения – учебные ситуационные игры «слабое звено» и «case study». Контролем служили рейтинговые показатели студентов, полученные с помощью традиционных способов оценки знаний. Группы обучающихся, привлеченные в круг исследования были репрезентативны по количеству студентов, этапов и видов оценки знаний, а также индивидуальному их рейтингу. В ходе проведенных исследований преподавания по методу «case study» для студентов Бухарского государственного медицинского института, получены следующие результаты. Было установлено, что интерактивные способы обучения в отличие от традиционных, в целом, более эффективно влияют на процесс усвоения комплекса клинических знаний. Помимо этого, они наглядно отличались индивидуальным характером воздействия на формирование общеизвестных уровней знания. Так, если традиционные методы обучения воздействовали на развитие в основном начальных I (знание – знакомство) и II (знание – копия) уровней, то интерактивные способы обучения оказывали влияние на более совершенные их формы, III (знание – умение), IV (знание – трансформация) и V (знание – творчество).

Занятия, проводимые с применением учебной игры «слабое звено» отличались высокой активностью участников, что отчасти объясняется условием его проведения, требующего неременного участия всех членов группы. Концовка настоящей учебной игры приобретала весьма заманчивый характер, особенно тогда, когда оставалась финальная пара участников. К примеру, при рассмотрении темы «Методы стерилизации» был задан следующий вопрос: Почему варенье, которое многие готовят в домашних условиях, доводят до кипения, затем остужают до комнатной температуры, выдерживают некоторое время, и затем повторяют данную процедуру примерно три раза? В ходе учебного соперничества, при нахождении правильного ответа, студенты прочно и надолго запоминают метод тиндализации. В случае с проблемами нахождения ответа, студентам сообщается правильный ответ: во время длительных промежутков между дробными нагреваниями, споры бактерий, выжившие при 100 °С, прорастают, и вышедшие из них вегетативные клетки бактерий погибают при последующем нагревании [5]. Определение лидера – знатока группы всегда завершалась всплеском эмоций и задора со стороны участников. Вместе с тем, возможности данной игры в плане совершенствования отдельных уровней знаний оказались далеко не равными. Согласно полученным результатам интерактивный способ обучения «слабое звено» способствовало совершенствованию I (знакомство) и II (копия) уровней знания. На формировании более совершенных уровней (III – умение и IV – трансформация)

оно особо не влияло. Последнее существенно ограничивает возможности применения учебной игры «слабое звено». Для достижения искомого результата выбор настоящей учебной игры должен быть дифференцированным, с учетом специфики конкретного занятия. Ибо уровень освоенных знаний с помощью данной игры, особенно из частного раздела предмета медицинская микробиология, в итоге может оказаться низким. Несколько отличительными оказались результаты, полученные вследствие применения учебной ситуационной игры «case study». Разбирая кейс, студенты фактически получают на руки готовое решение, которое можно применить в других аналогичных обстоятельствах. По мере роста числа проанализированных кейсов, увеличивается шанс применения готовой схемы решений в одном из очередных ситуациях с аналогичным характером. Следовательно, формируются навыки скрупулезного решения более серьезных проблем. Данный интерактивный способ обучения способствовал существенному росту багажа как теоретических, так и практических знаний студентов. Учебная игра «case study» вызывала повышенный интерес всех участников. Знания, полученные с помощью данного вида учебной игры, были намного более совершенные и соответствовали – III (умение), IV (трансформация), а то и V (творчество) его уровням. Более чем у половины участников игры отчетливо формировались элементы III (умение), а у остальной части и V уровня (творчество) знаний. Вместе с этим, гораздо быстрее обогащался банк клинического мышления, что является отличительной особенностью данного способа обучения. В каждодневной рутинной педагогической работе необходимо использовать яркие и запоминающиеся моменты, которыми можно «раскрашивать» темы академических и «сухих» занятий. Работая школьным учителем, я заметил следующее, учебный материал усваивается учащимися много лучше, если перед ними ставить задачи с логическим уклоном, это интригует их и вызывает в них неподдельный интерес. Каждый пытается самостоятельно разгадать логическую загадку и соответственно желает выполнить это за короткий период времени. Пример из моей учебной практики. В детстве я прочитал сказку, канва сюжета которой гласила. – «Один царь издает указ, и глашатаи его объявляют народу следующее. Тот человек, который принесет царю самый красивый цветок, получит полцарства за свои старания». Благодаря данной истории у меня возник вопрос, который был непосредственно связан с темой в учебном плане по ботанике. Когда я проходил вышеуказанную тему, я вначале рассказывал ученикам об этой сказочной истории, а затем задавал вопрос следующего содержания. Назовите самый красивый цветок, который принесли царю? Опираясь на полученную информацию, учащиеся старались изо всех сил найти правильный ответ и при этом высказывали различные варианты видов цветов. Это были и розы, ромашки, подснежники и т.д. Когда же ученикам сообщалось что гран при завоевал самый обычный парень из деревни и что данный цветок знают все в классе, то благодаря этим подсказкам и различным логическим цепочкам, некоторые из учеников догадывались что речь идет об колоске пшеницы. Очень часто те, кто учатся в школе, и кто уже прошел полностью курс ботаники, забывают, что пшеница тоже обладает цветками. Правда они мелкие и незаметные, благодаря тому, что данные цветки опыляются при помощи ветра, а ветру безразлична красота цветков. Ведь яркие и красочные цветы, объясняю я ученикам, нужны тем растениям, которые опыляются при помощи живых существ (в основном насекомыми). Подобного типа вопросы вызывают у учащихся яркие и запоминающиеся образы, ассоциирующиеся с ботаникой. При последующих опросах, я смог убедиться, что данная тематика всеми учащимися была усвоена и, как правило, все отвечали правильно. Тем самым моя задача того чтобы новый учебный материал был усвоен и закреплен учениками, была решена успешно [6]. Способность интеллекта использовать юмор и нестандартный подход, при решении тех или иных вопросов, направляет человека к более высокому уровню разрешения проблемы, увеличивает багаж знаний и духовный потенциал [2].

Заключение. Основная идея педагогических технологий, это создание условий для активной совместной деятельности обучающихся в различных учебно-практических

ситуациях. При этом методами работы являются совместная деятельность преподавателя и студентов, поиск решения ответов на поставленные задачи. Все это способствует развитию эффективных коммуникаций в процессе коллективной работы, позитивному влиянию на обучение креативно мыслящих востребованных специалистов, способных быстро и качественно решать проблемы, с которыми им придется сталкиваться в своей профессиональной практике [3]. Педагогу рекомендуется использовать приёмы активизации мышления, творческих способностей участников обучающего процесса. Надо помнить, что краеугольным положением любых педагогических приемов и технологий является увлекательность учебного материала для учащихся. Это лишнее подтверждают слова великого французского философа Вольтера – «Все жанры хороши, кроме скучного». Учащиеся, решая интерактивные упражнения, не только и не столько закрепляют уже изученный учебный материал, сколько изучают новый весьма эффективно. Тем самым, можно считать целесообразным применение интерактивной игры «Слабое звено» при изучении общей микробиологии, а «Case study» – при изучении частной микробиологии.

Библиографический список

1. Жалолова В.З. и др. Роль инновационных методов обучения на развитие уровня знаний студентов //Новый день в медицине. 2019. Т. 4. №. 28. С. 32-35.
2. Мусийчук М. В. Юмор в психотерапии и консультировании: проблемы и решения в современных парадигмах //Медицинская психология в России. Ярославль, 2017. Т. 9. № 3 (44).
3. Назаров Ж-С.Э. Использование метода «case study» на практических занятиях по микробиологии //Материалы межрегиональной научно-методической конференции с международным участием «Методическое обеспечение практико-ориентированного медицинского образования». Тверь, 2021. С. 41-43.
4. Семенюк Л.М. Хрестоматия по возрастной психологии: учебное пособие для студентов. М.: Институт практической психологии, 1996. 304 с.
5. Nazarov Z.S.E. Using brainstorming and case-study method in practical classes of microbiology //Новый день в медицине. 2021. №. 1. С. 79-85.
6. Nazarov J.S.E. Laconicism, deduction and cases in teaching practice //Новый день в медицине. 2022. №. 2. С. 13-18.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИСТАНЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МЕЖВУЗОВСКОЙ АКАДЕМИЧЕСКОЙ МОБИЛЬНОСТИ

Санкин А.В.

**ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени
академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Рязань, Россия**

Введение. Академическая мобильность является неотъемлемой частью учебного процесса в вузах всего мира. Она связана с перемещением студентов и преподавателей в другое образовательное учреждение на определенный срок с целью проведения исследований, обмена опытом во всех сферах образовательной деятельности.[1]. Согласно исследованию ЮНЕСКО, за рубежом обучается более 2.7 миллионов студентов, гражданами которых они не являются[2]. Однако в период пандемии COVID-19 произошло ее резкое сокращение и затронуло 89% вузов в мире[3]. В результате чего произошло появление новой формы: виртуальная мобильность, которая потребовала применения новых видов взаимодействия преподаватель-студент в сфере дистанционных технологий, что имело как положительные, так и отрицательные стороны.

Материалы и методы. В работе использовался эмпирический и статистический метод. Материалом для данного исследования стало проведение академической мобильности в дистанционном формате со студентами из нескольких иностранных вузов Казахстана и Узбекистана.

Результаты и их обсуждение. В ходе академической мобильности связь со студентами осуществлялась с помощью сервисов обмена мгновенными сообщениями WhatsApp, Telegram, Viber; Интернет-ресурсами Vk.com и электронной почтой. Все эти варианты взаимодействия позволяли быстро обмениваться и предоставлять информацию по практическим занятиям. К положительным сторонам, так же можно отнести возможность использования этих сервисов с мобильного телефона, наличие приложений у всех студентов. В разных вузах отдавали предпочтение определенному сервису, что создавала определенные неудобства при проведении академической мобильности в нескольких учебных заведениях. Практические занятия проводились с применением сервисов беспроводного взаимодействия Zoom и Skype. Однако на второй год пандемии предпочтение отдавалось первому варианту. Данные технологии предоставляли широкий спектр возможностей для проведения семинаров. Использование видеосвязи, позволяло демонстрировать студентам проведение манипуляции в лаборатории и обсуждать ее непосредственно в процессе проведения. Однако, такой способ проведения лишал студентов возможности самим проводить манипуляции или требовал привлечения преподавателя вуза-партнера. В результате чего, занятия сводились к формуле «показать и рассказать» без самостоятельной практической работы студентов. Контроль освоения компетенций проводился с использованием устных опросов и онлайн-тестов. Последний вариант, оказался трудно осуществим, в связи с невозможностью интеграции иностранных студентов в экосистему вуза и проведением тестирования на базе системы Moodle.

Заключение. Таким образом, современные дистанционные технологии дают широкий спектр возможностей для проведения академической мобильности. Позволяют обмениваться опытом, проводить занятия и исследования в период пандемии. Однако имеется ряд проблем, которые требуют решения. В первую очередь, это создание единой информационной экосистемы между вузами, в которую можно было бы интегрировать студентов из других стран. Во-вторых, отсутствие качественных отечественных аналогов сервисов для проведения видеоконференций и онлайн-занятий.

Библиографический список

1. Рекомендации Комитета Министров Совета Европы государствам-членам по академической мобильности (Страсбург, 2 марта 1995 года) [Электронный ресурс] URL: http://nic.gov.ru/ru/docs/foreign/recomendations/Council_Europe_1995.
2. UNESCO (2005). *Globe Education Digest 2005*. Paris: UNESCO
3. Marinoni G., van't Land H., Jensen T. IAU Global Survey on the Impact of COVID-19 on Higher Education around the World // International Association of Universities.

СЕКЦИЯ 5. МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В РЕШЕНИИ АКТУАЛЬНЫХ ВОПРОСОВ МИКРОБИОЛОГИИ

АНАЛИЗ МИКРОФЛОРЫ ПАЛАТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Елифанов Н.Ю., Морозов А.М., доцент, кандидат медицинских наук,
Рачек А.М., Стаменкович А.Б.

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Тверь, Россия

Введение. Широкое применение инвазивных технологий в медицине приводит к инфицированию пациентов госпитальными штаммами. Однако, несмотря на внедрение в клинику новых противомикробных препаратов, гнойно-септические осложнения продолжают оставаться наиболее частой патологией у госпитализированных больных.

В связи с данной проблемой в некоторых больницах ведутся дискуссии по вопросу разработки эффективной системы отслеживания инфекций и эпиднадзора, а также различных стратегий по принятию профилактических мер, направленных на снижение частоты внутрибольничных инфекций.

Однако несмотря на достаточно пристальное внимание специалистов к данной проблеме, инфекциям, связанным с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в отделениях хирургического профиля по статистике подвержены от 5 до 20 % больных. Влияние внутрибольничных инфекций проявляется не только на уровне отдельного пациента, но и на уровне целого общества, поскольку все чаще появляются патогенные штаммы микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. Неадекватное применение антибиотиков в данном случае у одного пациента может привести к развитию резистентного штамма, который распространяется на других пациентов, не принимающих антибиотики, что делает эту проблему актуальной для всего общественного здравоохранения.

Из-за роста числа устойчивых к антибиотикам бактерий и отсутствия внедрения методов инфекционного контроля, ИСМП остаются одной из основных причин смертности в большинстве стран. Поэтому крайне важно выработать коллективные стратегические действия в отношении контроля распространения инфекционных заболеваний для снижения неблагоприятных социально-экономических последствий.

Материалы и методы. В настоящем исследовании были проанализированы 8 палат хирургического профиля ГБУЗ 7 городской больницы г. Тверь, из которых 4 палаты гнойного и 4 палаты чистого поста. В каждой палате были взяты смывы со стен и мебели: с поверхности площадью 100 см² были получены смывы с крупного оборудования и инвентаря. Выполненный из проволоки и металлической пластинки трафарет площадью 25 см² использовался для ограничения поверхностей. Трафарет накладывали 4 раза в разных местах поверхности контролируемого объекта. Время доставки смывов в лабораторию от момента взятия не превышало 2 часов. Взятие смывов производилось с помощью стерильных ватных тампонов, которые перед этим были увлажнены наклонением пробирки. В день взятия смывов в каждую пробирку с тампоном было добавлено (в условиях бокса над горелкой) по 5 мл стерильного 0,1% водного раствора пептона или изотонического раствора хлорида натрия таким образом, чтобы ватный тампон не касался жидкости. При отборе смывов проводилось неоднократное смачивание тампонов. В дальнейшем производилась обработка стен четырех палат гнойного и чистого отделения антисептическими растворами ежедневно каждые 12 часов. Посевы проводились на 1, 7 и 21 день и через 2 месяца.

Результаты и их обсуждение. Рассмотрим палаты гнойного поста. В первый день в результате бактериологического посева, взятого с левой и правой стен 4 палат, были выделены бактерии *Acinetobacter baumannii* complex, *Escherichia coli* с гемолитическими свойствами и *Acinetobacter Iwoffii*.

В последующим производилась ежедневна обработка стен палат антисептическими растворами каждые 12 часов. Обработка проводилась с помощью пульверизатора с раствором Амицид. Обработывался квадрат с помощью трафарета площадью 25 кв. см в четырех местах левой и правой стен палаты. Опрыскивание контролируемого объекта проводилось на расстоянии 20-30 см.

Через 7 дней систематической обработки поверхностей палат были взяты смывы с указанных площадей, результаты показали рост микроорганизмов *Acinetobacter baumannii* complex, *Esherichia coli* и *Acinetobacter Iwoffii*. Однако, колониеобразующая единица (КОЕ) у всех микроорганизмов снизилась.

Повторное взятие смывов проводилось на 21 сутки и спустя 2 месяца, причем обработка палат указанным антисептическим препаратом не прекращалась. В результаты смывов рост микроорганизмов обнаружен не был.

Рассмотрим палаты чистого поста. В ходе бактериологического посева смывов со стен 4 палат роста микроорганизмов отмечено не было, что говорит об относительной стерильности данных помещений и отсутствии угрозы заражения госпитализированных пациентов внутрибольничными инфекциями.

Несмотря на это, в последующим производилась ежедневна обработка стен палат антисептическими растворами каждые 12 часов. Обработка проводилась с помощью пульверизатора с раствором Амицид. Обработывался квадрат с помощью трафарета площадью 25 кв. см в четырех местах левой и правой стен палаты. Опрыскивание контролируемого объекта проводилось на расстоянии 20-30 см.

На 7, 21 и через 2 месяца от начала эксперимента роста микроорганизмов также не отмечалось.

Заключение. Настоящее исследование показало, что стены палат гнойного поста хирургического отделения могут быть заселены патологическими микроорганизмами, такими как *Acinetobacter baumannii* complex, *Esherichia coli* и *Acinetobacter Iwoffii*. При детальной ежедневной обработке поверхностей антибактериальными растворами количество данных микроорганизмов резко сокращается. Спустя месяц целенаправленной обработки стен палат бактериологические посева смывов стен показывают отсутствие роста патологической микрофлоры, что говорит о необходимости изменения протоколов уборки палат хирургического стационара в связи с изменившимся составом микробиоты палат.

Библиографический список

1. Возбудители гнойно-септических внутрибольничных инфекций в реанимационных отделениях стационара скорой медицинской помощи / Т.В. Черненькая, Л.А. Борисова, И.В. Александрова, Д.А. Косолапов // Медицинский алфавит. 2013. Т. 2. № 12. С. 30-33.
2. Диагностика и профилактика инфекционных осложнений области хирургического вмешательства / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, Н.А. Сергеев [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. 2021. Т. 26. № 1. С. 54-58. DOI 10.52246/1606-8157_2021_26_1_54.
3. О развитии антибиотикорезистентности в аспекте поликлинической службы / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, В.А. Кадыков [и др.] // Вестник современной клинической медицины. 2021. Т. 14. № 5. С. 43-50. DOI 10.20969/VSKM.2021.14(5).43-50.
4. Об экономической составляющей проведения предоперационной антибиотикопрофилактики / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, Э.М. Аскеров [и др.] // Врач. 2021. Т. 32. № 7. С. 74-78. DOI 10.29296/25877305-2021-07-12.

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЗМА ДЕТЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ АФТЗНОМ СТОМАТИТЕ

Козловская Л.В., доцент, кандидат медицинских наук,

Кармалькова Е.А., доцент, кандидат медицинских наук

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Республика Беларусь

Введение. В последние годы появились многочисленные указания на рост частоты, тяжести и «омоложение» аллергических реакций, в том числе и в детском возрасте. Ряд исследователей подчеркивают роль аллергических механизмов в развитии хронического рецидивирующего афтозного стоматита как достаточно часто встречающегося заболевания слизистой оболочки полости рта у детей [1-3].

Цель исследования – определить уровень специфической сенсибилизации организма у детей с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 32 ребенка с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом в возрасте от 7 до 14 лет. Группу сравнения составил 31 практически здоровый ребенок аналогичного возраста. Диагноз устанавливали на основании анамнеза и клинической картины. Уровень сенсибилизации организма детей изучали с помощью показателя повреждения нейтрофилов (ППН). Определение ППН осуществляли в соответствии с рекомендациями автора [4].

Результат считали положительным при показателе повреждения нейтрофилов более 0,05. Так как ведущим фактором патогенеза, обуславливающим рецидивы афтозного стоматита, является микробно-вирусная сенсибилизация, то для оценки ее уровня мы использовали аллергены, играющие существенную роль в этиопатогенезе данного заболевания: герпетическую вакцину, гемолитический стафилококк, гемолитический стрептококк, кишечную палочку, протей мирабилис.

Забор крови проводили путем прокола подушечки безымянного пальца больного ребенка. Манипуляцию осуществляли в течение болезни дважды: в периоды высыпания и реконвалесценции. Предварительно у всех пациентов получено добровольное согласие на участие в исследовании.

Результаты и их обсуждение. Данные изучения уровня специфической сенсибилизации организма детей с хроническим афтозным стоматитом, а также практически здоровых детей соответствующего возраста представлены в таблице 1.

В ходе исследования получены отрицательные результаты индекса ППН у практически здоровых сверстников. Проведение теста ППН у детей с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом позволило нам констатировать повышение амебоидной активности нейтрофилов крови после антигенного раздражения ее вакциной герпетической тканевой убитой жидкой, аллергенами гемолитического стрептококка, гемолитического стафилококка, кишечной палочки и протей мирабилис, что свидетельствует о существовании специфической поливалентной сенсибилизации.

Анализ полученных данных позволил установить, что ППН у детей группы наблюдения достоверно выше ($P < 0,001$) показателей группы сравнения как в периоде высыпаний рецидивирующего стоматита, так и в периоде реконвалесценции. ППН к периоду клинического выздоровления уменьшился, однако он остался высоким и статистически значимо ($P < 0,001$) отличался от такового в группе практически здоровых детей.

Наибольшая сенсибилизация организма детей, больных рецидивирующим афтозным стоматитом, зарегистрирована в результатах антигенного раздражения аллергеном гемолитического стрептококка ($0,370 \pm 0,025$) и кишечной палочки ($0,348 \pm 0,022$), а также герпетической вакциной ($0,332 \pm 0,025$).

Таблица 1 – Значение индекса ППН у детей с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом

Значения ППН на различные антигены	Группа сравнения (n=31)	Группа наблюдения(n=32)				
		период высыпаний		период реконвалесценции		
			P ₁		P ₁	P ₂
Герпетическая вакцина	0,045±0,003	0,332±0,025	<0,001	0,264±0,026	<0,001	>0,05
Гемолитический стафилококк	0,043±0,002	0,314±0,019	<0,001	0,294±0,024	<0,001	>0,05
Гемолитический стрептококк	0,049±0,003	0,370±0,025	<0,001	0,277±0,026	<0,001	>0,01
Кишечная палочка	0,046±0,003	0,348±0,022	<0,001	0,276±0,022	<0,001	>0,05
Протей мирабилис	0,046±0,002	0,313±0,027	<0,001	0,284±0,022	<0,001	>0,05

Примечание: P₁ – достоверность различий по сравнению с группой наблюдения; P₂ – достоверность различий показателей в пределах группы (периоды высыпаний и реконвалесценции).

Мы сравнили значение ППН в пределах группы наблюдения в периодах высыпаний и реконвалесценции, что позволило оценить в динамике эффективность проводимого патогенетического лечения. Так, наиболее отзывчивым на гипосенсибилизирующую терапию оказался гемолитический стрептококк: в периоде клинического выздоровления ППН составил 0,277±0,026, что достоверно ниже (P < 0,01) в периоде высыпаний. Статистически значимо уменьшился индекс ППН, характеризующий сенсибилизацию аллергеном кишечной палочки: если в период высыпаний он равнялся 0,348±0,022, то в период реконвалесценции – 0,276±0,022 (P < 0,01). Тенденция к снижению уровня специфической сенсибилизации в результате патогенетического лечения просматривается и в отношении других аллергенов (гемолитического стафилококка, вируса простого герпеса, протей мирабилис) (P < 0,05).

Показатели амебоидной активности нейтрофилов, регистрируемые ППН, объясняются эффекторными особенностями полинуклеаров, хемотаксические факторы которых генерируются как прямым путем (из бактерий, вирусов), так и непрямым (из комплементарной, свертывающей, фибринолитической систем крови).

Заключение. Таким образом, определение уровня сенсибилизации с помощью теста ППН может быть использовано для диагностики и оценки эффективности проводимого лечения хронического рецидивирующего афтозного стоматита у детей.

Библиографический список

1. Аллергические болезни у детей: Учеб.-метод. пособие / Т.Н. Самаль. Минск: БГМУ, 2018. 52 с.
2. Герпесвирусы в патологии челюстно-лицевой области у детей: Учеб.-метод. пособие / В.П. Михайловская, Т.В. Попруженко, Т.Г. Белая. Минск: БГМУ, 2009. 75 с.
3. Самсыгина Г.А. Аллергические болезни у детей. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2019. 272с.
4. Фрадкин В.А. Диагностика аллергии реакциями нейтрофилов крови. М.: Медицина, 1985. 176 с.

ПРИМЕНЕНИЕ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ

Полетаев Д.А., доцент, кандидат физико-математических наук,
Соколенко Б.В., кандидат физико-математических наук
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»,
г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Введение. На сегодняшний день детектирование типов микроорганизмов проводится методами электронной микроскопии, ПЦР-анализа, непосредственными микроскопическими исследованиями, и методами посева с последующим микроскопическим исследованием [1]. Однако метод электронной микроскопии весьма сложен и непродуктивен [1]. ПЦР-анализ – требует значительных временных затрат [2]. Метод непосредственной микроскопии весьма субъективен и требует высокой квалификации работников [3]. А метод посева затратен по времени [1]. В то же время задача получения изображений микрочастиц – бактерий, распределенных в жидкой среде, на сегодняшний день решается с помощью метода классической широкопольной оптической микроскопии [4]. Однако к существенным недостаткам данного метода следует отнести невозможность контроля всего объема жидкости, ввиду фокусировки на конкретном объекте. Использование интерференционных методов в сочетании с принципами цифровой обработки голограмм позволяет получить новые возможности в интерферометрии и трехмерной реконструкции изображения [5].

Физический механизм исследования микрообъектов – бактерий заключается в получении точных значений фазового запаздывания волны, прошедшей через объект или отраженной от его поверхности, что возможно благодаря определению оптической длины пути, представляющей собой интеграл от функции пространственного распределения показателя преломления по направлению распространения световой волны. При различных углах зондирования образца становится возможным получение набора значений оптической длины пути и реконструкция пространственного трехмерного распределения показателя преломления. В настоящее время интенсивно развиваются исследования фазовых возмущений волновых фронтов световых полей, вследствие взаимодействия световой волны и различных объектов [5]. Запись цифровым способом фазовых особенностей поля волны с последующей обработкой и получением изображения микрочастиц получило название цифровой голографической микроскопии. Этот метод обеспечивает восстановление с высокой разрешающей способностью пространственных фазовых распределений волнового поля.

Целью работы является апробация метода цифровой голографической микроскопии для анализа формы бактерий и оценки минимального размера обнаруживаемого организма.

Материалы и методы. Для численной реконструкции голограммы в плоскости, требуется знать распределение интенсивности поля, которое является результатом интерференции волн. Математически это можно представить следующим образом [5]:

$$I = |o_1 + o_2|^2 = |o_1|^2 + |o_2|^2 + o_1 o_2^* + o_1^* o_2 = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\varphi_1 - \varphi_2), \quad (1)$$

где o_1 и o_2 – комплексные амплитуды интерферирующих волн $o(x, y) = |o(x, y)| \exp[-i\phi(x, y)]$; o^* – комплексно сопряженная o ; величины φ_1 и φ_2 представляют собой начальную фазу волн.

Таким образом, наблюдаемое распределение интенсивности светового поля зависит только от разности фаз интерферирующих волн. Умножим записанную цифровую голограмму, т. е. интенсивность интерференционной картины $I(x, y)$, на значение поля опорной волны $o_2(x, y)$:

$$o_2(x, y)I(x, y) = o_2(x, y)|o_2(x, y)|^2 + o_2(x, y)|o_1(x, y)|^2 + |o_2(x, y)|^2 o_1(x, y) +$$

$$+o_2^2(x, y)o_1^*(x, y). \quad (2)$$

Первое слагаемое в правой части уравнения (2) пропорционально значению $o_2(x, y)$ опорной волны, второе слагаемое описывает пространственное изменение интенсивности «свечения» вокруг первого порядка дифракции. Вместе они составляют нулевой порядок дифракции, или фоновую составляющую. Третье слагаемое с точностью до известного множителя $|o_2(x, y)|^2$ представляет собой точную копию исходного поля $o_1(x, y) = |o_1(x, y)|\exp(i\varphi(x, y))$ и является мнимым изображением объекта. Четвертое слагаемое относится к еще одному изображению объекта, «изображению-двойнику», которое называется действительным изображением.

Результаты и их обсуждение. Экспериментальная установка (рис. 1) включала: полупроводниковый лазер с мощностью оптического излучения 120 мВт на длине волны 535 нм, диафрагму с размером отверстия 25 мкм, кювету с тестовой средой. Для апробации метода и оценки минимального размера обнаруживаемых частиц были подготовлены несколько тестовых сред. Они состояли из дистиллированной воды и взвешенных частиц микропластика разных форм, отсортированных сторонним методом по линейным размерам частиц в диапазонах: от 0 до 5 мкм; от 15 до 20 мкм; от 40 до 50 мкм; от 90 до 100 мкм.

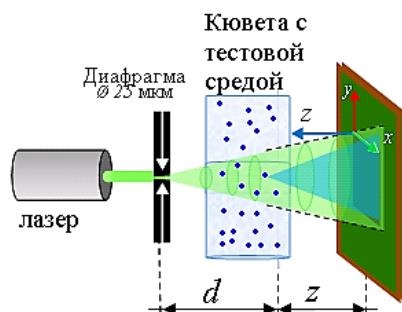


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

Для получения данных о форме образца из объектной волны в цифровой голографии используется численный расчёт распространения оптического поля от плоскости голограммы к плоскости изображения).

На рис. 2 и 3 показаны восстановленные численным методом голограммы кюветы с тестовой средой и частицами разных размеров.

Изображение частиц на рис. 2, а практически неразличимы на уровне шумов.

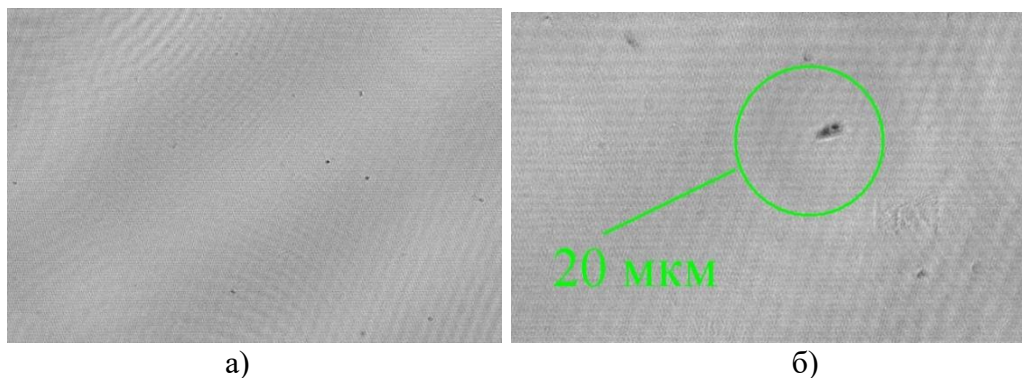


Рис. 2. Восстановленные численным методом голограммы в кювете с тестовой средой и частицами, размером: а) от 0 до 5 мкм; б) от 15 до 20 мкм.

Из рис. 2 и 3 следует, что частицы с размерами менее 20 мкм практически не обнаруживаются на данной установке. Время анализа тестовой среды, включая получение изображения и компьютерную обработку, составило не более 100 мкс.

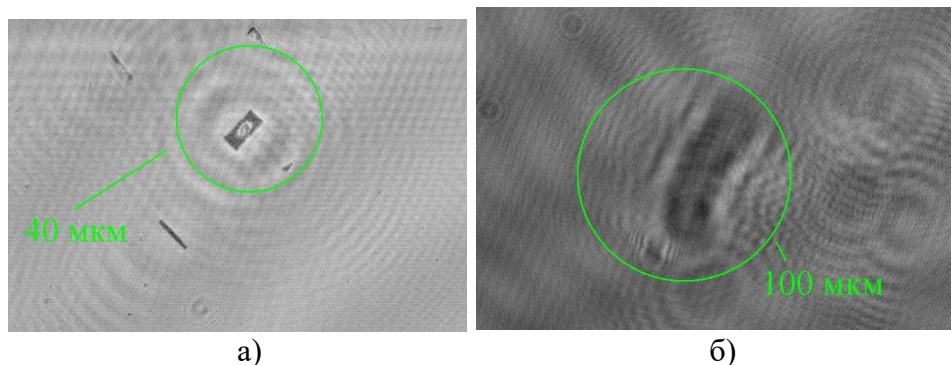


Рис. 3. Восстановленные численным методом голограммы в кювете с тестовой средой и частицами, размером: а) от 40 до 50 мкм; б) от 90 до 100 мкм.

Заключение. В данной работе представлен метод цифровой голографической микроскопии, позволяющий восстановить комплексную амплитуду волны, а значит и амплитуду и фазу волнового фронта от объекта, что, как следствие, решает проблему поиска взвешенных в жидкости частиц. Голографический принцип позволяет реализовать возможность регистрации нескольких голограмм в различных сечениях кюветы с тестовой средой.

Установлено, что при применении описываемой установки можно достоверно детектировать частицы с размерами более 20 мкм, что делает его пригодным для детектирования крупных бактерий. Предлагаемый метод, помимо качественного наблюдения объемных включений, позволяет восстанавливать трехмерные геометрические формы объектов по массиву накопленных в компьютерной системе данных.

Библиографический список

1. Детектирование единичных бактерий с помощью рамановской микроскопии / Т.В. Байкова, С.А. Гончуков, А.М. Кошкин [и др.] // Научная сессия НИЯУ МИФИ-2014: Аннотации докладов: в 3-х томах, Москва, 30 июня – 04 2014 года / О.Н. Голотюк (ответственный редактор). М.: Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, 2014. С. 168.
2. Литасова А.С., Жуков И.В., Максимов А.Ю. Разработка праймеров для ПЦР-диагностики икhtiопатогенных бактерий рода *Flavobacterium* // Симбиоз-Россия 2019 : Материалы XI Всероссийского конгресса молодых ученых-биологов с международным участием, Пермь, 13–15 мая 2019 года. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2019. С. 48-50.
3. Vijayakumar A., Rosen J. Interferenceless coded aperture correlation holography – a new technique for recording incoherent digital holograms without two-wave interference // Opt. Express. 2017. № 25. P. 13883–13896.
4. Soskin M.S., Vasnetsov M.V. Singular Optics // Progress in Optics. 2001. Vol. 42. 219–276.
5. Huang Yeu-Chuen, Chou Chien, Chou Ling-Yu, Shyu Jenn-Chyang, Chang Ming. Polarized optical heterodyne profilometer // Japanese journal of applied physics. 1998. Vol. 37, No 1. P. 351.

О ПРОБЛЕМЕ МИКРОБИОТЫ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

Рачек А.М., Морозов А.М., доцент, кандидат медицинских наук,
Епифанов Н.Ю., Соболев Е.А.

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Тверь, Россия

Введение. В настоящее время хирургическая патология занимает ведущее место по результатам общей заболеваемости и случаям летального исхода. Первое место занимают больные с острым холециститом, на втором месте - с хроническим холециститом, третью позицию занимают больные с острым аппендицитом.

В настоящее время существует большое количество патогенных микроорганизмов, способных вызывать острые хирургические заболевания органов брюшной полости.

Для профилактики инфекции области хирургического вмешательства и снижения осложнений в периоперационном периоде в клинической практике применяется предоперационная антибактериальная терапия, однако ввиду панрезистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, при проведении антибиотикопрофилактики необходимо учитывать не только конкретную нозологическую форму, но и чувствительность к антибактериальным препаратам в данной местности и даже в данном лечебном учреждении.

Антибактериальные препараты были открыты в 20 веке, это считалось одним из удивительных открытий того времени. Однако, в настоящее время проблема заключается в том, что у патогенных микроорганизмов возникает устойчивость к антибиотикам за счет генов резистентности, которые появляются у новых штаммов микроорганизмов ввиду чрезмерного использования антибактериальных препаратов в медицине.

Чтобы терапевтический эффект от приема антибактериальных препаратов был положительным, необходимо владеть большим количеством информации о микроорганизмах и их мутациях. Только определив чувствительность микроорганизмов к определенным антибактериальным препаратам, можно обеспечить соответствующее лечение больных с хирургической патологией.

В связи с этим при лечении хирургических заболеваний органов брюшной полости необходимо не только своевременно определять чувствительность патогенов к антибиотикам, но и вовремя начинать стартовую этиотропную терапию с учетом чувствительности к антибактериальным препаратам в данном лечебном учреждении, что может быть выполнено только благодаря постоянным планомерным исследованиям в данной области.

Материалы и методы. В ходе настоящей работы был проведен статистический анализ учетных форм результатов микробиологического исследования хирургических заболеваний органов брюшной полости. Исследование проводилось с 2018 по 2020 год на базе хирургического отделения 4 городской больницы города Твери. Материал для исследований забирался из брюшной полости, желчного пузыря и области червеобразного отростка.

Результаты и их обсуждение. Рассмотрим результаты микробиологического анализа при остром аппендиците. Были отобраны 100 результатов посевов области червеобразного отростка и брюшной полости. В 15% случаев роста патологической флоры отмечено не было. В остальных случаях преобладал рост *E. coli* и *P. aeruginosa*. По данным Андреева С. В. (2018) наиболее часто встречающейся патогенной микрофлорой при остром аппендиците является *E. coli* и *P. aeruginosa*, что соответствует результатам настоящего исследования.

E. coli представляет собой вид грамотрицательных палочковидных бактерий, не патогенные виды в норме в больших количествах заселяют кишечник, вместе с этим могут вызывать тяжелую патологию, попадая в другие места обитания. В настоящем исследовании

E. coli проявила чувствительность к меропенему, цефтазидиму, амикацину и цефокситину и гентамицину.

P. aeruginosa представляет собой вид грамотрицательных палочковидных бактерий, чаще всего обнаруживаются при абсцессах и гнойных ранах, особенно легко поражает больных с низким иммунным статусом и является резистентной к большинству антимикробных препаратов, что усложняет процесс лечения. В настоящем исследовании *Ps. Aeruginosa* проявила чувствительность к проявляла чувствительность к четырем антибиотикам: цефокситину, цефтазидиму, меропенему и амикацину.

Однако чувствительность данных микроорганизмов к антибактериальным препаратам не соответствует данным литературы, так, в ходе настоящего исследования *E. coli* и *P. aeruginosa* проявляли чувствительность к тем антибиотикам, к которым они должны быть резистентны. Такими антибактериальными препаратами были меропенем, цефтазидим, амикацин и цефокситин. Опираясь на исследование Артюх Т.В. (2021) *E. Coli* проявляет чувствительность в отношении тетрациклина, имипенема, цефтриаксона и ампициллин-сульбактама. По данным Андреевой С.В. (2018) *P. aeruginosa* обладает наибольшей чувствительностью к гентамицину и циплофлоксацину.

Заключение. В результате бактериологических посевов микрофлоры при заболеваниях органов брюшной полости наиболее часто высеивались патогенные микроорганизмы *E. Coli* и *Ps. Aeruginosa*. Данные, полученные на основании проведенного исследования, не совпадают с данными литературных источников по проявлению чувствительности патогенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Можно предположить, что, активное применение антибактериальных препаратов, ведет к резкому изменению чувствительности у патогенных микроорганизмов. Необходимо учитывать возможные вспышки внутрибольничной инфекции, в связи с этим необходимо проводить регулярные скрининги по проблеме чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам не только в лечебных учреждениях городских и областных уровней, но даже в отдельных отделениях, чтобы эффективно применять антибактериальную терапию в соответствии с последними мутациями микроорганизмов.

Библиографический список

1. Davies J., Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2010. № 3. С. 417-433.
2. Морозов А.М., Сергеев А.Н., Аскеров Э.М. Современный подход к антибактериальной терапии в практике хирурга // *Вестник медицинского института "Реавиз": реабилитация, врач и здоровье*. 2021. № 2. С. 79-86 DOI: 10.20340/vmirvz.2021.2.CLIN.6.
3. Артюх Т.В., Соколова Т.Н. Особенности резистентности клинических изоляторов *E. Coli* и *S. Albicans*, образующих биопленку // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2021. № 5. С. 46-54.
4. Андреева С.В., Бахарева Л.И., Нохрин Д.Ю. Чувствительность к антисептикам биоплёночных форм *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из ожоговых ран // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018. № 3. С. 249-256.
5. Морозов А.М., Сергеев А.Н., Аскеров Э.М. Об экономической составляющей проведения предоперационной антибиотикопрофилактики // *Врач*. 2021. № 7. С. 74-78 DOI: 10.29296/25877305-2021-07-12.

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА

Рубцова Е.В.; Жданова Е.В., профессор, доктор медицинских наук
ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Тюмень, Россия

Введение. Лонг-ковид - это долгосрочные патологические проявления в организме, которые сохраняются более 12 недель после перенесенной COVID-19-инфекции [0, 0, 0].

Цель исследования. Оценить механизмы формирования патологических проявлений в постковидном периоде (ПКП).

Материалы и методы. Проведен анализ 400 электронных амбулаторных карт пациентов, обратившихся за медицинской помощью в течение 3 месяцев после перенесенной коронавирусной инфекции. Из них 90% женщин. 30% в возрасте 30-40 лет. В 49% COVID-инфекция перенесена в легкой степени, 16%- с бессимптомным течением и положительным титром антител к JgG SARS-CoV-2, 24%- в средней степени тяжести, 13% имели тяжелое течение.

Результаты и их обсуждение. У 84% пациентов выявлены признаки лонг-ковида. В большинстве случаев сохранялась немотивированная общая слабость, невозможность выполнять повседневную физическую нагрузку. В 79% случаев было отмечено повреждение центральной нервной системы: прогрессирование или появление признаков энцефалопатии [0, 0], ухудшение концентрации внимания, памяти, головные боли, головокружение. У 76% пациентов выявлено поражение сердечно-сосудистой системы в виде нарушений сердечного ритма, перикардита, миокардита, гипертензии или гипотензии. В 66% случаев имелись жалобы на выпадение волос, кожные проявления в виде зуда, жжения и папулезно-геморрагической сыпи. У 49% пациентов имело место депрессивное состояние, для купирования которого в половине случаев был необходим прием транквилизаторов и седативных препаратов. Нарушение функций органов чувств в виде снижения остроты зрения, слуха и anosmia также встречалось довольно часто (48%). У 38% пациентов длительно сохранялись признаки нарушения дыхательной функции: затрудненное дыхание, одышка, подкашливание. С такой же частотой пациенты обращали внимание на выраженную потливость с изменением запаха потового секрета. 27% пациентов беспокоили бессонница, дневная сонливость, а также частые яркие сновидения. 15% пациентов отмечали периодический субфебрилитет в течение дня, но преимущественно в вечернее время. У 14% выявлены признаки флебита.

У 76% пациентов лонг-ковид протекал волнообразно и в 90% жалобы носят полиморфный характер [0].

Выявленные проявления подтверждены клинико-лабораторными показателям (ОАК, СРБ, Д-димер, фибриноген, РФМК, ЭКГ, ЭхоКГ, спирометрия, УЗДС вен нижних конечностей) [0]. В 16% случаев постковидного синдрома (ПКС) диагностирована анемия, 90% из них женщины, у 73% анемия выявлена впервые. Гематологическая характеристика постковидной анемии: 33 % микроцитарная, с уменьшением среднего объема эритроцитов и средней концентрации в них Hb. 67% - нормоцитарная гипорегенераторная с неизменённым количеством ретикулоцитов. Анизо-пойкилоцитоз эритроцитов отмечен только при тяжелом течении анемии. Гипосидеремия в 10% случаев, 90%- нормосидеремия.

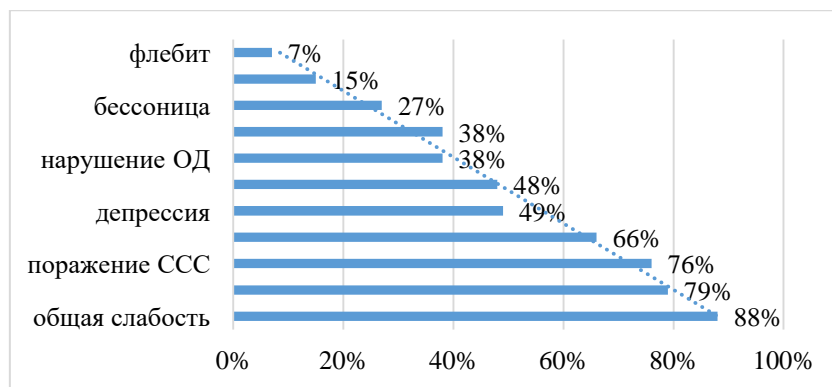


Рис. 1. Частота жалоб, предъявляемые пациентами, перенесших COVID-19- инфекцию



Рис. 2. Особенности гемограммы при лонг-ковиде.

Снижение уровня ферритина диагностировано у 16% пациентов, повышение – у 22%, вариант нормы – у 62%, что исключает дефицит железа в организме.

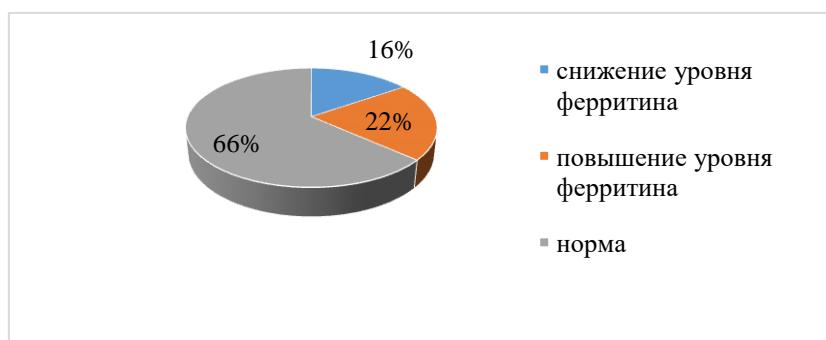


Рис. 3. Показатели уровня ферритина в сыворотке крови у пациентов при лонг-ковиде.

Астенический синдром на фоне анемии имеет затяжной характер, более 90 дней- у 17%, более 60 дней- у 35%, более 30 суток- 48%.

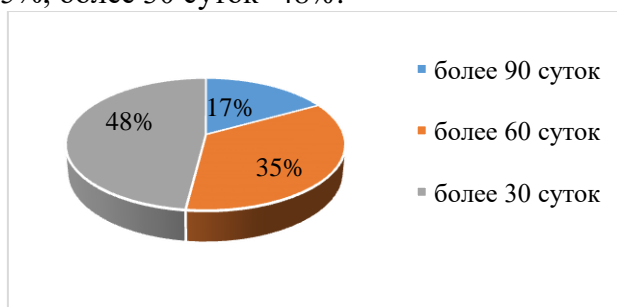


Рис. 4. Оценка выраженности астенического синдрома в зависимости от длительности течения постковидного периода.

Повышение Д-димера более 3 месяцев диагностировано у 24%, ускорение СОЭ-у 14%, повышение СРБ- у 29%, увеличение фибриногена- у 41% пациента.

Заключение. ПКС связан с хроническим тромбоваскулитом [0, 0], который в большей степени в ПКС поражает нервную систему (центральную, периферическую, вегетативную), сердце, легкие, кожу. SARS-CoV-2 инфицирует эндотелий сосудов, и оказывает прямое повреждающее действие и нарушает антикоагуляционные свойства, способствуя образованию микротромбов в микроциркуляторном русле, приводя к тканевой гипоксии и ишемии органов [0, 0]. Активация системы комплемента, вызывающие аутоиммунное воспаление, имеет место как иммунокомплексный ответ на внедрение SARS-CoV-2 [0, 0]. Его нейротропность подтверждается прямым поражением гипоталамуса, лимбической системы, мозжечка и стволовых структур, что нарушает терморегуляцию, обоняние и тд. Поражение вегетативной нервной системы проявляется в виде нарушения дыхания, АД, пульса. Анемия в ПКП связана с уменьшением всасывания железа в кишечнике под действием гепсидина, изменение депонирования и редепонирования микроэлемента, снижение синтеза эритропоэтина под влиянием цитокинов [0, 0]. Таким образом, следует заметить, что в лонг-период патология дыхательной системы уходит на второй план, уступая место патологии сердечно-сосудистой и нервной системам.

Библиографический список

1. Baig, A. M. Chronic COVID Syndrome : Need for an appropriate medical terminology for Long-COVID and COVID Long-Haulers // *Journal of Medical Virology*. 2020. Vol. 93, no. 5. P. 2555–2556. doi:10.1002/jmv.26624. PMID 33095459.
2. De Haan A., Kuo L., Masters P. S., Vennema H., Rottier P. J. M. Coronavirus particle assembly primary structure requirements of the membrane protein. *J. Virol.* 1998;72(8):6838–6850. doi: 10.1128/JVI.72.8.6838-6850.
3. Коронавирусный синдром: профилактика психотравмы, вызванной COVID-19/ Соловьева Н.В., Макарова Е.В. , Кичук И.В. // *PMЖ*. №9. 2020.
4. Into the looking glass: Post-viral syndrome post COVID-19/ R. Perrin, L. Riste, M. Hann – Nov., 2020.
5. Living with Covid19 – Second review (англ.) // *NIHR Themed Reviews*. National Institutes For Health Research, 2021. 16 March. doi:10.3310/themedreview_45225.
6. Milekhina S. A. COVID-19. A review of the literature. *Scientific and educational journal for students and teachers StudNet*. 2020;7:509-519. doi: 10.24411/2658-4964-2020-10086. (In Russ).
7. Needs to Prepare for «Post-COVID-19 Syndrome»/ Robert L. Klitzman// *The American Journal of Bioethics*. 26 Oct. 2020.
8. Post-COVID-19 Fatigue: Potential Contributing Factors/ Thorsten Rudroff, Alexandra C. Fietsam, Justin R. Deters, Andrew D. Bryant, John Kamholz// *Brain Sci.* 2020, №10.
9. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormalcoagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;18(5): 844–47. doi: 10.1111/jth.14820.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛАКТОБАКТЕРИЙ
Сидоренко О.Д., профессор, доктор сельскохозяйственных наук;
Жукова Е.В., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук;
Пастух О.Н., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук
ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева», г. Москва, Россия

Введение. Вопрос правильного питания превратился в общенациональную проблему, решение которой можно найти в познании многогранных аспектов взаимоотношений макро- и микроорганизмов. Антибактериальные свойства некоторых молочнокислых бактерий нашли широкое применение в качестве пробиотиков и пребиотиков в различных областях медицины [2, 3].

Однако в последнее время было установлено неоднозначное положительное лечение заболеваний ЖКТ пробиотиками. Выживаемость и приживаемость пробиотических микроорганизмов при транзите по ЖКТ крайне низкая. Активность препаратов не высокая и довольно быстрая элиминация микроорганизмов из организма человека. В связи с этим, большой интерес представляет создание лечебно-профилактических препаратов на основе микробных метаболитов (безмикробные метабиотики) при использовании биобактерий козьего молока [4, 5].

Козье молоко представляет собой ценную биологическую жидкость для животного организма и в высшей степени благоприятную среду для размножения всевозможных бактерий. Микрофлора свежего молока весьма разнообразна [1, 6]. Молочнокислые, маслянокислые бактерии, дрожжи, бациллы. Однако в свежем молоке содержатся бактериоцины, которые задерживают развитие посторонней микрофлоры. В конечном счете остается нормальная микрофлора молока, представленная молочнокислыми бактериями, которые обладают характерной особенностью при брожении. Они образуют основу продукта – продуцируют молочную кислоту с примесью муравьиной, иногда янтарной кислот, а в присутствии дрожжей – незначительное количество спирта. Газы они не образуют или образуют очень мало. По форме это кокки или палочки, сбраживают молоко с образованием кислоты (без газа) лактозу, глюкозу, галактозу, мальтозу и декстрозу.

Благодаря кисломолочной продукции, которую используют в питании человека и имеют пищевую ценность, они имеют диетическое и лечебное значение, особенно на основе козьего молока. Кисломолочные продукты усваиваются лучше, чем цельное молоко и являются неблагоприятной средой для развития многих патогенных бактерий. В лечении ЖКТ для повышения эффективности терапии необходимо создание банков микробиоценозов природных заквасок [6]. Особый интерес представляют пигментообразующие лактобактерии, которые обладают не только антибиотической активностью. Число исследований по этому направлению выполненных у нас в стране и за рубежом крайне ограничено. Большое внимание в основном уделяется использованию пигментообразующих микроорганизмов с антибиотической функцией. Вероятность полифункциональности бурых пигментов лактококков, нами была установлена при изучении формирования кисломолочного продукта. Бактериальные меланины, как и бактериоцины, представляют ценность при создании лечебно-профилактических продуктов питания на основе молока [5].

Синтез пигментов – наследственная особенность микроорганизмов, а число молочных источников и создание многокомпонентных молочных продуктов с их длительными сроками хранения, резко возросла. При этом известны случаи ухудшения показателей качества в поздние сроки годности молочной продукции и даже ее «выбраковки».

Антибиотическая функция меланинов в настоящее время исследователями уже почти не оспаривается. Антимикробными агентами показали себя бурые пигменты многих бактерий, актиномицетов, микобактерий и т.д. В связи с вышесказанным, **цель** нашей работы предусматривала поиск пигментообразующих лактобактерий.

Материалы и методы. Работа выполнялась на кафедре Технологии хранения и

переработки продуктов животноводства и кафедре микробиологии и иммунологии. Использовались общепринятые методы микробиологии, образцы для эксперимента предоставляли различные организаторы и частные лица, за что большая им благодарность.

Результаты и их обсуждение. При выделении чистых культур лактобактерий, способных продуцировать пигменты, было обнаружено, что на поверхности кисломолочного продукта образуется «пленка» кремового цвета. При микроскопировании поверхности продукта, обнаружены клетки кокковидной формы. Одновременно, были выделены дрожжи черной окраски. При исследовании резистентности выделенных штаммов к некоторым антибиотикам, установлено, что ингибирующие синтез белка и синтез клеточной системы антибиотика подавляют развитие стрептококков и дрожжей. Известно, что пигменты обладают антиоксидантными, радиопротекторными свойствами и подавляют развитие разнообразных микроорганизмов. Локализованы они в дискретных бляшках в цитоплазматической мембране и легко экстрагируются органическими растворителями (водой, спиртом, эфиром и т.д.). Некоторые пигменты выделяются в окружающую среду, они тесно связаны со структурой клетки. Биологическое значение определенных пигментов еще точно не установлено.

Накопление бурого внеклеточного вещества на любой синтетической среде замечено давно. Пигментогенная активность была показана в щелочном растворе в присутствии воздуха, когда выделенные микроорганизмом (актиномицетом) бесцветные вещества окрашивались в темно коричневый или даже в настоящий черный цвет (в присутствии тирозина). Именно эти физиологические особенности бактерий привлекают внимание технологов при создании лечебно-профилактических продуктов и нормализации микрофлоры организма. Следует признать, что о функциях пигментов и их синтезе пока известно очень мало. Ученые соглашаются, что эти соединения несут важные жизненные функции и потому называются «пигментами жизни» (по выражению профессора Л.И. Воробьевой, 1996).

Заключение. Однако, выделенные штаммы - не диагностированы. Антимикробными агентами показали себя бурые пигменты *Str. lactis*, а физиологические особенности микроорганизмов, позволяют предположить их возможное использование в медицине и молочной промышленности. Возможно применение их экзометаболитов в качестве метабиотиков для быстрого восстановления микробиоты кишечника и снижение антигенной и аллергизирующей нагрузки на организм человека.

При заболеваниях ЖКТ, использование метабиотиков, позволяет оценить микрoэкологическую устойчивость бактериальных сообществ кишечника и определить тактику коррекции нарушений при дисбактериозах.

Библиографический список

1. Козье молоко – ценное сырье для производства детских молочных продуктов / С.В. Симоненко [и др.] // Овцы, козы, шерстяное дело. 2017. № 4. С. 35-36.
2. Мирзаева К.М. и др. Протекторные свойства растительных меланинов (Мелавит) // Биотехнология: состояние и перспективы развития: мат. VIII Московского Международного Конгресса, Москва, 17–20 марта 2015 года М., 2015. С. 151-152.
3. Погорельский И.П. и др. Сравнительная оценка выживаемости микроорганизмов пробиотиков в составе коммерческих препаратов в условиях *in vitro* // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011. №9. С. 96-101.
4. Сидоренко О.Д. и др. Особенности взаимодействия микроорганизмов в ферментированном молоке // Все о мясе. 2020. № 5S. С. 329-332. DOI 10.21323/2071-2499-2020-5S-329-332.
5. Сидоренко О.Д. и др. Использование некоторых признаков природных штаммов лактобактерий для заквасок // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30. № 8. С. 94-98.
6. Шуварилов А.С. и др. Физико-химические показатели козьего, овечьего и коровьего молока // Овцы, козы, шерстяное дело. 2017. № 1. С. 38-40.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ НА ФОНЕ НАРУШЕНИЯ ЗВЕНЬЕВ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Шавази Р.Н.

Научный руководитель: доцент, доктор биологических наук, Вахидова А.М.
Самаркандский государственный медицинский университет,
г. Самарканд, Республика Узбекистан

Введение. Развитие осложнений по патогенезу и другим особенностям сравнительно отличаются от обычных этиологических факторов, в частности это касается термической травмы.

Метаболические процессы, протекающие в легких, обеспечивают высокоорганизованную кооперацию гуморальных и клеточных факторов защиты бронхиального дерева (биохимический состав секретируемой слизи, состояние системы протеолиз-ингибция, регуляция процессов коагуляции и фибринолиза как в норме, так и при острых пневмониях). Нарушение отдельных звеньев в этой сложной взаимосвязи процессов становится своеобразным «фактором риска» утяжеления легочной патологии.

Цель работы. Изучить степень нарушения метаболических процессов при внутрибольничной пневмонии у детей.

Методы исследования. Нами проведен анализ архивных данных, нарушения этой взаимосвязи метаболических процессов на примере клинико-лабораторных особенностей внутрибольничной пневмонии у детей при ожоговой болезни.

Результаты. По результатам архивных данных отобрано 26 больных детей с ожоговой болезнью в возрасте от 7 мес. до 15 лет из них: девочек – 7, мальчиков – 19, возраст до 1 года – 3, от года до 3 лет – 11, от 3 до 7 лет – 6, от 7 до 14 лет – 6 больных. Общая площадь поражения от 9% до 65% поверхности тела. Пневмония диагностирована у 19 (72%) детей с ожогами. Из них у 22 (90%) детей с отягощенным преморбидным фоном. У 24 (93%) больных наблюдалась полиорганная недостаточность.

Все дети разделены по возрасту на 4 группы: I группа – грудной возраст, II группа – ранний детский возраст, III группа – дошкольный возраст, IV группа – школьный возраст.

Почти половину больных составили дети до 3-х лет, этот возраст отличается вертикализацией, нарастанием интереса к окружающей среде и любознательностью. В I группе пневмонии развивались у 20% детей с поверхностными ожогами до 10% поверхности тела, причем преобладала 2-3-4 степени ожога, у 15% с ожогами от 10% до 20% поверхности тела, у 30% с ожогами более 20% поверхности тела.

Во II, III, IV группах пневмония развивалась у пострадавших детей с более глубокими ожогами от 3% и более поверхности тела.

При изучении частоты пневмонии в зависимости от локализации поражения выявлено преобладание при поражении верхних участков туловища, грудной клетки и выше.

Вторичные пневмонии чаще наблюдались в стадии токсемии (у 73%), реже в стадии септикотоксемии (27%). Начало пневмонии уловить трудно, так как она развивается на общей тяжелой фоновой, обусловленной интоксикацией.

Поскольку в момент термического воздействия на кожу происходит разрушение огромного количества клеток, этот процесс сопровождается освобождением и ферментативным образованием массы различных биологически активных веществ, медиаторов воспаления, в частности, кинины, острофазовые белки, комплементарные факторы. Все они обладают вазоактивным действием, увеличивают проницаемость сосудистой стенки.

В происхождении ранней ожоговой токсемии ведущую роль играют гистиогенные токсины – продукты распада денатурированных белков. В свою очередь гистиогенные токсины имеют общность химической структуры с протеолитическими ферментами.

У обследованных нами больных определены показатели БАЭЭ – протеолитической активности, α_1 – антитрипсин, как ингибитор протеолиза и показатель ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы.

У всех больных отмечалось снижение α_1 – АТ в первые дни госпитализации от 1,25 мЕ/мл до 2,0 мЕ/мл при показателях у здоровых детей до 3,73 мЕ/мл, на этом фоне БАЭЭ увеличен до 378 мЕ/мл по сравнению со здоровыми детьми – $278,14 \pm 2,2$ мЕ/мл. если учесть, что первичная пневмония развивается в ранние периоды ожоговой болезни, первые 2 недели после травмы, изучаемые тесты становятся лабораторными предвестниками развития дыхательного компонента ожогового шока и пневмонии.

Ведь такие механизмы, как: застой крови в малом круге кровообращения, нарушение проницаемости сосудов легких, транссудация жидкости, отек легочной ткани, расстройства микроциркуляции, ограничение дыхательных экскурсий грудной клетки, эмболия легочный артерий и капилляров являются этапами в развитии последующих осложнений.

У 12 больных при поступлении, в комплексном лечении ожоговой болезни назначен контрикал из расчета 1 тыс. АТЧЕ/кг массы, как ингибитора протеолиза, способствует уменьшению проницаемости сосудистых мембран, предотвращения патологического перемещения жидкости и снижения катаболизма белка. Длительность в/в вливаний от 5 до 10 дней. В динамике из 12 больных у 7 отмечалось повышение α_1 – АТ до 2,75 мЕ/мл, БАЭЭ снизилось до 315 мЕ/мл, течение пневмонии было сравнительно ближе к средней тяжести и исход благоприятный. У остальных детей желаемый эффект не достигнут, не последнюю роль играла глубина поражения и преморбидный фон.

Показатель ЦИК из 26 обследованных не выявлен у 8 больных, причем у других колебания ЦИК от 4 до 40 усл.ед. при этом только у восьми больных в наших наблюдениях показатели выше, чем у здоровых ($24,12 \pm 0,14$ усл.ед.), что не дает основания говорить о ведущем значении циркулирующих иммунных комплексов в динамике ожоговой болезни.

Заключение. У детей при ожоговой болезни высокий риск развития пневмонии в определенной степени взаимосвязан с патологической активацией протеолитических систем, что является показанием назначения ингибиторов протеолиза с момента поступления на стационарное лечение. Циркулирующие иммунные комплексы не имеют ведущей роли в развитии пневмонии при ожоговой болезни у детей.

Библиографический список

1. Козлова М.Н., Земсков В.М., Шишкина Н.С., Барсуков А.А., Демидова В.С., Алексеев А.А. Персонафицированный алгоритм иммунокоррекции внутривенными иммуноглобулинами для профилактики и лечения осложнений ожоговой болезни на основе комплексного анализа иммунного статуса// Российский иммунологический журнал. 2020. Т. 23. № 4. С. 523-528.
2. Мухитдинова Х.Н. Влияние интенсивной терапии на гемодинамику больных в период ожоговой токсемии у детей старше семи лет // Сборник: Наука и инновации - современные концепции. Сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума. Отв. редактор Д.Р. Хисматуллин. Москва, 2022. С. 85-94.
3. Преснякова М.В. Роль нарушений системы гемостаза при развитии пневмонии в острый период ожоговой болезни // Экология человека. 2012. № 5. С. 41-50.
4. Салимова А.С., Тонкачева А.А., Идрисова Х.У., Усанкина А.А. Недостаточность антиоксидантной системы крови – ведущий патогенетический фактор системной дестабилизации биомембран при воспалении// Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2018. Т. 8. № 9. С. 424.
5. Шавази Н.М., Лим М.В., Каримова Г.М. Состояние сердечной гемодинамики по данным эхокардиографического исследования у детей раннего возраста с пневмонией, осложненной инфекционно-токсическим шоком // Вестник экстренной медицины. № 3, 2013. С. 289-290.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ В ТЕХНОЛОГИИ ФЕРМЕНТИРОВАННОГО НАПИТКА

Шувариков А.С., профессор, доктор сельскохозяйственных наук; Пастух О.Н., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук; Жукова Е.В., доцент, кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», г. Москва, Россия

Введение. Проблема дефицита сырья в молочной промышленности может быть решена за счет использования молочной сыворотки, ресурсы которой в России составляют более 2,5 млн. т [2, 5, 6]. Молочная сыворотка может создавать экологическую проблему для окружающей среды, поскольку ее загрязняющая способность в 500 раз выше по сравнению с бытовыми сточными водами. Исходя из этих факторов, необходим специальный подход к организации рациональной промышленной переработки молочной сыворотки.

Внедрение в молочную отрасль инновационных технологий с применением молочной сыворотки с целью создания продуктов функционального назначения является актуальным [3, 4]. Ресурсосберегающие технологии позволяют решить для России одну из актуальнейших экологических проблем, обеспечить продовольственную безопасность, снизить себестоимость продукции и создать отечественное поколение продуктов функционального назначения [4]. Поэтому **целью** данной работы являлась разработка ресурсосберегающей технологии кумысного напитка функционального назначения на основе молочной сыворотки.

Материалы и методы. Исследование проводилось на кафедре Технологии хранения и переработки продуктов животноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева и во Всероссийском научно-исследовательском институте молочной промышленности (ВНИМИ) в лабораториях теххимического контроля.

Результаты и их обсуждение. Для производства кисломолочного напитка использовалось молоко коров черно-пестрой породы. При анализе качества молочной сыворотки можно отметить, что основным компонентом во всех образцах сыворотки является молочный сахар, на долю которого приходится около 70 % общего сухого вещества сыворотки, а на долю остальных компонентов – 30 % (табл. 1).

Таблица 1 – Физико-химические показатели молочного сырья

Показатель	Молоко цельное	Молочная сыворотка
Массовая доля, %: - сухое в - во	11,67±0,43	7,21±0,32
- жир	3,33±0,25	0,33±0,07
- белок	2,93±0,11	1,55±0,41
- казеин	2,27±0,11	1,21±0,32
- альбумин и глобулин	0,67±0,04	0,34±0,09
- лактоза	4,40±0,14	4,75±0,15
- минеральные в-ва	0,77±0,08	0,57±0,01
Плотность, г/см ³	1,0282	1,0264
Кислотность, °Т	17,1±0,71	13,3±0,41

При выработке продукта был проведен микробиологический анализ используемых бактериальных заквасок. Для определения чистоты культур проводилось приготовление фиксированных окрашенных метиленовой синью.

Была произведена трехкратная выработка кумысного напитка по двум образцам рецептур. В ходе исследования была разработана рецептура и проведена выработка кумысного напитка (табл. 2). В первом образце молочного напитка соотношение сыворотки к коровьему молоку составляло 2,5:1, во втором образце – 1,5:2.

Затем были проведены физико-химические исследования кумысного напитка с целью выявления образца с наилучшими показателями качества (табл. 3).

Таблица 2 – Рецепттура кумысного напитка

Компонент, г	Кумысный напиток	
	образец 1 (2,5:1)	образец 2 (1,5:2)
Молоко	259,0	518,0
Молочная сыворотка	647,4	388,5
Сахар	72,1	72,1
Закваска	46,35	46,35
Дрожжи молочные	5,15	5,15

Таблица 3 – Оценка качества кумысного напитка

Показатель	Кумысный напиток		Кумыс
	образец 1 (2,5:1)	образец 2 (1,5:2)	
Массовая доля, %: - жир	2,0	2,5	1,5
- белок	2,8	2,4	2,0
- лактоза	2,8	3,2	2,5
- спирт	2,1	1,4	2,5
Содержание витамина С, мг/кг	19,2	18,0	24,6
Кислотность, °Т	95	86	110

При сравнении опытных образцов кумысных напитков, выработанных по двум рецептурам, показатели их качества различаются достоверно. Лучшим является молочный напиток образец 1, в котором с соотношением сыворотки к молоку 2,5:1. Он отличается высоким содержанием белка и меньшим содержанием жира, что говорит о его диетических свойствах. Содержание лактозы в первом образце ниже, что объясняется более интенсивным ее расщеплением под действием микроорганизмов, а, следовательно, наблюдается нарастание кислотности и увеличения массовой доли спирта.

В качестве третьего образца использовали традиционный кумыс на основе кобыльего молока. По сравнению с первым и вторым образцами, кумыс из кобыльего молока отличается более высоким содержанием спирта, количество аскорбиновой кислоты в нем почти в 1,3 раза больше. Но в кумысе из кобыльего молока, как видно из полученных данных, массовая доля белка и жира была ниже. Первый образец по физико-химическим свойствам более приближен к кумысу из кобыльего молока. При выработке продукта в производственных условиях допускается добавление в его рецептуру раствора аскорбиновой кислоты с целью восполнения содержания витамина С.

Одной из основных целей при разработке рецептуры и технологии кумысного напитка являлось получение такого продукта, который по физико-химическим и микробиологическим показателям был бы максимально приближен к традиционному кумысу из кобыльего молока, но при этом по своим органолептическим показателям отвечал требованиям и желаниям потребителей. Традиционный кумыс обладает резким специфическим вкусом и входит в категорию напитков «на любителя». Однако, разработанный кумысный напиток на основе молочной сыворотки с добавлением коровьего молока по своим вкусовым качествам приемлем для всех потребителей.

Содержание молочнокислых микроорганизмов в образцах 1 и 3 одинаково, а количество дрожжей выше в традиционном кумысе. Напиток под номером 1 имеет более мягкий вкус, однако оба продукта отвечают требованиям безопасности. Патогенных микроорганизмов не обнаружено.

После выработки напитка была проведена дегустация двух опытных образцов. Значительная часть опрошенных отдала свое предпочтение образцу 1 - 82,5%, и 17,5% - образцу 2. В качестве третьего образца на дегустации был представлен традиционный кумыс из кобыльего молока. Из всех дегустаторов 67% выбрали кумысный напиток, 33% предпочли традиционный кумыс. По органолептическим показателям респонденты признали лучшим

первый образец продукта – с большим содержанием сыворотки. Второй образец напитка превосходит по цвету третий, но уступал ему по вкусу.

Заключение. По основным физико-химическим показателям (жир, белок, лактоза, этиловый спирт) кумысный напиток с соотношением сыворотки к молоку 2,5:1 в большей степени, по сравнению с другим образцом напитка (соотношение сыворотки к молоку 1,5:2), соответствовал кумысу из кобыльего молока. При сравнительной оценке микробиологических показателей напитков было установлено, что содержание молочнокислых микроорганизмов в кумысном напитке с соотношением сыворотки к молоку 2,5:1 такое же как в кумысе из кобыльего молока - $1 \cdot 10^9$ КОЕ/г, тогда как в кумысный напиток с соотношением сыворотки к молоку 1,5:2 оно составило $1 \cdot 10^7$ КОЕ/г. Количество дрожжевых клеток было больше в первом образце напитка (соотношение сыворотки к молоку 2,5:1), по сравнению со вторым образцом напитка (соотношение сыворотки к молоку 1,5:2): $1 \cdot 10^7$ против $1 \cdot 10^5$ КОЕ/г, но несколько меньше, чем в кумысе из кобыльего молока ($1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г).

При сравнении двух образцов кумысного напитка и кумыса из кобыльего молока по органолептическим показателям лучшим признан кумысный напиток. Традиционный кумыс из кобыльего молока имеет специфический вкус и входит в категорию продуктов «на любителя». Разработанный напиток по своим вкусовым качествам приемлем для широкого круга потребителей. Из всех сравниваемых напитков наибольшее предпочтение отдано кумысному напитку с соотношением сыворотки к молоку 2,5:1.

Перерабатывающим предприятиям, получающим в качестве вторичного молочного сырья сыворотку, целесообразно создавать линии по ее переработке, в частности для производства кисломолочных напитков, что обеспечит применение ресурсосберегающих технологий, расширит ассортимент выпускаемой продукции, повысит рентабельность производства, и в целом снизит затраты на охрану окружающей среды.

Библиографический список

1. Волкова Т.А. Вклад ВНИИМС в разработку наиболее доступных технических решений в области эффективной переработки молочной сыворотки // Материалы VII Международной научно-практической конференции, Ставрополь-Пятигорск, 20–24 октября 2020 года / Под редакцией И.А. Евдокимова, А.Д. Лодыгина, А.А. Вартумяна. Ставрополь-Пятигорск: Северо-Кавказский федеральный университет, 2020. С. 86-89.
2. Шестакова Т.А. и др. Мембранные методы в технологии напитка на основе концентрата молочной сыворотки // Инновации в индустрии питания и сервисе: электронный сборник материалов IV Международной научно-практической конференции, Краснодар, 27 ноября 2020 года. Краснодар: КубГТУ, 2020. С. 252-255.
3. Шуварики А.С. и др. Использование ресурсосберегающих технологий при переработке молока // Ресурсосберегающие технологии при хранении и переработке сельскохозяйственной продукции: Материалы XV Всероссийского (с международным участием) научно-практического семинара, Орёл, 17 июня 2021 года. Орёл: Издательство «Картуш», 2021. С. 163-168.
4. Хомякова А.М. и др. Моделирование рецептурного состава ферментированных напитков на основе белково-углеводного молочного сырья // Все о мясе. 2020. № 5S. С. 386-389. DOI 10.21323/2071-2499-2020-5S-386-389.
5. Pastukh O.N. To the issue of using secondary dairy raw materials // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science : International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials, Voronezh, 26–29 февраля 2020 года. Voronezh: IOP Publishing, 2021. P. 032022. DOI 10.1088/1755-1315/640/3/032022.
6. Sidorenko O.D. Recycling of animal waste // Process Management and Scientific Developments: Materials of the International Conference, Birmingham, 31 марта 2020 года. Birmingham: Scientific publishing house Infinity, 2020. P. 140-147. DOI 10.34660/INF.2020.7.58920.

Научное издание

МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ
МИКРОБИОЛОГИИ В НАУКЕ И ОБРАЗОВАНИИ»

Рязань, 25-26 мая 2022 г.

Подписано в печать 15.07.2022. Дата выхода в свет 30.07.2022.

Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 11,86. Уч.-изд. л. 14,80.

Бумага ксероксная. Печать ризографическая. Тираж 100 экз.

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Отпечатано в типографии Book Jet
390005, г. Рязань, ул. Пушкина, д. 18
Сайт: <http://bookjet.ru> e-mail: info@bookjet.ru
Тел.: +7(4912) 466-151