

МИКРОФЛОРА ЯЗВЕННЫХ ДЕФЕКТОВ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Н.А. Мациевский¹, Н.С. Козлова¹, Б.И. Делиев¹,
Е.П. Баранцевич²

¹ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург;

²ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Росздрава», Санкт-Петербург

Синдром диабетической стопы остается наиболее тяжелым хроническим осложнением сахарного диабета, и изучение микрофлоры язвенных дефектов стопы у таких больных является крайне актуальным. За период с 2009 по 2010 гг. из язвенных дефектов 42 госпитализированных больных было выделено 98 штаммов микроорганизмов, при этом у подавляющего большинства пациентов микробы выявлялись в ассоциациях (81,0%), чаще представленных двумя видами (40,5% пациентов), реже выявлялись ассоциации трех (28,6%) и четырех видов (11,9%). В микробном пейзаже язвенных дефектов стопы безусловно преобладали грамположительные микроорганизмы (63,3%), грамотрицательные микроорганизмы составили чуть более трети выделенных культур (36,7%).

В целом в структуре выделенных микроорганизмов преобладали штаммы *Staphylococcus aureus* (31,6%). В два раза реже выявлялись *Staphylococcus epidermidis* (16,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (15,3%) и энтерококки (14,3%), еще реже — *Escherichia coli* (9,2%) и *Proteus mirabilis* (6,1%). *Acinetobacter* и *Enterobacter* были представлены единичными штаммами (по 3,1% соответственно), была выявлена только одна культура *Corinebacteriae* (1%). Таким образом, ведущим грамположительным микроорганизмом оказался *Staphylococcus aureus*, грамотрицательным — *Pseudomonas aeruginosa*, при этом только они выделялись у больных в монокультуре. Одним из этих возбудителей были инфицированы язвенные дефекты всех пациентов (100%). Хотя *S. aureus* был выделен более чем от двух третей больных (73,8%), в монокультуре он выявлялся только у 2 пациентов (4,8%), в то время как *P. aeruginosa* встречалась в два раза реже (35,7%), но почти в половине случаев — в монокультуре (14,3%). Интересно отметить, что только от 4 пациентов (9,5%) была выделена ассоциация этих двух возбудителей, в том числе у одного больного (2,3%) дополнительно с энтерококком.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что основными возбудителями инфекционного процесса у пациентов с синдромом диабетической стопы в данном стационаре являются *S. aureus*, *P. aeruginosa* и представители семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *P. mirabilis*), при этом язвенные дефекты всех пациентов (100%) были инфицированы первыми двумя микроорганизмами.

ВЫЯВЛЕНИЕ ХРОСОМНЫХ ЛОКУСОВ, ПОЗВОЛЯЮЩИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАТЬ ШТАММЫ *VACILLUS ANTHRACIS* ОТ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВИДОВ

Н.И. Микшис, Ю.Н. Живова, Л.В. Новикова,
Т.Н. Каштанова, Ю.А. Попов

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов

Основные отличия сибиреязвенного микроба от других представителей рода *Vacillus* обеспечивают плазмидные репликоны рХО1 и рХО2. Однако име-

ются сообщения об обнаружении схожих или идентичных плазмид у отдельных штаммов филогенетически родственных видов. В этой связи встает вопрос о поиске хромосомных локусов, позволяющих надежно дифференцировать штаммы *V. anthracis*.

В процессе проведенного нами исследования по сравнительному анализу нуклеотидных последовательностей некоторых генов жизнеобеспечения у штаммов *V. anthracis* и близкородственных бактериальных видов удалось выявить хромосомные мутации, специфичные для возбудителя сибирской язвы. Штаммы сибиреязвенного микроба отличаются делеция 42 нуклеотидов в гене *hom2*, в позициях с 1042 п.н. по 1083 п.н. от начала гена. Ген *hom2* детерминирует фермент гомосериндегидрогиназу. Протяженная делеция в этом гене блокирует синтез L-гомосерина, из которого в результате ряда последовательных реакций образуются метионин, треонин и цистеин. Кроме того, все тестированные штаммы *V. anthracis* в гене *fliC* содержат вставку 231 нуклеотида (в позиции 383 п.н. от его начала). Ген *fliC* кодирует синтез бактериального флагаеллина. Функции структурного белка нити жгутика у бациллярных видов мало изучены. По-видимому, мутации в генах жизнеобеспечения *hom2* и *fliC* возникли на начальном этапе отщепления от общего предшественника и формирования *V. anthracis* в качестве самостоятельного вида.

Найдены также 4 единичные нуклеотидные замены, позволяющие идентифицировать возбудителя сибирской язвы. Установлено, что все тестированные штаммы *V. anthracis* в позиции 712–714 гена *metX* содержат триплет TAC, а в позиции 492–494 гена *metH* — CAT. У близкородственных видов замена А на Т (для *metX*) или на G (для *metH*) приводит к изменению в аминокислотных последовательностях кодируемых белков. Замена Т на G в позиции 25 от начала гена *asd1* приводит к смене типичного для всех штаммов *V. anthracis* кодона TTT. Единичная нуклеотидная замена А на G в позиции 208 того же гена изменяет кодон GAT, характерный для сибиреязвенного микроба, на один из триплетов — GGT, TGT, AGT или CGT, встречающийся у представителей других бациллярных видов.

С использованием хромосомных мишеней разрабатываются мультилокусные ПЦР.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРОТИПОВ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* В ОБРАЗЦАХ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ МЕТОДОМ ПЦР

К.О. Миронов, В.И. Кусева, М.Л. Яковенко,
А.Е. Платонов

ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора,
Москва

Бактерии вида *Streptococcus pneumoniae* относятся к частым возбудителям гнойного бактериального менингита. Известно около 90 серотипов *S. pneumoniae*. Информация о распределении серотипов у штаммов, циркулирующих на наблюдаемой территории, необходима для планирования иммунопрофилактических мероприятий. Для определения серотипов *S. pneumoniae* может быть использован метод ПЦР.

Было исследовано 62 образца спинномозговой жидкости, забранных в 2007–2010 гг. от больных с диагнозом «пневмококковый менингит», лечив-

шихся во 2-й ИКБ г. Москвы. Для проведения серотипирования использованы праймеры, опубликованные на сайте <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/pcr.htm>. ПЦР проводилась по программе: 95° — 5 мин.; 40 циклов 95° — 10 с, 60° — 20 с, 72° — 20 с; 72° — 2 мин. Праймеры были распределены по ПЦР-смесям следующим образом: смесь № 1 содержала праймеры для серотипов 14, 6ВА, 19F, 18, 23А; смесь № 2 — 23В, 1, 23F, 11AD, 7FA, 9VA; смесь № 3 — 8, 2, 3, 4, 9NL, 22FA, все смеси содержали праймеры для фрагмента *crpA*, специфичного для капсульных штаммов. Все образцы были проставлены последовательно со смесями № 1–3: положительные или *crpA*-отрицательные образцы, проставленные с смесью № 1, со смесью № 2 не ставились; со смесью № 3 ставились образцы, серотип которых не удалось определить со смесью № 2.

Удалось определить серотип у 33 образцов, 4 образца были *crpA*-отрицательные; у 22 (35%) *crpA*-положительных образцов серотип определить не удалось. С смесью № 1 был определен серотип у 10 образцов, смесью № 2 — у 12 и смесью № 3 — у 11. Распределение серотипов было следующим: серотип 3 был выявлен в 8 образцах, серотип 23F — в 7 образцах, серотип 18 — в 4 образцах, серотипы 6ВА и 11AD — по 3 образца, серотипы 9NL и 19F — по 2 образца, серотипы 4 и 14 были обнаружены однократно.

Определение серотипов с помощью ПЦР является удобным методом при отсутствии культуры возбудителя, вызванном чаще всего назначением антибиотиков до посева пробы ликвора. ПЦР-методика, включающая 18 серотипов, позволяет определить серотип *S. pneumoniae* в большинстве случаев. При оценке предполагаемой эффективности пневмококковых вакцин, следует учитывать распределение серотипов: согласно представленным данным наиболее часто пневмококковый менингит в Москве вызывается серотипом 3. Серотип 3 включен только в 13-валентную конъюгированную вакцину, серотипы 11AD и 9NL (8% исследованных образцов) в конъюгированные вакцины не входят.

ВЛИЯНИЕ ТЕТРАУМЕНА PYRIFORMIS НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ПАТОГЕННЫХ ВИДОВ BURKHOLDERIA

Е.В. Молчанова, Е.В. Король, Е.В. Шубникова, А.С. Антюфеева, Л.К. Меринова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград

Burkholderia pseudomallei и *Burkholderia mallei* — возбудители особо опасных инфекционных заболеваний мелиоидоза и сапа, характеризующиеся высокой природной резистентностью к антибактериальным препаратам. Оба вида являются внутриклеточными патогенами, способными проникать и персистировать в макрофагах, что создает им определенную защиту от химиотерапии. Различия в условиях существования микроорганизмов *in vivo* и *in vitro* оказывают влияние на корректность результатов определения чувствительности к антибиотикам и, в конечном итоге, на адекватность выбора препарата для лечения (Илюхин В.И., 2009). Поэтому методы оценки модифицируют, используя культуры клеток или простейших в качестве аналогов макрофагов (Inglis T.J.J., 2004).

Нами была исследована чувствительность к 11 антибактериальным препаратам 10 штаммов *B. pseudomallei* и *B. mallei* с помощью метода серийных разведений в жидкой питательной среде в присутствии инфузорий. В качестве модели простейших была взята аксеническая культура *T. pyriformis*, полученная из Института Цитологии РАМН (г. Санкт-Петербург). Для манипуляций с простейшими использовали методические приемы, описанные Inglis T.J.J. (Inglis T.J.J., 2000). Культуры простейших и микроорганизмов соединяли в количественном соотношении 1:100 и инкубировали при температуре 32° в течение 1–48 ч. Предварительно были получены антибиотикограммы штаммов *B. pseudomallei* и *B. mallei*, а также изучена чувствительность к антибиотикам клеток тетрахимен.

Все штаммы отличались высокой резистентностью к большинству изученных антибактериальных препаратов. Устойчивость микроорганизмов в среде, содержащей простейшие, повышалась к спарфлоксацину, цефтазидиму, доксициклину, амоксицилину и ко-тримоксазолу (антибиотикам, используемым в лечении больных сапом и мелиоидозом) в 1,5–2 раза.

Таким образом, тетрахимены могут создавать естественную защитную среду для включенных бактерий и ограничивать подавляющее действие на них ингибиторов. Патогенные буркхольдерии (*B. pseudomallei*, *B. mallei*) в присутствии *T. pyriformis* демонстрируют повышенную в той или иной степени резистентность к антибиотикам различных классов в сравнении с исходной чувствительностью, характерной для каждого вида микроорганизмов.

ПАТОГЕННЫЕ ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Т.И. Москвина, Н.П. Иванова, О.А. Павлова, Н.В. Терентьева, Л.В. Перевалова, Л.А. Федотов
ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», г. Челябинск

С каждым годом увеличивается онкологическая заболеваемость населения. Одной из причин рака является иммунодефицит, вызываемый микроорганизмами-паразитами, обитающими в человеческом организме. Диагностика методом вегетативно-резонансного тестирования указывает на ведущую роль в возникновении опухолей патогенных грибов, которые разными путями проникают в организм, в том числе и с пищевыми продуктами.

Количество исследуемой продукции загрязненной плесневыми грибами увеличивается постоянно: в 2008 г. — 1,39%, в 2009 г. — 1,41%, в 2010 г. — 2,27%, в 2011 г. — 4,83%.

Всего в 2008–2011 гг. лабораторией исследовано 11 832 проб пищевых продуктов.

Наиболее контаминированными плесневыми грибами оказались:

- кондитерские изделия, в том числе изделия с кремом — 26,95%;
- пиво — 17,57%;
- сухие пищевые концентраты и готовые завтраки — 14,29%;
- рыбные пресервы и рыба вяленая — 6,22%;
- биологически активные добавки — 5,43%;
- готовые кулинарные изделия (в том числе салаты) — 4,53%;