

3
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

On-line версия журнала на сайте

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Lysaena thersamon (Esper, 1784)
Червонец блестящий
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ

ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 613.636

Т.М. Мругова¹, В.А. Гриценко², В.А. Агеевец³, И.В. Лазарева³, Л.О.Иноземцева⁴

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА

¹ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

² Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

³ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Цель. Изучить факторы патогенности и генетические характеристики у грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов в многопрофильном хирургическом стационаре.

Материалы и методы. Объекты исследования – 64 клинических штамма грамотрицательных бактерий видов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, изолированных от пациентов с послеоперационными инфекционно-воспалительными осложнениями. Выделение и идентификация бактерий и изучение у них факторов патогенности, антибиотикочувствительности и генетических характеристик проведены общепринятыми соответствующими методами.

Результаты. Охарактеризован комплекс факторов патогенности (гемолитическая активность, антилизоцимная активность, серорезистентность, биопленкообразование) у клинических штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli*, а также генетические детерминанты резистентности к карбапенемам у клебсиелл и колистину у эшерихий.

Заключение. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых подходов к проведению микробиологического мониторинга нозокомиальных инфекций и оптимизации антибактериальной терапии пациентов с указанной патологией в многопрофильном хирургическом стационаре.

Ключевые слова: нозокомиальные инфекции, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, патогенные свойства, гемолитическая активность, антилизоцимная активность, серорезистентность, антибиотикорезистентность, генетические маркеры.

Т.М. Mrugova¹, V.A. Gritsenko², V.A. Ageevets³, I.V. Lazareva³, L.O. Inozemtseva⁴

BIOLOGICAL PROPERTIES AND GENETIC CHARACTERISTICS GRAM-NEGATIVE BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS IN A MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

¹ Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

² Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, UB RAS), Orenburg, Russia

³ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia

⁴ First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov (Sechenov University), Moscow, Russia

Objective. To study pathogenicity factors and genetic characteristics in gram-negative bacteria isolated from patients in a multidisciplinary surgical hospital.

Materials and methods. Objects of research - 64 clinical strains of negative bacteria of the

species *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, isolated from patients with postoperative infectious and inflammatory complications. Isolation and identification of bacteria and their study of pathogenicity, antibiotic sensitivity and genetic characteristics were carried out by generally accepted appropriate methods.

Results. A complex of pathogenicity factors (hemolytic activity, antilysocyme activity, seroresistance, biofilm formation) was characterized in the clinical strains of *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *E. coli*, as well as the genetic determinants of resistance to carbapenems in *Klebsiella* and colistin *Escherichia*.

Conclusion.

The data obtained can be used to develop new approaches to conducting microbiological monitoring of nosocomial infections and optimizing the antibiotic therapy of patients with this pathology in a multidisciplinary surgical hospital.

Key words: nosocomial infections, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, pathogenic properties, hemolytic activity, antilysocyme activity, seroresistance, antibiotic resistance, genetic markers.

Введение

Нозокомиальные инфекционные осложнения в хирургических стационарах являются причиной высокой летальности, увеличивают длительность и стоимость лечения, затрудняют последующую реабилитацию больных [1]. Как в России, так и за рубежом значительная доля подобных осложнений развивается вследствие инфицирования пациентов грамотрицательными бактериями, обладающими множественной резистентностью к антибактериальным препаратам [2, 3]. При этом глобальную угрозу и особую опасность представляют штаммы грамотрицательных бактерий, продуцирующие карбапенемазы, а также клинические изоляты микроорганизмов, несущие гены *mcr* и проявляющие устойчивость к полимиксинам [4, 5].

С другой стороны, этиологическая значимость указанных микроорганизмов тесно связана с их патогенным/персистентным потенциалом, реализация которого обеспечивает выживание патогенов при контакте с гуморальными и клеточными эффекторами гостального иммунитета на всем протяжении инфекционно-воспалительного процесса и их агрессивность при развитии нозокомиальных инфекционных осложнений [6-9]. Важное патогенетическое значение факторов вирулентности и персистентных характеристик микроорганизмов в развитии инфекционных процессов подтверждается их высокой информативностью при диагностике этих состояний [10]. Показано, что антибиотикорезистентность, антилизотимная активность (АЛА) и способность к инаktivации бактерицидной активности сыворотки крови способ-

ствуют возникновению гнойно-септических осложнений и увеличению продолжительности течения хирургической инфекции [11]. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие о том, что 75% штаммов *Acinetobacter baumannii* от пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями обладают антилизоцимной активностью [12], а изоляты *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные от больных с нозокомиальной пневмонией, обладают более выраженной серорезистентностью по сравнению с культурами, колонизирующими дыхательные пути пациентов без инфекционных осложнений [13].

Поэтому выявление патогенного потенциала и антибиотикорезистентности у грамотрицательных микроорганизмов – наиболее значимых возбудителей нозокомиальных инфекционно-воспалительных осложнений может позволить разработать алгоритмы прогнозирования течения патологического процесса и своевременно корректировать тактику лечения больных с указанной патологией.

Цель работы – изучить факторы патогенности и генетические характеристики грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов в многопрофильном хирургическом стационаре.

Материалы и методы

Материалом послужили 64 клинических штамма грамотрицательных бактерий видов *Klebsiella pneumoniae* (n=22), *Pseudomonas aeruginosa* (n=13), *Acinetobacter baumannii* (n=27) и *Escherichia coli* (n=2), изолированных от пациентов с послеоперационными инфекционно-воспалительными осложнениями, проходивших стационарное лечение в хирургических отделениях общего и кардиологического профиля, отделениях реанимации и интенсивной терапии ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского». Выделение бактерий проводили в соответствии с общепринятыми методиками с использованием сред общего назначения и селективных питательных сред. Видовую идентификацию исследуемых микроорганизмов осуществляли на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomerieux, Франция) [14].

У исследуемых штаммов определяли гемолитическую активность (ГА) [15], антилизоцимную активность (АЛА) [16], серорезистентность [17] и способность к биопленкообразованию (БПО) [18, по протоколу 19, с небольшими модификациями 20]. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам производили на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact

(Biomerieux, Франция) с интерпретацией результатов в соответствии с критериями EUCAST [21].

Гены клинически значимых карбапенемаз и устойчивости к колистину выявляли методом реал-тайм ПЦР с помощью наборов AmplySens®. Генотипирование колистинрезистентных штаммов осуществляли методами секвенирования по Сэнгеру и полногеномного секвенирования NGS с использованием секвенатора MiSeq (Illumina, США) и набора Nextera XT library preparation kit.

Статистическую обработку данных осуществляли вариационными методами с использованием программ Microsoft Office Excel 2010 и «Система микробиологического мониторинга «Микроб-2» [22, 23].

Результаты и обсуждение

В ходе исследования изучены патогенные (вирулентные/персистентные) свойства у клинических изолятов грамотрицательных бактерий, в том числе 22 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, 27 штаммов *Acinetobacter baumannii* и 13 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, данные о которых представлены в таблице 1.

Таблица 1. Биологические свойства грамотрицательных бактерий

Свойство	Доля штаммов определенного вида бактерий, обладающих данным признаком (%)		
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>
	n=22	n=27	n=13
Гемолитическая активность (ГА)	4,5	3,7	н/о
Антилизосимная активность (АЛА)	86,4	81,5	н/о
Биоплёнко-образование (БПО)	81,8	96,3	100
Серорезистентность (СР)	100	100	100

Как видно из таблицы 1, гемолитически активные штаммы были редкостью в выборке изолятов *K. pneumoniae* (4,5%) и ещё реже встречались в группе культур *A. baumannii* (4,5%). У штаммов *P. aeruginosa* определить этот признак не представлялось возможным вследствие продукции бактериями широкого спектра цитолитических факторов – экзо- и эндотоксинов,

протеолитических ферментов и др.

При изучении антилизосимной активности (АЛА) у клинических штаммов было установлено, что этот «базовый» признак персистенции достаточно широко распространен в выборках изолятов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* (86,4 и 81,5% соответственно). На высокую частоту встречаемости данного свойства у грамотрицательных бактерий – возбудителей нозокомиальных осложнений обращали внимание и другие авторы. Так, АЛА обнаружена у 75% изолятов *A. baumannii*, выделенных от пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями [12], у 78% штаммов эшерихий и 95% культур клебсиелл, изолированных от пациентов с нозокомиальными инфекциями [24]. АЛА у штаммов синегнойной палочки не определялась по причине того, что штаммы *P. aeruginosa* проявляли антагонистическую активность в отношении тест-культуры микрококка, используемой в методике по выявлению данного свойства у микроорганизмов.

При этом уровень АЛА у штаммов *K. pneumoniae* варьировал в широком диапазоне (от 0,5 до 5,5 мкг/мл), составляя в среднем $2,6 \pm 0,4$ мкг/мл (табл. 2). В то же время изоляты *A. baumannii* характеризовались менее выраженной АЛА ($1,6 \pm 0,2$ мкг/мл), а ее значения колебались в пределах от 0,25 до 3,0 мкг/мл.

Таблица 2. Антилизосимная активность (АЛА) клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*

Вид бактерий	Число изученных штаммов	Число штаммов, обладающих АЛА	Диапазон значений АЛА (мкг/мл)	Средний уровень АЛА (мкг/мл)
<i>K. pneumoniae</i>	22	19	0,5 – 5,5	$2,6 \pm 0,4$
<i>A. baumannii</i>	27	23	0,25 – 3,0	$1,6 \pm 0,2$

Представленные данные корреспондируют с результатами исследований группы учёных из Кабардино-Балкарского государственного университета, которые свидетельствовали, что средний уровень АЛА у клебсиелл, выделенных из раневого отделяемого пациентов с гнойно-септическими заболеваниями, составлял 2,2 мкг/мл, а из крови – 4,8 мкг/мл [25].

Исследование способности к образованию биоплёнок позволило выявить, что среди изученных госпитальных изолятов грамотрицательных бактерий это свойство широко распространено. Наиболее часто оно встре-

чалось у *P. aeruginosa* – все штаммы были способны к биоплёнкообразованию *in vitro*. Среди штаммов клебсиелл и ацинетобактеров биоплёнкообразующими оказались 81,8 и 96,3% изолятов соответственно (табл. 1). При сравнении выраженности данного свойства нами у изученных бактерий было установлено, что наибольшей экспрессией характеризовались штаммы *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, среди которых средними и высокими значениями БПО обладали 73 и 67% изолятов соответственно, тогда как в выборке культур *A. baumannii* таких штаммов было несколько меньше – 56%.

Эти данные, в целом, согласуются с мнением, что способность бактерий формировать биопленки является одним из ключевых условий инициации ими нозокомиальных инфекционно-воспалительных заболеваний [26].

Анализ серорезистентности (СР) бактерий показал, что все изученные штаммы были в той или иной степени устойчивы к 50% сыворотке крови человека (табл. 1). Причем доля штаммов с СР более 90% нарастала в ряду: *K. pneumoniae* (72,7%) - *A. baumannii* (74,0%) - *P. aeruginosa* (84,2%) (рис.).

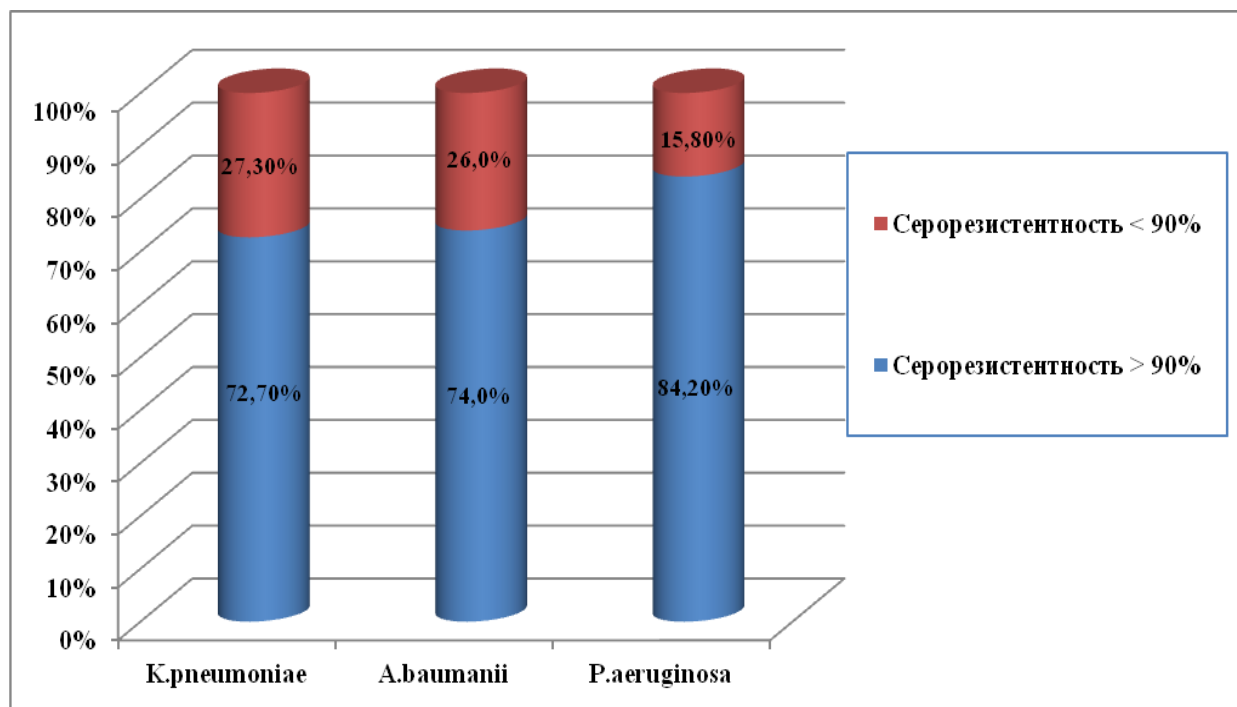


Рис. Доля высокосерорезистентных штаммов бактерий в выборках.

Аналогичный ряд выстраивался и при оценке у бактерий Индекса резистентности к бактерицидной активности сыворотки – ИР-БАС (усл. ед), который является отношением уровня СР (%) изученного штамма к уровню СР тест-штамма *E. coli* K12. Так, средние значения индекса Р-БАС, учитывая ви-

довую принадлежность исследуемых микроорганизмов, возрастали в ряду: *K. pneumoniae* - *A. baumannii* - *P. aeruginosa* ($5,2 \pm 0,5$ - $5,4 \pm 0,4$ - $7,3 \pm 0,6$).

Установленная нами высокая серорезистентность у клинических штаммов грамотрицательных бактерий вполне понятна, поскольку данное свойство обеспечивает микроорганизмам устойчивость и выживание при контакте с системой комплемента как одного из важнейших гуморальных эффекторов иммунитета макроорганизма [27], на что указывали и чешские авторы, выявившие СР у всех клинических изолятов *Acinetobacter* sp. и обнаружившие ее высокий уровень у 62% изученных штаммов [28].

Не менее важной в терапевтическом и эпидемиологическом плане характеристикой клинических изолятов грамотрицательных бактерий является их антибиотикорезистентность и ее генетическая детерминация.

В настоящее время карбапенемы составляют основу терапии инфекций (включая нозокомиальные инфекционно-воспалительные осложнения), вызванных грамотрицательными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью, в том числе *K. pneumoniae* и *A. baumannii*. Однако глобальное распространение среди указанных патогенов ферментов карбапенемаз ставит под угрозу эффективность антибиотиков этой группы. Известно, что основным продуцентом карбапенемаз среди грамотрицательных бактерий в России, как и в других регионах мира, является *K. pneumoniae*. Поэтому из 17 штаммов *K. pneumoniae* были отобраны 3 изолята, фенотипически проявлявших резистентность к карбапенемам, для обнаружения у них наиболее часто встречающихся у клебсиелл генов, кодирующих продукцию карбапенемаз, групп OXA, NDM, KPC.

Было установлено, что резистентность к карбапенемам обусловлена наличием у одного штамма гена OXA-48 и у двух штаммов гена KPC. Штаммы *K. pneumoniae*, обладавшие геном KPC, отличались перекрёстной и ассоциированной резистентностью ко всем изученным антибиотикам из разных групп, кроме колистина. Штамм *K. pneumoniae*, обладавший геном OXA-48, также отличался перекрёстной и ассоциированной резистентностью к антибиотикам разных групп, за исключением гентамицина и колистина.

Очевидно, что возможности этиотропной терапии инфекций, вызываемых такими штаммами клебсиелл – продуцентами карбапенемаз, ограничены. Реальные возможности лечения инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз, связаны с антибиотиками группы полимиксинов. При этом ни

один из изолятов клебсиелл не проявлял фенотипической устойчивости к колистину и не являлся носителем генов резистентности к этому антимикробному препарату.

В то же время среди клинических изолятов грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов с инфекционно-воспалительной патологией, нами были обнаружены 2 штамма *E. coli* (Есо-49 и Есо-84), демонстрирующих фенотипическую устойчивость к колистину, которые, кроме того, обладали множественной антибиотикорезистентностью. В результате проведенных молекулярно-генетических исследований было установлено, что устойчивость к колистину у обоих штаммов детерминировалась геном *mcr-1*, локализованным на идентичных конъюгативных плазмидах pMCR-1_Msc. Помимо этого один из штаммов содержал пять, второй – четыре иные плазмиды, несущие гены резистентности к другим антибактериальным препаратам, включая гены, кодирующие продукцию β -лактамаз расширенного спектра и устойчивость к аминогликозидам. Кроме того, указанные изоляты *E. coli* обладали индивидуальными наборами генов вирулентности, при этом общими для них были гены *ipfA* (адгезия) и *iroN* (фиксация железа), а также ген повышенной выживаемости в сыворотке *iss*.

Характеристика патогенных биопрофилей (комплекс фенотипических признаков патогенности) изученных колистин-резистентных штаммов *E. coli* отражена в таблице 3.

Таблица 3. Факторы патогенности колистин-резистентных штаммов *E. coli*

Штаммы	Гемолитическая активность (ГА)	Антилизотимная активность (АЛА)	Серорезистентность (СР, %)	Биоплёнкообразование (БПО)
<i>E. coli</i> Есо-49	Отсутствует	1,0	117,4	0,012
<i>E. coli</i> Есо-84	Отсутствует	0,5	93,2	0,235

Как видно из представленных в таблице 3 данных, оба штамма *E. coli* (Есо-49 и Есо-84) не обладали ГА, но проявляли АЛА (на низком уровне – 1,0 и 0,5 мкг/мл соответственно) и отличались выраженной СР (превышающей 90%). Кроме того, в отличие от штамма *E. coli* Есо-49, изолят *E. coli* Есо-84 был способен к формированию биоплёнок, но данное свойство у него слабо выражено.

Такие фенотипические особенности изученных колистин-резистент-

ных штаммов *E. coli* свидетельствуют, с одной стороны, о их способности противостоять таким гуморальным эффекторам иммунитета, как лизоцим и система комплемента (наличие АЛА и СР), с другой стороны, о их незначительной биоагрессивности (отсутствие ГА и склонности к БПО), что может указывать на опасность распространения подобных эшерихий у людей с компрометированным иммунобиологическим статусом, в частности пациентов с тяжелой хирургической патологией, вызывая у них нозокомиальных инфекционно-воспалительных осложнений.

Заключение

Приведенные в работе данные вызывают опасение не только в связи с множественной антибиотикорезистентностью клинически значимых штаммов грамотрицательных бактерий и низкой эффективностью терапии инфекционно-воспалительных процессов, инициированных вызванных такими возбудителями, но и с наличием у них выраженного патогенного потенциала. Появление подобных бактериальных изолятов в стационарах диктует необходимость разработки комплексного подхода, направленного на всестороннее изучение и сдерживание распространения таких микроорганизмов, а также на предотвращение появления высокорезистентных штаммов, в том числе в результате горизонтального переноса генов антибиотикорезистентности. Кроме того, эти данные могут быть использованы для оптимизации этиотропной терапии и профилактики нозокомиальных инфекций в хирургических стационарах.

(Работа выполнена по теме Плана НИР ОФИЦ УрО РАН (ИКВС УрО РАН) «Эндогенные бактериальные инфекции: возбудители, факторы риска, биомаркеры, разработка алгоритмов диагностики, лечения и профилактики» (№ гос. рег. 0420-2017-0002) и при поддержке Российского научного фонда, грант № 18-74-00098)

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и информационный материал по её положениям / Под ред. В.И. Покровский. М., 2012. 84 с.
2. Яковлев С.Я., Журавлева М.В., Проценко Д.Н. и др. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы. Consilium Medicum. 2017. 19 (7.1. Хирургия): 15-51.
3. Mehrad B. et al. Antimicrobial Resistance in Hospital-Acquired Gram-Negative Bacterial Infections Chest. 2015 May; 147(5): 1413–1421.
4. Лазарева И.В. и др. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации. Антибиотики и химиотерапия. 2016. 11-12: 28-38.

5. Elbediwi M. et al. Global Burden of Colistin-Resistant Bacteria: Mobilized Colistin Resistance Genes Study (1980-2018). *Microorganisms*. 2019. 7(10).
6. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. Москва: Медицина, 1999. 365 с.
7. Осипова Н.П. Биологические особенности микрофлоры при гнойных осложнениях острого панкреатита в условиях комбинированной химиотерапии. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2004. 124 с.
8. Хакешева Т.А., Хараева З.Ф., Емкужева З.К. Факторы персистенции *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* при различных нозологических формах. *Успехи современного естествознания*. 2008. № 5: 43.
9. Гриценко В. А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств микроорганизмов в патогенезе эндогенных инфекций. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2009. 4: 66-71.
10. Гриценко В.А., Аминин Д.Л. Эндогенные бактериальные инфекции как фундаментальная проблема медицины и оптимизация подходов к их терапии и профилактике. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2013. 3. 24 с. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Gricenko-ADL-2013-3.pdf>)
11. Фадеев С.Б., Тарасенко В.С. Этиологические особенности отграниченных и генерализованных форм хирургической инфекции мягких тканей. *Медицинский альманах*. 2008. Спец. выпуск (Май): 222-223.
12. Иманбаева М.И. Биологические особенности бактерий рода *Acinetobacter*, выделенных при гнойно-воспалительных заболеваниях. Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Астана, 2000.
13. Vitkauskienė A., Scheuss S., Sakalauskas R. et al. *Pseudomonas aeruginosa* strains from nosocomial pneumonia are more serum resistant than *P. aeruginosa* strains from noninfectious respiratory colonization processes. *Infection*. 2005. 33(5-6): 356-61.
14. МР 02.032-08. Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact. Методические рекомендации. М., 2008.
15. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. М.: Медицина, 1982. 461 с.
16. Бухарин О. В., Усвятцов Б. Я., Малышкин А. П., Немцева Н.В. Определение антилизотической активности. *Микробиология*. 1984. № 2: 27-28.
17. Бухарин О.В., Брудастов Ю.А., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Роль способности бактерий к инаktivации факторов естественной противоиnфекционной резистентности в их устойчивости к бактерицидному действию крови (сыворотки крови). *Бюлл. экспер. биологии и медицины*. 1996. 2: 174-176.
18. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J. et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985. 22: 996-1006.
19. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007. 115: 891-899.
20. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2018. 4. 17с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru: 9673/magazine/Numbers/2018-4/Articles/MAD-2018-4.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2018-14011.
21. Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам. Таблицы пограничных значений для интерпретации значений МПК и диаметров зон подавления роста. Версия 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
22. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

23. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013.
24. Блиева Л.З. Сравнительный анализ антилизоцимной активности некоторых возбудителей внутрибольничных инфекций. Современные тенденции развития науки и технологий. 2016. 7-3: 20-21.
25. Хараева З.Ф., Канокова К.Г. Факторы персистенции возбудителей гнойно-септических заболеваний. Успехи современного естествознания. 2003. 6: 91-92.
26. Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биоплёнки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: ВГМУ, 2017. 300 с.
27. Wojnicz D. et al. Bactericidal action of human serum against *Pseudomonas aeruginosa* strains with hydrophilic or hydrophobic cell surface. Med Dosw Mikrobiol. 2008. 60(4): 303-309.
28. Hošťacká A., Klokočnicková L'. Characteristics of clinical *Acinetobacter* spp. strains. Folia Microbiologica. 2002. 47: 579.

Поступила 12.09.2019 г.

(Контактная информация: **Мругова Татьяна Маратовна** – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»; адрес: 119991, г. Москва, пер. Абрикосовский, д. 2; тел./факс 8 (499) 246 89 88; e-mail: t.m.mrugova@gmail.com)

LITERATURA

1. National Concept for the Prevention of Infections Associated with the Provision of Medical Assistance, and Information Material on its Provisions / Ed. by V.I. Pokrovsky. M., 2012. 84p.
2. Yakovlev S.Ya., Zhuravleva M.V., Protsenko D.N. etc. The SKAT program (Antimicrobial Therapy Control Strategy) in the provision of inpatient medical care. Guidelines for medical institutions in Moscow. Consilium Medicum. 2017.19 (7.1. Surgery): 15-51.
3. Mehrad B. et al. Antimicrobial Resistance in Hospital-Acquired Gram-Negative Bacterial Infections Chest. 2015 May; 147 (5): 1413-1421.
4. Lazareva I.V. et al. Distribution and antibacterial resistance of gram-negative bacteria, carbapenemase producers, in St. Petersburg and some other regions of the Russian Federation. Antibiotics and chemotherapy. 2016.11-12: 28-38.
5. Elbediwi M. et al. Global Burden of Colistin-Resistant Bacteria: Mobilized Colistin Resistance Genes Study (1980-2018). Microorganisms. 2019. 7 (10).
6. Bukharin OV The persistence of pathogenic bacteria. Moscow: Medicine, 1999. 365p.
7. Osipova N.P. Biological features of microflora with purulent complications of acute pancreatitis in combination chemotherapy. Abstract. dis. ...cand. biol. sciences. Krasnoyarsk, 2004.124p.
8. Hakesheva T.A., Haraeva Z.F., Emkuzheva Z.K. Persistence factors of *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* in various nosological forms. Successes of modern science. 2008. No. 5: 43.
9. Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. The role of persistent properties of microorganisms in the pathogenesis of endogenous infections. Zhurn. microbiol., epidemiol. and immunobiol. 2009.4: 66-71.
10. Gritsenko V.A., Aminin D.L. Endogenous bacterial infections as a fundamental problem of medicine and optimization of approaches to their therapy and prevention. Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 2013.3. 24p. (URL:<http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Gritsenko-ADL-2013-3.pdf>)
11. Fadeev S.B., Tarasenko V.S. Etiological features of delimited and generalized forms of surgical infection of soft tissues. Medical almanac. 2008. Special. release date (May): 222-223.
12. Imanbaeva M.I. Biological features of bacteria of the genus *Acinetobacter* isolated in puru-

- lent-inflammatory diseases. Abstract. dis. ... cand. biol. sciences. Astana, 2000.
13. Vitkauskienė A., Scheuss S., Sakalauskas R. et al. *Pseudomonas aeruginosa* strains from nosocomial pneumonia are more serum resistant than *P. aeruginosa* strains from noninfectious respiratory colonization processes. *Infection* 2005.33 (5-6): 356-61.
 14. MP 02.032-08. Identification of microorganisms and determination of their sensitivity to antibiotics using the VITEK 2 Compact automatic microbiological analyzer. Guidelines. M., 2008.
 15. Birger M.O. Handbook of microbiological and virological research methods. M.: Medicine, 1982. 461p.
 16. Bukharin O.V., Usvyatsov B.Ya., Malyshkin A.P., Nemtseva N.V. Determination of antilysozyme activity. *Microbiology*. 1984. No. 2: 27-28.
 17. Bukharin O.V., Brudastov Yu.A., Gritsenko V.A., Deryabin D.G. The role of the ability of bacteria to inactivate factors of natural anti-infectious resistance in their resistance to the bactericidal action of blood (blood serum). *Bull. expert. biology and medicine*. 1996. 2: 174-176.
 18. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J. et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985. 22: 996-1006.
 19. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS* 2007.115: 891-899.
 20. Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Y.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Assessment of the effect of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - ZP2 on the growth and biofilm formation of clinical isolates of enterobacteria in vitro. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2018.4.17c. [Electr. resource] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-4/Articles/MAD-2018-4.pdf>). DOI: 10.24411 / 2304-9081-2018-14011.
 21. European Committee for the Determination of Antimicrobial Susceptibility. Tables of boundary values for the interpretation of IPC values and diameters of zones of growth suppression. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
 22. Lakin G.F. Biometrics. M.: Higher School, 1990. 352p.
 23. Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package. M.: GOETAR-Media, 2013.
 24. Blieva L.Z. Comparative analysis of the antilysozyme activity of some causative agents of nosocomial infections. *Modern trends in the development of science and technology*. 2016. 7-3: 20-21.
 25. Okulich V.K., Kabanova A.A., Plotnikov F.V. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibiotic therapy. Vitebsk: Voronezh State Medical University, 2017.300 s.
 26. Wojnicz D. et al. Bactericidal action of human serum against *Pseudomonas aeruginosa* strains with hydrophilic or hydrophobic cell surface. *Med Dosw Mikrobiol*. 2008. 60 (4): 303-309.
 27. Hošťacká A., Klokočnická L. Characteristics of clinical *Acinetobacter* spp. strains. *Folia Microbiologica*. 2002. 47: 579.

Образец ссылки на статью:

Мругова Т.М., Гриценко В.А., Агеев В.А., Лазарева И.В., Иноземцева Л.О. Биологические свойства и генетические характеристики микрофлоры, выделенной от пациентов многопрофильного стационара. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2019. 3. 11с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/MTM-2019-3.pdf>).