

**Сахаров С.П., Молокова О.А., Фролова О.И., Чернов И.А.,  
Хорошилова О.В.**

## **ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА АССОЦИАЦИЙ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ И НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФОРМ БАКТЕРИЙ ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*ГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
ГБУЗ «МКМЦ «Медицинский город» ПАБ, Тюмень, Россия*

**Актуальность.** В последние годы отмечено увеличение частоты инфекционных заболеваний, вызванных ассоциациями бактерий. Изменение видового состава микроорганизмов в ассоциациях требует изучения механизмов взаимного влияния патогенов друг на друга, выявления роли ассоциированной микрофлоры в приобретении особенностей течения инфекционного процесса.

**Цель исследования** - изучить патоморфологические изменения в организме животных, инфицированных *P.aeruginosa* и *S.aureus* в культивируемой и некультивируемой формах; определить микробный пейзаж крови и внутренних органов; выявить особенности взаимодействия бактерий в формирующихся ассоциациях.

**Материал и методы.** Экспериментальная работа проведена в соответствии с методическими указаниями по содержанию и использованию лабораторных животных и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также Правилами, утвержденными Приказом Минздрава России от № 199н 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Получено разрешение Этического комитета ФГБОУ ВО ТюмГМУ (Протокол № 83, от 02.03.2019 г.). В эксперименте использованы 52 кролика, составивших 2 экспериментальные группы. Животных I группы (26 штук) заражали культивируемыми формами бактерий (КФБ) *P.aeruginosa* и *S.aureus*, животных II группы (26 штук) заражали некультивируемыми формами этих бактерий (НФБ). КФБ и НФБ выделены от пациентов, лечившихся в ожоговом отделении ГБУЗ ТО «Областной клинической больницы № 1» г. Тюмени. Взвесь бактерий в концентрации  $10^5 - 10^6$  микробных клеток в 1 мл физиологического раствора хлорида натрия вводили подкожно животному в бедро. Из культуры бактерий, накопленных на скошенном МПА, получали взвесь бактерий, готовили серийные разведения до  $10^9$ . До разведения  $10^6$  степени наблюдался рост колоний культивируемых форм бактерий на плотной питательной среде, а в разведениях  $10^7-10^9$  роста бактерий не наблюдалось, потому что они находились в некультивируемой форме. Для перевода бактерий в

культивируемое состояние разведения  $10^7$ - $10^9$  выдерживали при температуре  $+4^\circ\text{C}$  в течение 48 час. Затем из разведений  $10^7$ - $10^9$  степени проводили посев микробной взвеси на селективную питательную среду и через 24 часа при  $37^\circ\text{C}$  происходило размножение некультивируемых бактерий, перешедших в культивируемое состояние. Для выделения некультивируемых бактерий использовали хладотермостат. Видовую идентификацию бактерий у погибших животных проводили в крови, печени, легких и почках, используя классификацию микроорганизмов.

**Основные результаты.** При бактериологическом исследовании крови у кроликов I группы выявлена транслокация условно-патогенной микрофлоры кишечника в кровь, легкие, печень, почки. При изучении микробного пейзажа легких на 8-е сут., в первый пик гибели животных отмечается антагонистическое действие *P. aeruginosa* в культивируемом состоянии по отношению к *S. aureus*. На 12-е сут., во 2 пик летальности, первичная ассоциация КФБ не высевается, выявляется *E. coli* в виде монокультуры, что свидетельствует о доминировании патогена и его антагонистическом действии на *P. aeruginosa* и *S. aureus*. В печени на 8-е сут. образовалась новая ассоциация патогенов, в которую *E. coli* вошла в качестве ассоцианта. На 12-е сут. состав ассоциации снова изменился, в КФБ выявлены *E. coli* и *S. aureus*, проявившие конкурентные свойства по отношению к *P. aeruginosa*. В почках первичная ассоциация КБ, которой были заражены животные, выявлена лишь на 8-е сутки эксперимента. На 12-е сутки, как и в легких, выявляется транслоцированная *E. coli* в виде монокультуры, проявляющая антагонистические свойства по отношению к ассоциации патогенных бактерий. У кроликов II группы на 2-5-е сут. произошла реверсия НФБ в КФБ. Транслокация *E. coli* в кровь выявлена на 8-е сут. В легких *E. coli* не выявлена ни в один из пиков летальности, высевалась первоначальная ассоциация бактерий. В печени на протяжении всего эксперимента выявлена новая микробная ассоциация из трех патогенов: *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *E. coli*. В почках на 2-5-е сут. выявлена ассоциация из трех возбудителей, на 8-е сут. в составе ассоциации в культивируемой форме определяются *E. coli* и *S. aureus*, проявляющие антагонистические или конкурентные свойства к *P. aeruginosa*.

**Выводы.** В организме экспериментальных животных, зараженных ассоциацией *P. aeruginosa* и *S. aureus* в некультивируемом состоянии, происходит их реверсия в культивируемое состояние. Изменение микробного пейзажа внутренних органов инфицированных животных обусловлено диссеминацией ассоциации КФБ и НФБ из места введения; транслокацией *E. coli* во внутренние органы из кишечника; образованием новых ассоциаций при включении в их состав *E. coli*, а также переходом ассоциантов в некультивируемое состояние. Основной путь транслокации кишечной палочки из кишечника – поступление с кровью по воротной вене в печень. В ходе развития инфекционного процесса выявлено взаимное влияние патогенов друг на друга, проявляющееся антагонистическим, конкурентным или симбиотным эффектом. Антагонистическое действие выявляется у *P.*

*aeruginosa* по отношению к *S. aureus* и наоборот. Наиболее выражены антагонистические свойства у транслоцировавшейся *E. coli*, выделяемой в виде монокультуры, что свидетельствует о её высокой патогенности. Взаимодействие *E. coli* в виде ассоцианта с *P. aeruginosa* и *S. aureus* способствует усилению синергетического эффекта в ассоциации, обуславливая более тяжелое течение инфекционного процесса. Ранняя транслокация кишечной палочки в печень и почки с образованием микробной ассоциации с *P. aeruginosa* и *S. aureus* вызывает высокую летальность у животных, зараженных НФБ.