

Гаврилова И.А. Ультрамикроскопические различия в строении *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительных и устойчивых к дезинфицирующим средствам на основе полигексаметиленгуанидина и четвертичных аммониевых соединений / И.А. Гаврилова, Л.П. Титов // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2013. – №4. – С. 13-20

УДК 615.281.9:579.23, 616: 579.61

И.А. ГАВРИЛОВА.^{1,2}, Л.П. ТИТОВ¹

**УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ В СТРОЕНИИ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA
ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ
НА ОСНОВЕ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА И ЧЕТВЕРТИЧНЫХ
АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

¹ – ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии»

² – УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Введение. Начиная с 70-х гг. XX века синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) признается одним из главных возбудителей внутрибольничных инфекций (пневмоний, катетер-ассоциированных инфекций мочеполовой системы, области хирургического вмешательства, бактериемии и сепсиса). Наиболее часто синегнойная инфекция выявляется у иммунокомпрометированных лиц, при раке, муковисцидозе, бронхоэктатической болезни и обширных ожогах. Как правило, такие пациенты пребывают на лечении в отделениях реанимации и интенсивной терапии, имеют имплантируемые устройства лечения и мониторинга (эндотрахеальные трубки, катетеры и др.) и получают многокомпонентную и длительную антибиотикотерапию препаратами широкого спектра [1,2]. Синегнойная палочка известна как бактерия, способная быстро приобретать резистентность к различным противомикробным агентам (антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам), а её повсеместная распространённость, наличие широкого набора факторов патогенности, и высокая адаптивная способность к выживанию во внешней среде лечебных учреждений превращают *P.aeruginosa* в воплощение «идеального» нозокомиального патогена.

Дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и полиалкиленгуанидинов (ПАГ) широко используются в медицинских учреждениях любого уровня и профиля и обладают достаточной эффективностью в

предупреждении возникновения и развития внутрибольничных инфекций при их правильном применении [3]. Наиболее популярным и исследованным представителем ПАГ, который входит в состав биоцидов, применяющихся в здравоохранении, является полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (химическая формула - $(C_7H_{16}N_3Cl)_n$, где $n=4-50$). Механизм бактерицидного действия полигексаметиленгуанидина (ПГМГ) заключается в следующем [4]:

а) поликатионы гуанидина адсорбируются на отрицательно заряженной поверхности бактериальной клетки;

б) макромолекулы ПГМГ диффундируют через клеточную стенку;

в) затем происходит электростатическое взаимодействие катионных молекул ПГМГ с отрицательно заряженными фосфолипидами и белками, локализованными в цитоплазматической мембране. Следствием этого является нейтрализация заряда мембраны и клетки в целом, а также изменение соотношения гидрофобных и электростатических взаимодействий, стабилизирующих мембрану. Дестабилизация мембраны приводит к повышению её проницаемости и нарушению функций мембрансвязанных ферментов. Повышение концентраций ПГМГ ведёт к потере связей между фосфолипидами цитоплазматической мембраны, утрате целостности мембраны и вытеканию клеточного содержимого.

Основной мишенью действия сублетальных концентраций ПГМГ по-видимому являются нуклеиновые кислоты микроорганизма. Исследователи *Allen et al.* показали в экспериментах *in vitro* способность молекул ПАГ связываться с ДНК и тРНК с осаждением ассоциированного комплекса нуклеиновой кислоты и соли гуанидина. Предполагается, что при воздействии низких концентраций ПГМГ, ущерб, причиненный ДНК незначителен и возможна репарация генома [5].

В композиционном биоциде на основе ПГМГ и ЧАС, в качестве дополнительного активно действующего вещества входят и четвертичные аммониевые соединения, которые взаимодействуют с поверхностными образованиями бактериальной клетки. ЧАС усиливает способность гуанидина связываться с поверхностью клетки и увеличивает диффузию ПАГ через клеточную стенку, чем достигается доставка молекулы дезинфектанта к цитоплазматической мембране, биоцид вызывает её дестабилизацию, нарушение барьерных и транспортных функций и деструкцию.

Субоптимальные концентрации ЧАС вызывают менее глубокие изменения в структуре макромолекул цитоплазматической мембраны и, вероятно, являются сигналом для перестройки генетической и метаболической программ, реорганизации поверхностных структур бактериальной клетки с целью обеспечения выживания в неблагоприятных условиях [6].

Теоретически существует возможность адаптации популяции бактериальных клеток к активно действующему веществу дезинфектанта, их выживания и селекции более устойчивых микроорганизмов под прессом сублетальных концентраций дезинфицирующих средств (ДС), что может рассматриваться как формирование устойчивости к дезинфектантам. На это указывают мониторинговые исследования чувствительности/резистентности к ДС клинических изолятов микроорганизмов [7-9], а также модельные исследования [10,11].

Вместе с тем, не существует четкой теории, объясняющей закономерности формирования устойчивости бактерий к дезинфицирующим средствам, отсутствуют научно-обоснованные критерии оценки эффективности биоцидов, не установлены и механизмы действия большинства дезинфектантов на микробную клетку, включая и генетический материал.

Исследование действия сублетальных концентраций биоцидов на ультраструктуру бактериальных клеток с помощью электронной и атомно-силовой микроскопии может позволить разработать критерии оценки действия химических веществ на микробную клетку, выявить преимущественные точки их приложения, более объективно оценить жизнеспособность бактерий под влиянием различных концентраций дезинфицирующих препаратов.

Цель работы: изучить ультрамикроскопическую структуру бактериальных клеток *Pseudomonas aeruginosa* чувствительных и резистентных к дезинфицирующим средствам.

Материалы и методы.

Микроорганизмы.

Клинические изоляты *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные с объектов внешней среды стационаров хирургического профиля города Минска в 2011 году.

Для исследования были отобраны 5 чувствительных и 7 резистентных к биоцидам культур *Pseudomonas aeruginosa*.

Биоциды и нейтрализатор.

Дезинфицирующее средство из группы гуанидинов, активно действующее вещество – полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (10%)

Композиционное дезинфицирующее средство на основе четвертичных аммониевых соединений (алкилдиметилбензиламмония хлорид 5,5%) и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (2,5%)

Состав нейтрализатора ДС: 3,0% Твина 80; 3,0% сапонины; 0,1% гистидина; 0,3% лецитина.

Исследование чувствительности-устойчивости бактерий к дезинфектантам

Исследование чувствительности-устойчивости бактерий к дезинфектантам проводили качественным суспензионным методом. Готовили взвесь бактериальных клеток 18-20 часовой опытных культур, выращенных на скошенном мясопептонном агаре в стерильном растворе хлорида натрия (0,85%) с добавлением 20,0% лошадиной сыворотки. 0,1 мл суспензии смешивали с 10 мл рабочего раствора дезинфектанта. После выдерживания экспозиции взвесь микроорганизмов с раствором ДС тщательно перемешивается и 0,5 мл переносится в 4,5 мл нейтрализующего раствора. После нейтрализации в течение 15 мин в пробирку добавляют 5 мл триптон-соевого бульона. Эти субкультуры инкубируют в течение 24-48 часов при температуре 37°C. По помутнению бульонных культур устанавливали наличие роста бактерий. К клинически чувствительным относили культуры, погибающие при воздействии концентрации препарата, равной или меньшей его минимальной рабочей концентрации в течение наименьшей из рекомендуемых производителем экспозиций, к устойчивым – не погибающие при таких условиях.

Приготовление образцов для трансмиссионной электронной микроскопии.

Готовили концентрированную взвесь суточной культуры *Pseudomonas aeruginosa* в 0,2 какодилатном буфере (рН 7,2-7,4). Клетки осаждали центрифугированием, надосадочную жидкость сливали. Затем бактерии фиксировали 2,5% раствором глутаральдегида на 0,2М какодилатном буфере при температуре +4°C в течение 1 часа. Отмытую от фиксатора суспензию микроорганизмов дофиксировали 1% раствором

четырёхокси осмия в течение 2 часов. Затем проводили обезвоживание в этаноле возрастающих концентраций: 30%, 50%, 70%, 96%, 100%, в каждом по 10 мин и дважды в течение 30 мин в абсолютном ацетоне. Обезвоженный материал пропитывали смесью эпоксидной смолы с пониженной вязкостью *Spurr* (Spurr Low Viscosity Embedding Kit, Sigma) и ацетона в соотношении 1:1, затем переносили в желатиновую капсулу (Carl Roth, Germany) и заливали свежей смесью смолы с катализатором. Образцы полимеризовали в термостате последовательно при 37°C (12 ч) и 60°C (48 ч).

Из полученных блоков на ультрамикротоме Ultracut E (Reichert, Австрия) готовили серийные ультратонкие срезы, которые монтировали на никелевые сеточки, контрастировали насыщенным раствором уранилацетата и дополнительно раствором цитрата свинца по Рейнольдсу (Reynolds, 1963) . Срезы толщиной около 100 нм просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Изображения получены и проанализированы с помощью программы для анализа изображений - iTEM (Olympus, Германия). Трансмиссионная электронная микроскопия проведена на базе лаборатории диагностики сочетанных бактериально-вирусных инфекций ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии».

Результаты.

При изучении ультратонких срезов чувствительных к дезинфицирующим средствам (ДС) бактериальных клеток *Pseudomonas aeruginosa* (рисунок 1А) внешние слои чувствительных бактериальных клеток просматриваются на всём протяжении. Клеточная стенка хорошо структурирована и состоит из наружной мембраны, связанной с подлежащим слоем пептидогликана. Наружная мембрана бактерий в большинстве случаев извилиста и представляет собой трёхслойную структуру: два электроноплотных слоя разделены промежуточным слоем меньшей электронной плотности. В наружной мембране просматриваются широкие поры. Снаружи от внешней мембраны выявляется тонкий экстрацеллюлярный слой, состоящий из коротких микрофибрилл и «глыбок» осмиофобного вещества. Периплазматическое пространство выражено, у части клеток неравномерно расширено и заполнено гомогенной массой средней электронной плотности.

В цитоплазматической мембране визуализируются наружный и внутренний осмиофильные слои, между которыми расположен промежуточный слой средней электронной плотности.

Область нуклеоида клеток *Pseudomonas aeruginosa* чувствительных к дезинфектантам была диспергирована, определялись тонкие фибриллы хроматина. Цитоплазма таких бактериальных клеток насыщена рибосомами.

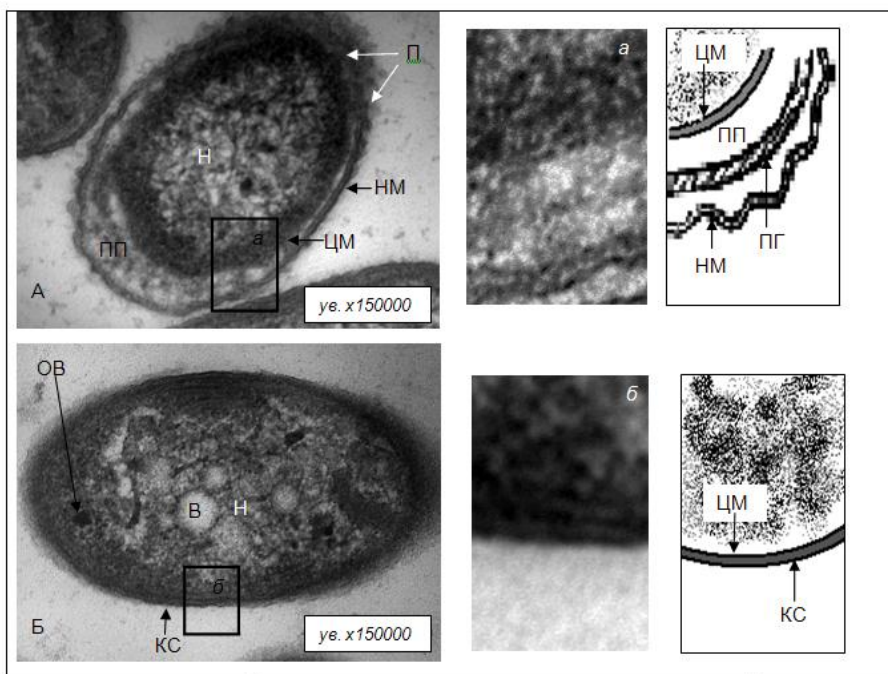


Рисунок 1 – ультратонкий срез клетки *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительной (А) и резистентной (Б) к дезинфицирующим средствам.

НМ – наружная мембрана, *П* – поры, *ПП* – периплазматическое пространство, *ПГ* – пептидогликан, *КС* – клеточная стенка, *ЦМ* – цитоплазматическая мембрана, *Н* – нуклеоид, *ОВ* – осмиофильные включения, *В* – вакуолеподобные структуры

У 40% изученных клеток в цитоплазме наблюдалось наличие округлых включений с ультрамикроскопическими характеристиками волутиновых гранул, которые после окраски цитратом свинца визуализировались как округлые гомогенные тельца размером до 0,05-0,2 мкм высокой электронной плотности, с чёткими краями, без видимой мембранной оболочки (рисунок 2А).

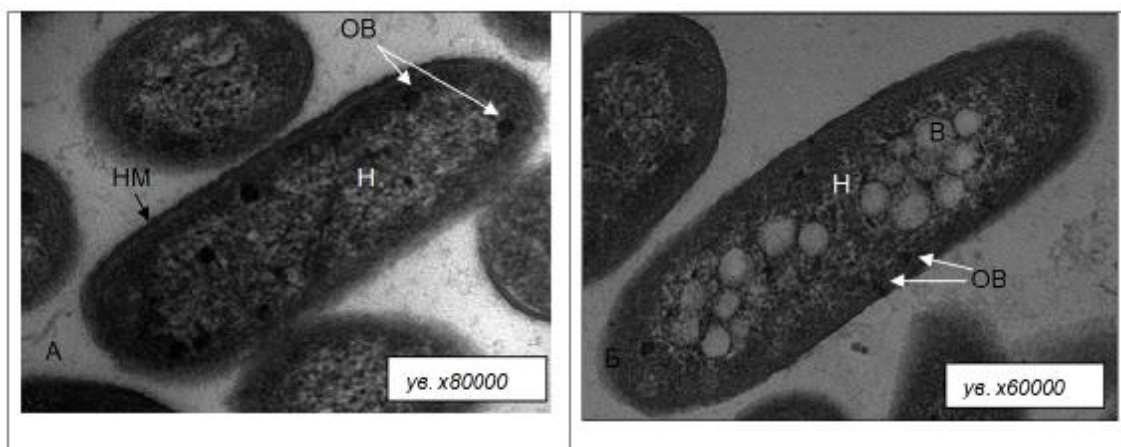


Рисунок 2 – ультратонкий срез клетки *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительной (А) и резистентной (Б) к дезинфицирующим средствам.

Н – нуклеоид, *ОВ* – осмифильные включения, *В* – вакуолеподобные структуры

У резистентных к дезинфицирующим средствам на основе полигексаметиленгуанидина и четвертичных аммониевых соединений бактерий (рисунок 1Б) внешние слои клеточной стенки уплотнены, тесно прилегают друг к другу. Наружная мембрана плотная, поры не выявлены. У некоторых резистентных клеток видны мембранные пузырьки, «почкующиеся» от наружного слоя внешней мембраны (рисунок 3). Видна однослойная мембрана пузырька и его содержимое средней электронной плотности. Периплазматическое пространство одинаковой ширины, у части клеток не выявляется вовсе. Цитоплазматическая мембрана также уплотнена, отдельные слои не визуализируются. В области нуклеоида обнаруживаются плотные суперспирализованные фибриллы хроматина, у части изученных бактериальных клеток область нуклеоида разрежена (рисунок 3).

По периферии цитоплазмы большинства резистентных бактерий регистрировались осмифильные включения округлой или неправильной формы. В отличие от чувствительных бактериальных клеток значительное количество устойчивых к дезинфектантам клеток бактерий содержало электронно-прозрачные вакуолеподобные структуры в области нуклеоида, окруженные однослойной оболочкой (рисунки 1Б, 2Б, 3).

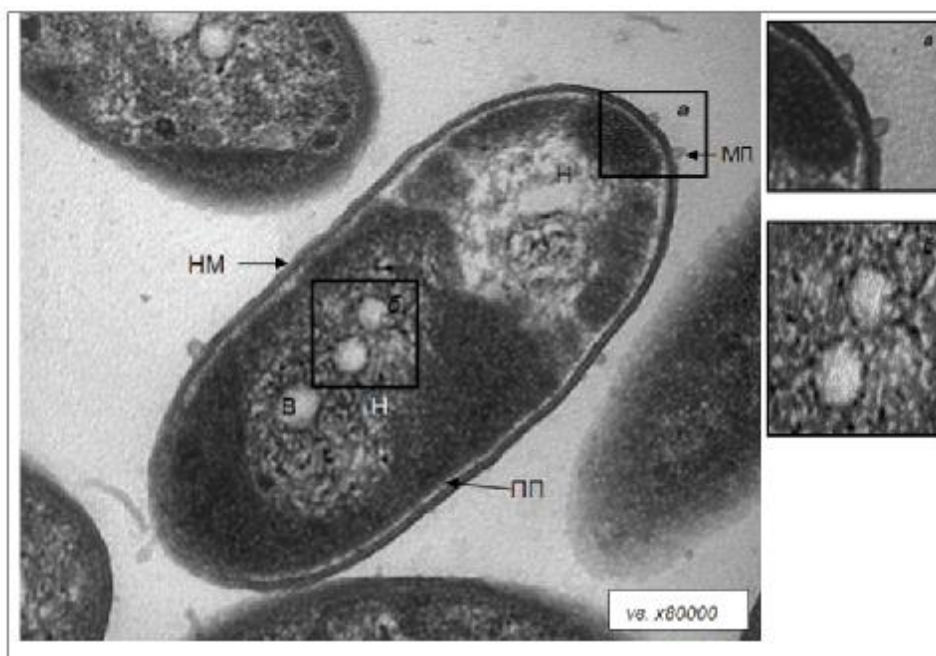


Рисунок 3 – ультратонкий срез клетки *Pseudomonas aeruginosa* резистентной к дезинфицирующим средствам на основе полигексаметиленгуанидина и четвертичных аммониевых соединений

НМ – наружная мембрана, *ПП* – периплазматическое пространство, *Н* – нуклеоид, *В* – вакуолеподобные структуры, *МП* – мембранный пузырек

Обсуждение

Устойчивость микроорганизмов к дезинфицирующим средствам (ДС) изучается уже на протяжении многих лет [9,12,13]. Выявлено наличие изолятов бактерий резистентных к различным группам дезинфектантов [12]. Между тем, знания о механизмах резистентности к биоцидам варьируют от выявления генетического механизма её формирования к четвертичным аммониевым соединениям и кислородсодержащим ДС до отсутствия достоверных представлений и только описания феномена устойчивости [9,12].

Приобретенная устойчивость к ЧАС обусловлена генотипическими (наличие генов устойчивости, локализованных в плаزمиде, хромосоме или транспозонах) или фенотипическими механизмами [6]. Среди фенотипических механизмов выделяют способность бактериальной популяции образовывать биопленки, а также так называемую физиологическую (фенотипическую) адаптацию, которая развивается в ответ на действие неблагоприятных факторов (субингибиторные «следовые» концентрации дезинфицирующих препаратов). Явление приобретенной фенотипической резистентности на данный момент изучено недостаточно, в связи с чем нельзя с полной

уверенностью говорить о такой устойчивости исключительно как о внешнем (фенотипическом) проявлении адаптации [13]. Вопрос о механизмах такой устойчивости и возможности её закрепления на генетическом уровне остается открытым и требует углубленного исследования. Во многом это связано с отсутствием определённости в понимании механизмов действия активных молекул многих биоцидов и недостаточностью представлений об адапционных перестройках в клетках при воздействии сублетальных концентраций ДС. Ряд авторов [3] склоняется к утверждению, что дезинфектанты и антисептики не адресованы конкретным мишеням и действуют на микробные клетки неспецифически, в отличие от антибиотиков, которые имеют конкретные мишени в прокариотической клетке. Вероятно, подобное утверждение не может быть применимо ко всем классам дезинфицирующих средств. Косвенным доказательством этому может служить появившиеся в недавнее время сообщения о формировании антибиотикоустойчивости у микроорганизмов, подвергшихся воздействию возрастающих концентраций биоцида из группы четвертичных аммониевых соединений [11].

Многочисленные литературные данные, отражающие результаты многолетних исследований, описывают вариабельность метаболических процессов бактерий при различных условиях обитания [14]. И в то же время констатируют наличие сходных морфологических изменений микробных клеток при влиянии различных стрессовых факторов, которые обеспечивают их функциональную полноценность и являются универсальными признаками механизмов адаптации.

Адаптивные признаки на уровне ультраструктур выражаются в образовании капсулы и микрокапсулы, общего покрова, слизи, межклеточных контактов, цитоплазматических выростов и накоплении запасных веществ. Адаптация также обеспечивается повышением извилистости и изменением толщины клеточной стенки, вариабельностью размеров клетки, рибосомальной насыщенностью цитоплазмы и состоянием нуклеоида. Наблюдаются атипичные морфоварианты, нарушения деления клеток, переход в анабиотическое состояние с образованием некультивируемых или покоящихся форм [15]. Регистрируются изменения адгезивных свойств, ригидности и шероховатости поверхности клетки.

В таблице 1 представлены ультрамикроскопические различия клеток *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительных и резистентных к дезинфицирующим средствам на основе ПГМГ и ЧАС.

Таблица 1 Ультрамикроскопическая характеристика бактериальных клеток *Pseudomonas aeruginosa* чувствительных и резистентных к дезинфицирующим средствам на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и четвертичных аммониевых соединений

Ультра-микроскопический критерий	Чувствительные к дезинфектантам бактериальные клетки	Резистентные к дезинфектантам бактериальные клетки
Клеточная стенка (КС)	КС структурирована. Визуализируется извилистая трехслойная наружная мембрана и подлежащий слой пептидогликана. В наружной мембране просматриваются поры. Снаружи от внешней мембраны выявляется тонкий слой капсулоподобного вещества. Периплазматическое пространство хорошо выражено, у части клеток неравномерно расширено	Внешние слои КС тесно прилегают друг к другу. Наружная мембрана уплотнена, видимые поры отсутствуют. Периплазматическое пространство узкое, равномерной ширины на всем протяжении или не просматривается. У части клеток выявлены пузырьки, не отделившиеся от наружной мембраны
Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ)	ЦПМ визуализируется как трехслойная структура	ЦПМ уплотнена, слои не визуализируются. У части клеток ЦПМ визуально сливается с КС
Цитоплазматические включения	Около половины изученных клеток содержат округлые включения с ультрамикроскопическими характеристиками волютиновых гранул	Большинство клеток, помимо осмиофильных волютиноподобных включений содержит в области нуклеоида от 1 до 16 электронно-прозрачных вакуолеподобных структур, окруженных однослойной оболочкой
Состояние нуклеоида	Область нуклеоида диспергирована, определяются тонкие фибриллы хроматина	Нуклеоид отличается высокой степенью спирализации ДНК, выявляются грубые фибриллы хроматина. У части клеток область нуклеоида разрежена

При оценке ультраструктуры бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительных к дезинфицирующим средствам были выявлены следующие особенности: поверхностные слои бактериальных клеток хорошо визуализируются, наружная мембрана извилиста, в ней просматриваются поры, периплазматическое пространство расширено, в

цитоплазматической мембране выражены слои. Комплекс этих признаков свидетельствует об активном метаболическом состоянии клетки и продолжающемся процессе адаптации бактериальной популяции к условиям культивирования. Деспирализация бактериальной ДНК и насыщенность цитоплазмы рибосомами объясняется интенсивностью синтетических процессов.

У резистентных клеток слои клеточной стенки не визуализировались, наружная мембрана отличалась высокой плотностью и отсутствием видимых пор, периплазматическое пространство узкое или не просматривается, у части клеток обнаружены пузырьки, которые не отделились от наружной мембраны. Нуклеоид отличался высокой степенью спирализации ДНК. Подобные изменения характерны для клеток, проявляющих сниженную метаболическую активность.

Помимо различий на уровне клеточной стенки и цитоплазматической мембраны, которые являются основными мишенями и первыми барьерами на пути любого антимикробного вещества, бактерии с разным уровнем чувствительности к дезинфектантам отличались локализацией в клетке различных типов включений.

По периферии цитоплазмы 40% изученных чувствительных клеток наблюдались округлые электронно-плотные включения с ультрамикроскопическими характеристиками полифосфата (волютина). В тоже время аналогичные гранулы были обнаружены у 90% бактерий, резистентных к действию биоцида. Резкое накопление включений полифосфатов у большинства бактерий является, по-видимому, одним из способов «отвода» неизрасходованной энергии исходного субстрата. Как источники энергии полифосфаты играют второстепенную роль, реакция использования высокомолекулярных полифосфатов вместо АТФ для фосфорилирования глюкозы присутствует и активно функционирует только у небольшого количества эволюционно древних бактерий (пропионовые бактерии, микрококки, тетракокки, микобактерии и некоторые другие эволюционно древние группы прокариот). А у более современных групп бактерий и других организмов вместо высокополимерных полифосфатов используется только АТФ. С момента открытия у бактерий гранул волютина, состоящих в основном из осмотически инертных высокомолекулярных полифосфатов кальция, магния и калия, эти биополимеры стали рассматривать в первую очередь как резервы фосфата, столь необходимого для построения нуклеиновых кислот и нормального

течения биоэнергетических процессов. Фактически, волутиновые гранулы играют роль фосфатных депо, за счет которых клетка может при недостатке фосфора в среде осуществить еще несколько делений. Накопление гранул полифосфата было зарегистрировано у *Helicobacter pylori* в анаэробных условиях при переходе клеток в кокковидную форму, которую расценивают как форму покоя бактерии [16], а также в клетках синегнойной палочки при росте на среде, содержащей 0,5% гексадекан [17]. В последние годы установлено, что высокомолекулярные полифосфаты у бактерий связаны не только с образованием нуклеиновых кислот, но и с их транспортом через цитоплазматическую мембрану извне клетки внутрь её [18].

Кроме включений полифосфатов в цитоплазме большинства резистентных бактерий были обнаружены вакуолеподобные структуры, по-видимому, липоидной структуры, которые при фиксации в глутаральдегиде и окиси осмия выглядели как сферические или овоидные образования с электронно-прозрачным содержимым и иногда с пустым центром, окруженные однослойной оболочкой. Количество этих структур варьировало от 1 до 16, располагались они, как правило, вблизи нуклеоида. Подобные включения в литературе описаны как включения поли-β-гидроксипутирата. Накопление поли-бета-оксимасляной кислоты характерно только для прокариот. Включения этого вещества окружены в цитоплазме белковой мембраной. Образующиеся при распаде гранул вещества используются для процессов жизнедеятельности бактериальной клетки. Также имеются сведения о том, что микроорганизмы, содержащие включения полиоксипутирата, лучше переносят сниженные температуры культивирования. Предполагается, что это соединение стимулирует процессы репарации бактериальных клеток при нарушении их деления.

Реш, Корнберг (1995) установили присутствие определённой фракции высокомолекулярных полифосфатов в составе двуспирального комплекса, состоящего из двух биополимеров — поли-β-оксимасляной кислоты и полифосфатов. Биологические мембраны, как известно, непроницаемы для воды и водорастворимых веществ. Для того чтобы всё-таки такие вещества могли проходить через биомембрану, в ней образуются „каналы“. Спираль поли-β-оксимасляной кислоты имеет разные стороны: наружу ориентированы гидрофобные части молекулы, а внутрь — полярные оксигруппы. С помощью ионов Ca^{2+} эти оксигруппы связываются с полярными

группами отрицательно заряженной цепи спирали полифосфатов, расположенной внутри спирали, состоящей из поли-β-оксимасляной кислоты. По новым данным, через эти „каналы“ после расщепления полифосфатов могут проникать в клетки не только ионы Ca^{2+} , но и фрагменты ДНК (например, плазмиды), передающие определённую наследственную информацию (например, устойчивость к антибиотикам) от одной клетки бактерий к другой [18].

Итак, круг проблем, который предстоит разрешить современной дезинфектологии достаточно широк: от необходимости окончательно выявить «точки приложения» действия биоцида в бактериальной клетке до выяснения закономерностей формирования устойчивости к дезинфицирующим средствам. Плодотворность поиска новых эффективных дезинфектантов очевидна, однако в настоящий момент исследования ведутся в основном эмпирически, методом отбора и составления новых композиций из двух и более активных химических веществ. Решение проблемы изыскания новых ДС сдерживается тем, что до сих пор не разработаны теоретические основы направленного синтеза антимикробных препаратов, так как механизм их действия на микробную клетку полностью не установлен. Применение ультрамикроскопических методов исследования позволяет выявить особенности устойчивых и чувствительных к ДС бактериальных клеток и получить новые знания о структурно-функциональных изменениях бактериальных клеток под воздействием дезинфектантов и разработать новые методические подходы и критерии оценки влияния дезинфектантов на отдельные бактериальные клетки и популяцию микроорганизмов.

Заключение

Методом трансмиссионной электронной микроскопии выявлены особенности ультраструктуры чувствительных и устойчивых к дезинфектанту бактериальных клеток синегнойной палочки. Наблюдались морфологические различия как поверхностных слоёв бактериальной клетки (извилистость клеточной стенки, выраженность периплазматического пространства), так и цитоплазматических включений. В отличие от чувствительных бактериальных клеток значительное количество устойчивых к дезинфектантам клеток содержало электронно-прозрачные цитоплазматические псевдовакуоли, предположительно липоидной природы, с характерными признаками включений поли-β-оксибутирата.

Авторы выражают благодарность доктору медицинских наук, профессору Н.Н. Полещуку, А.Н. Асташонку и другим сотрудникам лаборатории диагностики сочетанных бактериально-вирусных инфекций ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии» за техническую и методическую помощь в исследовании.

Литература

1. Руднов В.А // Русский медицинский журнал. 2005. Т. 13, № 7. С.16-20
2. Титов Л.П., Бореко Е.И., Пашкович В.В. // Здоровоохранение. 2001. №5. С.21-27.
3. Gilbert P., Moore L.E. // Journal of Applied Microbiology. 2005. Volume 99. Issue 4. P.703 – 715.:
4. Denyer S.P., G.S. Stewart Modes of action of disinfectants // International Biodeterioration & Biodegradation 1998. Volume 41. Issues 3–4. Pages 261–268
5. Allen, M. J., Morby, A. P., White, G. F. // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004. Volume 318, Issue 2. P. 397–404
6. McDonnell G., Russell A.D. //Clin. Microbiol. Rev. 1999. P. 147-179
7. Благонравова А.С., Ковалишена О.В. // Главная медицинская сестра. 2009. №9. С. 79-82
8. Горбунов В. А. // Военная медицина. 2010. N 3. С. 46-50
9. Гудкова Е.И., Адарченко А.А., Слабко И.Н. и др. // Белорусский мед журн. 2003. № 3. С. 57-60
10. Парфенова В.В., Кравченко О.С., Павлова О.Н. и др. // Гигиена и санитария . - М.:Медицина, 2012. N 2. С.8- 12
11. Paul H. Mc Cay Alain A. Ocampo-Sosa and Gerard T. A. Fleming. // Microbiology 156 (2010). P. 30- 38
12. Russell A.D. // British Journal of Infection Control . 2002. 3. P. 16-25
13. Ковалишена О.В., Благонравова А.С., Воробьева О.Н., Ермольева С.А., Послова Л.Ю., Шпрыкова О.Н. // Ремедиум. Приволжье. 2008. №1. С.49-51.
14. Бузолева Л.С., Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Ультраструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях. Изд. Медицина Дальнего Востока. 2009, 200 с.
15. Farnia P., Mohammad R.M., Merza M.A., Tabarsi P., Zhavnerko G.K., et al. // Int. J. Clinical and Experimental Medicine. 2010. Vol. 3, N 4. P. 308-314.
16. Shirai M., Kakada J., Morshed M.G., Nakazawa T., Shibata K., Matsushita T. // Journal of Medical Microbiology. 2000. V. 49. № 6. P. 513-519
17. Miguez CB, Beveridge TJ, Ingram JM. // Canadian Journal of Microbiology. 1986. 32(3). P. 248-53.
18. Кулаев И.С. // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 2. С. 28-35.