

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ

УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт развития образования

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи

Язгарова Розалия Рафилевна

**МИКРОБИОТА ГЛАЗНОЙ ПОВЕРХНОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ
ОФТАЛЬМОПАТОЛОГИИ**

Научный руководитель:
заведующий кафедрой фундаментальной и
прикладной микробиологии, доцент, к.м.н. И. А. Гимранова

Уфа – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	6
Актуальность	6
Анатомия поверхности глаза	8
Методы лабораторной диагностики глазной поверхности.....	10
Поверхность глаза, как среда обитания микроорганизмов.....	12
Влияние заболеваний глазной поверхности на микробиом глаза.....	18
Перспективы исследования.....	19
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	21
Клинические материалы.....	21
Методы исследования.....	22
Методика сбора анализов с конъюнктивы	22
Методика культивирования на питательной среде	25
Масс-спектрометрия	31
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	33
Сбор клинических материалов	33
Результаты культивирования	34
Результаты масс-спектрометрии	39
ВЫВОДЫ.....	47
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	47
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	50

ВВЕДЕНИЕ

Микробиота представляет собой сообщество микроорганизмов, состоящие из бактерий, вирусов, грибов и археи. Они населяют различные участки организма человека, играют ключевую роль в поддержание здоровья человека, участвуют в метаболизме, в регулирование иммунной системы, участвуют в процессе синтеза витаминов, а также в развитие заболеваний. Давно известно, что микробиота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) регулирует гомеостаз пищеварительной системы. Коррекция микробиоты ЖКТ широко используются в современной медицине. Также существует множество исследований микробиоты ротовой полости, дыхательных путей и половых. Однако меньшее внимание уделяется поверхности глаза, которая тоже имеет свою собственную микробиоту.

Поверхность глаза уязвимое место в нашем организме от загрязнений различными микроорганизмами, так как постоянно подвергается воздействию внешней среды. Несмотря на то, что некоторые микроорганизмы находятся в постоянном контакте с эпителиальными клетками роговицы и конъюнктивы, воспалительной реакции у здоровых людей не происходит, что говорит о врожденном иммунитете эпителия поверхности глаза и о наличие различных защитных противомикробных механизмов, как, например, бактериостатическая слезная жидкость, процесс моргания и др.

Изменения состава микробиоты происходят при заболеваниях глазной поверхности, таких как блефарит, конъюнктивит, кератит,uveitis синдром сухого глаза, возрастная макулярная дегенерация, диабетическая ретинопатия, глаукома, миопия и др.

В настоящее время отсутствует четкие критерии при описании характеристики нормы микробиоты глаза (в т.ч. какие его колебания нужно считать нормальными в течение жизни, а какие нет), недостаточно

полно исследованы особенности и влияние состава микроорганизмов на иммунитет и организм в целом, а также зависимость ее от пола, возраста, особенностей проживания человека и т.д. Ответы на указанные вопросы дадут только результаты дальнейших исследований микробиома глаза.

Цель дипломной работы: изучить микробиоту глазной поверхности в норме и при различных офтальмологических заболеваниях.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Проведение бактериологического исследования мазков с поверхности конъюнктивы здоровых людей и людей с различной офтальмопатологией;
2. Сравнить видовой состав микробиоты поверхности конъюнктивы здоровых людей с людьми с офтальмопатологией;
3. Выявить связь изменений микробиоты глазной поверхности с офтальмологическими заболеваниями.

Научная новизна

Исследование микробиоты глазной поверхности открывает новые горизонты в понимании офтальмологических заболеваний, устанавливая корреляцию между изменениями микробного состава и развитием конкретных патологий. Анализ микробного ландшафта позволил выявить не только известные, но и нетипичные микроорганизмы, которые могут оказывать влияние на здоровье глаз. Обнаружение не ассоциированных ранее с глазными болезнями, расширяет знания о микробном разнообразии и его влиянии на офтальмопатологии.

Практическая новизна

Полученные данные ценны, поскольку расширяют понимание механизмов возникновения заболеваний и создания новых методик диагностики и лечения, учитывающий индивидуальный состав микробиоты пациента. Это позволит разрабатывать персонализированные методы терапии, направленные на коррекцию микробного баланса, что

может значительно повысить эффективность лечения и профилактики заболеваний глаз. Такой подход соответствует современному вектору развития медицины «Концепция 4П».

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Актуальность

Первое исследование нормальной микробиоты поверхности глаза с помощью современных методов идентификации микроорганизмов было проведено в 2007 году. До этого времени исследования проводились, основываясь на традиционных методах культивирования, но как известно, это не дает полной картины, так как некоторые бактерии требуют специфических условий для роста [24]. Культивирование дает приблизительную оценку разнообразия микроорганизмов. Виды, которые могут расти на питательных средах показывают только маленькую часть популяций в образцах. Например, во многих опубликованных исследованиях имеются различия в типах и плотности микроорганизмов, которые могут быть культивированы с поверхности глаза. Это говорит о том, что на микробиоту поверхности глаза уделено недостаточно внимания исследователей.

Тем временем, большинство людей, обратившихся за медицинской помощью из-за внезапного "синдрома красного глаза", страдают от глазных инфекций. Воспалительные заболевания глаз являются одними из самых распространенных заболеваний. В Российской Федерации примерно 16 миллионов человек обращаются за помощью из-за этого каждый год. Эти заболевания могут привести к временной нетрудоспособности до 80%, госпитализации до 50%, а также слепоте до 10-30% случаев [5].

Заболевания связанные с воспалением роговицы представляет собой большую проблему во всем мире, так как рост заболевания кератитом растет с каждым годом. Так по данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), слепота из-за инфекционного воспаления роговицы, вызванное кератитом, занимает 4 место причиной непрозрачности роговицы. Это связано с тем, что роговица подвергается физическим, химическим и механическим факторов внешней среды, а также находится под постоянным влиянию биологических факторов [11].

По статистики, в большинстве регионов России воспалительные заболевания глаз занимают второе место после проблем со зрением. Доля таких заболеваний составляет от 27% до 64% всех случаев обращений за медицинской помощью. Самыми распространенными формами являются конъюнктивиты (до 60%) и кератиты (10%). Борьба с проблемой потери зрения из-за воспалений глаз и роговицы - одно из главных направлений работы офтальмологов в России [1].

Что касается Республике Башкортостан, динамика воспалительных заболеваний за 2001-2013 годы показало, что инфекционное заболевания глаз занимают второе место по частоте обращений в офтальмологию, причем преобладание конъюнктивитов в составе заболеваний составляет в среднем 52,7%. За период с 2001 по 2013 годы отмечался рост вирусных инфекций конъюнктивы, а также существенный увеличение кератитов вирусной природы. Заболевания роговицы статистически увеличились в структуре первичной инвалидности с 2013 года. Данные явно указывают на увеличение числа инвалидов из-за роговичной и увеальной патологии и требуют разработки программ по уменьшению потери зрения от этих болезней [1].

Самым распространенным типом глазной инфекции является конъюнктивит, а самым серьезным - поражения роговицы и внутренних оболочек глаза. Количество больных с конъюнктивитом составляет 66,7%, с блефаритами - 23,3%. Кератиты встречаются у 4,2% пациентов. Однако именно эти заболевания могут привести к потере зрения, хоть и в разной степени [6].

Из этих данных можно сделать вывод, что глазные инфекции и воспалительные заболевания глаз являются серьезной проблемой, которая приводит к значительному числу обращений за медицинской помощью и временной нетрудоспособности. Исследования микробиоты поверхности глаза показывают, что существует недостаточно внимания к данной проблеме, особенно в контексте использования более современных

методов идентификации микроорганизмов. Повышение числа случаев воспалений роговицы и увеличение кератитов вирусной природы также указывает на необходимость разработки программ для предотвращения потери зрения и инвалидности, связанных с этими заболеваниями. Борьба с глазными инфекциями и воспалениями, особенно конъюнктивитами и кератитами, является важным направлением работы офтальмологов во всем мире и особенно в России.

Анатомия поверхности глаза

Глаз — это орган зрения, основной функцией которого является преобразование зрительных стимулов в нервные импульсы, передаваемые в мозг для формирования изображения. Глаз состоит из глазного яблока и зрительного нерва, также отдельно выделяют вспомогательный аппарат, который состоит из: век, конъюнктивы, слезного аппарата, мышц глазного яблока и костную орбиту.

Глаз состоит из трех основных оболочек: фиброзной, сосудистой (uveальная) и внутренний нервный слой (сетчатка). Склера — это внешняя оболочка глаза, состоящая из плотной соединительной ткани, поддерживающая форму и защищающая от повреждений. Увеа — средний слой, содержащий кровеносные сосуды и участвующий в трофики глаза и процессах аккомодации. Сетчатка — это внутренний слой фоторецепторных клеток, преобразующих световые волны в электрические сигналы для мозга.

Разберем подробнее анатомию «глазной щели», которая образована роговицей, конъюнктивой и веками.

Прозрачная роговица составляет 1/6 фиброзной оболочки глаза, которая вместе с конъюнктивой образует заднюю стенку глазной щели. Наружную фиброзную оболочку глаза, которая состоит из двух частей. 5/6 задней части оболочки занимает склеру — непрозрачная белая коллагеновая структура.

Роговица состоит из 5 слоев:

- Плоский многослойный неороговевающий эпителий — является продолжением эпителия конъюнктивы;
- Боуменовая мембрана, связана с базальным слоем эпителия роговицы. Бесструктурная, ацеллюлярная, неэластичная, гомогенная, не способна к регенерации;
- Строма — занимает большую часть, сливается с боуменовой оболочкой, представлена толстым слоем коллагена с фибробластными клетками (кератоциты);
- Десцеметовая оболочка — находится под стромой, ацеллюлярная эластичная, гомогенная мембрана, способная к регенерации;
- Эндотелий — является внутренней частью роговицы и омывается внутриглазной жидкостью. Состоит из монослоя плоских клеток, которые с помощью цитоплазматических выростов прикреплены к базальной мембране.

Конъюнктива — это эпителиальный покров внутренней поверхности век и переднего отдела глазного яблока.

Наружную стенку глазной щели составляю веки. В них выделяют 4 слоя:

- Кожный;
- Мышечный;
- Хрящевой;
- Конъюнктивальный.

Слезная железа расположена под верхним веком в углу глазницы. Разделена на две части: орбитальный (верхний) - не виден при вывороте верхнего века, пальпебральный (нижний) - видимый при вывороте верхнего века.

Слеза — это жидкость, состоящая из: 97,8% воды и только 2% составляют белок (Муцин?), липиды? мочевина, сахар, натрий, калий,

хлор, гистаминоактивная субстанция, сиаловая кислота и фермент лизоцим (обладает бактериостатическим действием).

Анатомия глаза представляет сложный орган, состоящий из нескольких оболочек и элементов, каждый из которых выполняет свою функцию для обеспечения зрительного процесса. Анатомия глаза включает в себя роговицу, склеру, увеа и сетчатку, а также вспомогательные структуры, такие как конъюнктивы, веки и слезный аппарат. Каждая часть глаза имеет свою структуру и функцию, необходимую для сохранения зрительной способности.

Методы лабораторной диагностики глазной поверхности

Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний глаз представляет собой комплексное исследование, включающее различные методы для точного определения возбудителей заболеваний и выбора оптимального лечения. Важно, что материал для исследования с поверхности глаз может брать только врач офтальмолог.

Диагностика вирусных инфекций:

Материал для диагностики вирусных инфекций получают с помощью соскобов с поверхности роговицы и конъюнктивы, и содержание передней камеры глаза. Диагностику вирусных инфекций можно поделить на прямой и непрямой метод. Прямой метод диагностики основан на обнаружение вирусных антигенов или вирусную нуклеиновую кислоту. Плюс прямого метода в том, что он не занимает большое количество времени, в среднем 2-24 часа. Однако есть шанс получить ложноположительный или ложноотрицательный результат, поэтому нужно подтверждать ответ с помощью непрямого метода диагностики. В прямой метод диагностики входят такие методы как: Электронная микроскопия, иммуноферментный анализ, радиоиммунный анализ, полимеразная цепная реакция и метод иммуноблота.

Непрямой метод – это один из самых старых методов диагностики. Чтобы добиться точности в данном методе важно взять материал на ранних стадиях, что иногда бывает трудно [9].

Диагностика бактериальных инфекций:

Первым этапом для обнаружения микроорганизмов на слизистой оболочке является сбор материала, с помощью стерильных ватных тампонов, одноразовых и многоразовых микробиологических петель. Материал сразу же высевают на питательную среду и в течение 3-х часов передают в бактериологическую лабораторию. Чтобы выделить патогенные микроорганизмы в офтальмологии используют жидкие и плотные питательные среды такие как, тиогликоловый бульон и кровяной агар, Желточно-солевой агар, шоколадный агар и агар Сабуро. Метод микроскопии заключается в определение микроорганизма на слизистой оболочке глаза. Для данного метода используются различные красители, они бывают основные и кислые. Способы окрашивания тоже бывают разными, существуют простые (ориентировочные) и сложные (дифференциальные). Для определения антибиотикчувствительности чаще используют диско-диффузионный метод с использованием дисков, которые содержат определенное количество антибиотиков. Также используют метод Е-тестов, она представляет собой полоску с антибиотиком. Этот метод основан на диффузии антибиотиков в агар. В некоторых современных лабораториях используют автоматизированные системы для идентификации антибиотикчувствительности микроорганизмов с использованием готовых тест-систем [8].

Диагностика грибковых заболеваний:

При исследованиях грибковых заболеваний глаза чаще используют два метода, культуральный и микроскопический метод. Для культурального метода осуществляют посев исследуемого материала на селективные питательные среды: Сабуро, среда Чапика-Докса, хромогенный кандид-агар. Если есть рост, то производится идентификация

выделенной культуры. Микроскопический метод – это выявление микроорганизма в патологическом материале с помощью исследования окрашенных препаратов. Для окрашивания используют метиленовый синий или окраска по Грамму.

Поверхность глаза, как среда обитания микроорганизмов

В 1907 году Теодор Аксенфельд первый, кто ввел понятие о нормальной микрофлоры глаза, а первое описание микробиоты глазной поверхности с использованием культуральных методов для идентификации микроорганизмов появилось в 1930 году [12, 30]. Однако стоит упомянуть, что традиционные методы культивирования не позволяют показать все микроорганизмы, потому что существуют некультивируемые бактерии, поэтому сейчас в мире больше информации о нормальной микробиоте поверхности глаза полученных с помощью генетических методов исследования [21, 23, 29].

Состав микробиоты зависит от различных факторов, от пола, возраста и климатических условий, ношение контактных линз, также наличие травмы и хирургических вмешательств, снижение местного и общего иммунитета могут влиять на количественный и качественный состав микробиоты поверхности глаза [3, 45].

Различные бактериологические исследования конъюнктивальной поверхности показали, что микробиота конъюнктивы похожа на состав микробиоты лица, шеи, ушей, при условии, что не было каких-либо видимых клинических воспалений. Из этого можно сделать вывод, что при определенных условиях различные участки кожных покровов и слизистой оболочки глаза могут обмениваться между собой бактериальном составом. Непостоянный состав зависит от кокуренции, от процессов метаболизма и других факторов. Изучение нормальной микрофлоры конъюнктивы даст больше знаний о патогенезе инфекционных поражений глаза, а также об интерпретации результатов бактериологических исследований для лечений и профилактики [7].

В исследованиях микробиоты глаза, проведенных 2022 году, с использованием иммерсионной пробы и сканирующей электронной микроскопии, в которых приняло участие 22 добровольца, средний возраст которых составлял 23 (исключались лица младше 18 лет, с сопутствующими заболеваниями (сахарный диабет, гипертония), с синдромом сухого глаза, воспалительными и дистрофическими заболеваниями глаза, общими заболеваниями, а также использовавшие антибиотики за 2 недели до исследования) года были получены следующие результаты: в большинстве проб (16 из 22) помимо клеток эпителия визуализировали коккоморфные, палочковидные или грибоподобные микроорганизмы. Коккоморфные и палочковидные микроорганизмы обнаруживались с примерно одинаковой частотой. Однако в шести пробах не удалось идентифицировать микроорганизмы. Это исследование не подтверждает преобладание ни коккоморфных бактерий, как указывают культурные данные, ни палочковидных бактерий, как показывает метагеномное секвенирование. При использовании метода импрессионной пробы на сканирующем электронном микроскопе с лантаноидным контрастированием обнаружено примерно одинаковое количество коккоморфных и палочковидных организмов. С помощью новой методики удалось впервые быстро и детально изучить клеточную и макробиотическую составляющую глазного поверхностного слоя. Исследователи смогли показать разнообразие микроорганизмов на глазной поверхности и их распределение относительно клеток поверхности. Их результаты совпали с данными других исследований, проведенных с использованием других методов. Они обнаружили, что "визуальный" метод позволяет обнаружить бактерии с такой же эффективностью, как и метод культивирования (менее 80%). Кокковидные и палочковидные микроорганизмы обнаруживались примерно одинаково часто, причем кокковидные чаще всего ассоциировались с клетками поверхности [10].

В другой статье 2016 года для определения нормальной микробиомы конъюнктивы использовали технологию секвенирование Illumina (MiSeq Illumina Sequencing Platform) для секвенирования гипервариабельной области 16S рДНК V3–V4 всех бактерий в образцах мазка из конъюнктивы. Образцы были собраны у здоровых людей в Шаньдунском глазном институте, у которых не было заболеваний глазной поверхности, сетчатки или травмы глаза, также они не использовали глазные капли с антибиотиками в течение 6 месяцев. Всего у них получилось собрать 31 образец ДНК (16 мужчин и 15 женщин), в возрасте с диапазоном 41-84 года. Были идентифицированы 526 родов бактерий. Обнаружено, что основной набор микроорганизмов на поверхности глаза состоит из *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Streptococcus*, *Millisia*, *Anaerococcus*, *Finegoldia*, *Simonsiella* и *Veillonella*. Из проведенного исследования можно сделать вывод, что нормальная микробиома конъюнктивы у здоровых людей включает в себя разнообразное сообщество бактерий [29].

В другом их исследование было идентифицировано 14 родов бактерий в 135 образцах, собранных у здоровых людей, с использованием культур пластинок крови. Результат показал, что общая положительная частота посевов составила 66,7%, то есть 90 из 135. 58,5% составили грамположительные бактерии, включая *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Enterococcus faecalis*. При этом доля грамотрицательных бактерий составила 8,1%, иначе говоря 11 из 135 [28].

Эти результаты могут служить основой для дальнейших исследований потенциальной роли микробиоты в возникновении заболеваний, связанных с глазной поверхностью. Кроме того, участие лиц различных полов и возрастных категорий позволяет сделать вывод о наличии определенной стабильности и консистентности микробиомы конъюнктивы у здоровых людей.

Китайское исследование, проведенное в 2023 году, также показало значительные различия в составе бактериальной популяции в зависимости от метода сбора образцов. Цель данного исследования было узнать различаются ли бактериальной состав глазной поверхности, обнаруженные двумя различными методами отбора проб, и изучить возможность использования слезной бумаги вместо конъюнктивальных мазков для микробиологического исследования поверхности глаза. Всего было собрано 158 образцов с правого и левого глаза у людей пожилого возраста, старше 60 лет. Также они разделили пациентов на страдающих сахарным диабетом их было 79 и недиабетических, их также было 79. Также стоит отметить, что заболеваниями глаз никто из пациентов не страдал. Проанализировали состав бактериальных сообществ в образцах слезной бумаги и конъюнктивальных мазков с помощью высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК. Обнаружено, что в группе с сахарным диабетом преобладали *Proteobacteria*, в то время как *Actinobacteria* были менее распространены. Также выявлено, что некоторые виды бактерий были более распространены на слезной бумаге у пациентов с сахарным диабетом и без него по сравнению с конъюнктивальными мазками. При более детальном анализе на уровне рода обнаружено, что количество определенных родов бактерий различалось между группами с сахарным диабетом и без него. Например, уровень *Corynebacterium* был ниже у пациентов с сахарным диабетом, в то время как уровень *Curvibacter* был выше. Количество некоторых бактерий на слезной бумаге было выше, чем на конъюнктивальных мазках, как в группе с сахарным диабетом, так и без него. Исследование также показало, что разнообразие микроорганизмов на поверхности глаз не различалось значительно между группами с сахарным диабетом при использовании слезной бумаги и конъюнктивальных мазков. Однако в группе без сахарного диабета были обнаружены значимые различия в разнообразии

микроорганизмов между использованием слезной бумаги и конъюнктивальных мазков.

Два различных метода сбора образцов микробов с поверхности глаз — использование слезной бумаги и взятие конъюнктивальных мазков — позволяют выявить различия в составе микроорганизмов. Однако использование только слезной бумаги для анализа не может полностью заменить конъюнктивальные мазки при изучении микробов, связанных с заболеваниями поверхности глаза.

Шаберайтер-Гертнер и Грэм были пионерами в использовании методов, не зависящих от культуры, для изучения бактериальной популяции на поверхности глаза [24]. В 2011 году Донг и соавторы впервые применили секвенирование ампликона 16S рРНК для исследования микробиома глаза. Исследование выявило преобладание *Proteobacteria*, *Acinetobacter* и *Firmicutes* на поверхности глаза. Несколько родов, таких как *Pseudomonas*, *Propionibacterium*, *Bradyrhizobium*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter* и другие, были обнаружены у всех добровольцев [22]. Другие исследования также показали разнообразие микроорганизмов на поверхности глаза, включая обнаружение рода *Pseudomonas* у всех участников [26, 28, 48].

Озкан и коллеги провели исследование, в котором изучали стабильность микробиома на поверхности глаза у 43 участников в течение трех месяцев. Они выделили 183 операционные таксономические единицы (OTE), из которых более 90% были отнесены к *Proteobacteria*, *Firmicutes* или *Acinetobacter*. Род *Corynebacterium* был самым распространенным. Исследование показало, что ни одна ОТЕ не была обнаружена у всех участников одновременно. Было предложено понятие персонализированного микробиома глаза, так как определенные ОТЕ были постоянно присутствующими у участников в течение трех месяцев [41].

Также в 2020 году была опубликована статья, где обобщают знания об исследованиях микробиоты глазной поверхности, особый акцент они уделили данным, полученные с применением культурально-независимого секвенирования ампликона 16S рРНК и метагеномного секвенирования (также известного как секвенирование всего генома или секвенирование дробовика). Вывод исследования был, что в норме на поверхности глаза чаще встречаются такие бактерии как: *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* [20].

Из опубликованных доступных статьях по микробоме глазной поверхности, данные которых были получены с помощью секвенирования 16S рРНК, у пациентов старше 18 лет, без заболевания глаза и не носящие линзы, то преобладающими типами бактерий на поверхности глаз являются *Proteobacteria* и *Actinobacteria* [21, 22, 23, 26, 28, 34]. Данные из Австралии показали некоторые различия, так как *Actinobacteria* были менее распространены (9%), а *Firmicutes* составляли большую часть (36%) [41]. В целом, *Cyanobacteria* обнаруживались лишь в небольших количествах. При анализе данных участников моложе 18 лет, *Proteobacteria* и *Actinobacteria* также были наиболее распространенными типами [13, 15, 16, 46]. Различия в составе микробиома глаз между взрослыми и несовершеннолетними не оказались статистически значимыми.

Также в 2020 году была опубликованная статья, где обобщают знания об исследованиях микробиоты глазной поверхности, особый акцент они уделили данным, полученные с применением культурально-независимого секвенирования ампликона 16S рРНК и метагеномного секвенирования (также известного как секвенирование всего генома или секвенирование дробовика) [20]. Из исследуемых ими статей выяснилось, что на поверхности глаза *Corynebacterium* был обнаружен во всех изученных исследованиях. Далее по встречаемости идут *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*.

Из проведенного анализа доступных статей по микробиоте глазной поверхности у взрослых пациентов без заболеваний глаза и не носящих линзы можно сделать вывод, что разные способы изучения бактериального сообщества глазной поверхности дают различные представления о преобладающих микроорганизмах. Культуральные методы указывают на преобладание коккоморфных бактерий, включая стафилококковые. Согласно культурным данным, нормальная глазная поверхность микрофлора обычно состоит из *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* и *Micrococcus*. С другой стороны, метагеномное секвенирование выявляет преобладание палочковидных бактерий. Анализ метагеномных данных указывает на присутствие *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* и возможно *Bacillus* как основных представителей микрофлоры глазной поверхности. В настоящее время важно дальнейшее изучение влияния факторов хозяина, таких как возраст и пол, на состав микробиома поверхности глаз, поскольку эти аспекты остаются предметом дискуссий в исследованиях данной области.

Влияние заболеваний глазной поверхности на микробиом глаза Болезнь сухого глаза

У пациентов с синдромом сухого глаза (ССГ) встречаются такие бактерии как: *Bacteroidia*, *Bacteroidetes*. Однако содержание *Pseudomonadaceae*, *Pseudomonas*, *Gammaproteobacteria*, *Proteobacteria* низкое [31].

Сегодня ССГ встречается у 50% людей, обратившихся к специалисту. В России патология выявлена у 60% пациентов старше 50 лет, а в возрасте до 40 лет диагностирована в 12% случаев. С каждым годом ситуация не становится лучше, а распространённость этой болезни увеличивается не только в России, но и по всему миру [9].

Синдром сухого глаза является одними из наиболее распространенных причин обращения к офтальмологу. Симптомы

синдрома сухого глаза варьируются от ощущения сухости, раздражения, покраснения и выделений до помутнения зрения и легкой утомляемости глаз. Они могут проявляться как незначительные и временные, так и серьезные и постоянные. Это состояние может привести к ухудшению зрения, нестабильности слезной пленки, повышенному риску повреждения глазной поверхности и т.д [25].

Болезнь мейбомиевых желез

У пациентов с дисфункцией мейбомиевой железы (ДМЖ) на уровне типа в большом количестве встречаются *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. На уровне рода были выявлены *Staphylococcus*, *Sphingomonas* *Corynebacterium* и *Staphylococcus* [23].

ДМЖ – главная причина синдрома сухого глаза и присутствует при всех формах блефарита. Это состояние встречается у 60-85% жителей городов. С каждым годом пациентов с данной болезнью становится больше, это связывают с ухудшением экологической ситуацией, повсеместное и частое использование гаджетов, активное применение косметических процедур в области вокруг глаз [4].

Обычно у пациентов с ДМЖ проявляются симптомы, которые подходят для сухости глаз. Больные жалуются на дискомфорт (описывают ощущения «песка в глазах»), сильно моргать, глаза быстро устают. Иногда слипаются веки или краснеют глаза после пробуждения. Также у пациентов с ДМЖ появляются пятна на роговице или на конъюнктиве, эти симптомы типичны для сухости глаз.

Блефарит

У пациентов с блефаритом чаще встречаются бактериальные сообщества *Staphylococcus*, *Streptophyta*, *Corynebacterium* и *Enhydrobacter* [34]

Перспективы исследования

Изучение микробиоты поверхности глаза позволяет понять, как микробиота влияет на здоровье глаза и может ли она быть связана с

развитием заболеваний. Также разработка новых методов лечения. Анализ микробиоты глаза может привести к разработке новых методов лечения глазных заболеваний, основанных на воздействии на состав микробиоты. Исследования микробиоты глаза могут способствовать развитию подходов к лечению, основанных на индивидуальных характеристиках микробиоты конкретного пациента. Изучение микробиоты поверхности глаза представляет огромный потенциал для улучшения диагностики, лечения и профилактики глазных заболеваний. С развитием технологий секвенирования и анализа данных мы можем расширить наше знание об этой малоисследованной области и открыть новые возможности для медицины

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические материалы

В качестве метода получения клинического материала был выбран метод смыва, производимый с поверхности глаза (конъюнктивы). Для взятия смывов с поверхности глаза используется специальный набор для сбора образцов: стерильный ватный тампон и пробирка с транспортной средой (тиогликоловая среда). Врач-офтальмолог брал ватный тампон для сбора образца, аккуратно прикладывал его к поверхности конъюнктивы, затем полученный образец помещал в пробирку с тиогликоловой средой для транспортировки в лабораторию для дальнейшего исследования. У пациентов, не имеющих на момент проведения забора материала глазных патологий, мазки брали с двух глаз, тогда как у пациентов, у которых присутствует патология, мазок брали с пораженного глаза.

Пациентов разделили на две группы: контрольную и рабочую группу с патологией. Стоит отметить, что все пациенты достигли возраста совершеннолетия и дали письменное соглашение на принятия участия в исследовании. Каждый пациент заполнил анкету клинического исследования, в которой было указано ФИО, пол, наличие или отсутствие офтальмопатологии (основной диагноз), список используемых препаратов, если на момент сбора анализов проводится лечение глазного заболевания, также был собран анамнез всех людей, согласившихся на исследование.

Первая группа пациентов (контрольная) – это люди, которые не имеют глазных заболеваний, не носят контактные линзы, а также не принимающие курс антибиотикотерапии. Итого:

1. Общее количество контрольной группы составило 12 человек;
2. Общее количество образцов составило 30.

Вторая группа пациентов (рабочая) – это люди, страдающие глазными патологиями. Для удобства статического анализа мы разделили их на подгруппы, в зависимости от типа их заболевания: кератит, конъюнктивит, миопия. Итого:

1. Общее число рабочей группы составило 30 человек;
2. Общее количество образцов составило 30;
3. С кератитом составило 10 человек, 10 образцов;
4. С конъюнктивитом 10 человек, 10 образцов;
5. С миопией 10 человек, 10 образцов.

Методы исследования

1. Сбор клинического материала у здоровых людей и с заболеваниями глаза;
2. Метод культурального посева на питательные среды, получение чистых культур бактерий.
3. Идентификация чистых культур полученных штаммов методом масс-спектрометрии
4. Анализ полученных данных.

Методика сбора анализов с конъюнктивы

Перед взятием анализа нужно подготовить транспортную среду. В нашем случае мы использовали универсальную Тиогликоловую среду. Транспортная Тиогликоловая среда подходит для сохранения микроорганизмов, обитающих на поверхности глаза на протяжении периода транспортировки до момента исследований в лаборатории.



Рисунок 1. Питательная среда Тиогликолевая ФБУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и
биотехнологии

Набор реагентов представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

1. Панкреатический гидролизат казеина неглубокой степени расщепления сухой – 15,0
2. Дрожжевой экстракт – 5,0
3. Натрия хлорид – 2,5
4. Д-глюкоза – 5,0
5. Натрия тиогликолят – 0,5
6. Натрий углекислый – 0,8 ±0,2
7. Цистеина гидрохлорид – 0,75
8. Агар микробиологический – 0,75

Этапы приготовление Тиогликолевой среды:

1. Мы растворили 31,0 г препарата в 1 л дистиллированной воды;
2. Прокипятили смесь в течение 2 минут;

3. При необходимости добавьте в горячую среду 0,5 г тиогликолята натрия или 0,3 мл тиогликолевой кислоты;
4. Профильтровали полученную смесь через бумажный фильтр;
5. Разливайте готовую среду в стерильные емкости;
6. Стерилизовали среду при температуре 121°C в автоклаве в течение 15 минут;
7. Убедились, что готовая среда имеет pH 7,0 с помощью лакмусовой бумаги.

После приготовления транспортной Тиогликолевой среды, охладили ее до комнатной температуры перед использованием. Готовая среда имела желтоватый цвет. Готовую среду можно использовать в течение 14 суток при условии хранения при температуре от 2 до 8 °C. Также в наличии обязательно должны быть одноразовые стерильные ватные тампоны для забора материала для исследования.

Важно отметить, что всю работу с глазами пациентов проводил врач-офтальмолог в стерильных условиях на базе Всероссийского центра глазной и пластической хирургии – Аллоплант. Врач с помощью тампона протер внутреннюю поверхность нижнего века и поместил тампон в транспортную питательную среду. В случае если у пациента обнаруживалась глазная патология, то принято брать материал на исследования сначала с менее повреждённого глаза. Все пациенты, принимавшие участие в исследовательской работе, были проинформированы и также дали своё письменное соглашение на участие в эксперименте. Каждому пациенту был присвоен номер для удобства статистического анализа.

Все полученные материалы были доставлены в бактериологическую лабораторию, в которой осуществлялось культивирование на питательных средах.

Методика культивирования на питательной среде

Культивирование микроорганизмов – это метод размножения микроорганизмов в определенной питательной среде и в контролируемых лабораторных условиях. Для культивирования микроорганизмов используются различные по составу питательные среды, в которых должны содержаться все вещества, необходимые для роста.

Питательные среды в микробиологии используется для выращивания микроорганизмов в лабораторных условиях. В зависимости от назначения питательную среду делят на универсальные и специальные.

Универсальные среды общего назначения, используются для выращивания многих видов бактерий, также применяются как основа для специальных питательных сред. В свою очередь, специальные среды применяются для получения тех бактерий, которые плохо или совсем не растут на универсальных питательных средах.

Питательные среды для культивирования микроорганизмов делятся также на селективные и элективные. Селективные среды специально созданы для стимулирования роста определенных видов микроорганизмов, а также для подавления роста других видов. Они содержат добавки, такие как антибиотики, кислоты или другие ингредиенты, которые ингибируют рост определенных микроорганизмов, в то время как специфические питательные компоненты поощряют рост желаемых организмов. Элективные среды, в свою очередь, предназначены для создания таких условий, при которых только определенные виды микроорганизмов могут проявить свои уникальные характеристики или особенности. Они содержат специфические компоненты, которые обеспечивают оптимальное окружение для роста конкретных микроорганизмов, но не обязательно подавляют рост других организмов.

Иначе говоря, основное различие между селективными и элективными питательными средами заключается в том, что селективные среды подавляют рост нежелательных микроорганизмов, тогда как

элективные среды создают условия для специфического роста определенных микроорганизмов без подавления других.

В наших исследованиях были использованы такие питательные среды, как Сабуро (Sabouraud Agar), Желчно-солевой агар, Кровяной агар, среда Эндо.

1. Среда Сабуро (Рис. 2)

Среда Сабуро представляет собой желтовато-розоватый агар, содержащий пептон, глюкозу и агар-агар. Пептон необходим для роста микроорганизмов, а глюкоза служит для них источником углерода. Сабуро обладает низким уровнем pH (обычно около 5,6), что способствует ингибированию роста бактерий, но одновременно способствует развитию грибков. Она содержит добавки, такие как хлорамфеникол и цефалексин, которые ингибируют рост бактерий. Это обеспечивает оптимальные условия для развития микроскопических грибов и дрожжей.



Рисунок 2. Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро) производства
ФБУН Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии

2. Желчно-солевой агар (Рис. 3)

Желчно-солевой агар (ЖСА) – это селективная и дифференциальная среда, используемая для выращивания и диагностики грамотрицательных бактерий, таких как стафилококки и стрептококки. В состав среды входят пептон, желчные соли, которые делают среду селективной, подавляя рост грамположительных бактерий, лактоза, которая необходима для дифференциации бактерий по их способности к метаболизму лактозы, пикроиндиокармин и агар.

Благодаря наличию желчных солей, ЖСА ингибирует рост грамположительных бактерий, что делает ее селективной для грамотрицательных микроорганизмов. Лактозоположительные бактерии производят кислоты и газы в результате ферментации лактозы, что приводит к образованию колоний с характерным цветом (обычно красно-розовым), в то время как лактозоотрицательные бактерии образуют колонии без изменения цвета или сине-зеленого цвета.



Рисунок 3. Питательная среда для выделения стафилококков сухая (Солевой агар - М) производства НПО «Микроген»

3. Кровяной агар (Рис. 4)

Питательная среда Кровяной агар используется для культивирования и дифференциации различных микроорганизмов, особенно для изоляции и идентификации бактерий, которые способны вызывать гемолиз (разрушение красных кровяных клеток). Кровяной агар относится к дифференциальным питательным средам. В состав питательной среды входят такие основные компоненты как агар-агар, пептон, экстракт телячей или овечьей крови: добавляется для демонстрации гемолитических свойств бактерий, натрий хлорид: (регулирует осмотическое давление среды).

На Кровяном агаре культивируются различные микроорганизмы, включая различные виды стрептококков и стафилококков. Эти микроорганизмы могут проявлять различные типы гемолиза на питательной среде, что позволяет проводить их дифференциацию на основе их воздействия на эритроциты. Например, альфа-гемолитические бактерии вызывают частичное разрушение эритроцитов, что приводит к образованию зеленоватых зон вокруг колоний, а бета-гемолитические бактерии вызывают полное разрушение эритроцитов и образуют ярко окрашенные зоны вокруг колоний на питательной среде.



Рисунок 4. Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГМ-Ф-АГАР) производства ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

4. Среда Эндо (Рис. 5)

Среда Эндо – это селективная и дифференциальной среда, используемая для выращивания и диагностики грамотрицательных бактерий, особенно колiformных бактерий. Среды Эндо используется для выявления и различия микроорганизмов, таких как *E.coli* и других энтеробактерий, основываясь на их метаболических характеристиках – их способности ферментировать лактозу. Среда Эндо содержит следующие компоненты: пептон, лактоза, динатрия фосфат, кислотный фуксин, служащий для дифференциации между лактозоположительными и лактозоотрицательными бактериями, а также литий и сульфид натрия (дополнительные компоненты, помогающие в дифференциации бактерий).



Рисунок 5. Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар Эндо-ГРМ) производства ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

После приготовление питательных сред идет процесс бактериологического посева образцов с поверхности глаза на твердую питательную среду в чашке Петри с использованием бактериологической петли. Чашку нужно взять в левую руку, поддерживая дно одной стороной с помощью указательного (I) и среднего (II) пальцев, а другой стороной - безымянным (IV) и мизинцем (V). Крышку чашки Петри надо слегка приоткрыть, чтобы обеспечить доступ для петли, фиксируя указательным (I) и средним (II) или указательным (I) и безымянным (III) пальцами. Взятие образца происходит так: небольшое количество образца втирают в поверхность питательной среды у края чаши с помощью бактериальной петли. Линию инокуляции начинают с места, где находится образец. Бактериальную петлю кладут плоско на питательную среду, чтобы избежать царапин, и проводят движения по всей среде или по секторам, предварительно разделив дно чаши на равные части. Важно не допустить контаминацию, а также способствуют равномерному

распределению микроорганизмов по поверхности питательной среды. После проведения штрихов чашку закрывают и наносят надпись с номером образца, а затем помещают в термостат крышкой вниз.

Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия – это метод анализа веществ, который основан на измерении массы и заряда ионов, образующихся при ионизации компонентов образца.

Метод масс-спектрометрии активно применяется в бактериологических лабораториях для идентификации микроорганизмов в точности до вида. MALDI-TOF MS — техника, которая используется для создания ионов из больших биологических молекул (например, пептидов, белков, ДНК) при помощи лазерного воздействия на специальное вещество, называемое матрицей. Полученные ионы затем разделяются в анализаторе на основе различной скорости движения, обратно пропорциональной массе иона. Путем изучения пути, который каждый ион проходит от точки ионизации до детектора, а также времени этого процесса, можно определить скорость движения иона и отношение его массы к заряду (m/z). Использование чистой культуры микроорганизма или его экстрактов позволяет получить уникальный спектр, который характерен для конкретного таксономического уровня — рода, вида или даже штамма. Путем анализа полученного спектра с помощью специальных программных инструментов биоинформатики можно определить и идентифицировать изучаемый микроорганизм в чистой культуре или в смешанных культурах.

Идентификация микроорганизмов основана на сравнении их масс-спектров с референсными спектрами, доступными в базах данных, предоставляемых производителями оборудования для MALDI-TOF MS. При совпадении спектров делается вывод о таксономической принадлежности микроорганизмов к определенной группе.

Процесс идентификации микроорганизмов на MALDI-TOF масс-спектрометре включает следующие этапы:

1. Нанесение образца, содержащего белки микроорганизмов, на специальную пластину, соответствующую конфигурации MALDI-TOF масс-спектрометра;
2. Обработка образца раствором матрицы для инкапсуляции белков микроорганизмов и последующего образования ионизированных пептидов при лазерном облучении;
3. Установка пластины с обработанным образцом в прибор MALDI-TOF масс-спектрометра;
4. Ввод информации о происхождении образца микроорганизма (например, идентификационный номер) в программное обеспечение управления масс-спектрометром;
5. Запуск процесса измерения и анализа полученных масс-спектров с использованием биоинформационических методов для определения таксономической принадлежности изучаемых микроорганизмов.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сбор клинических материалов

1. Общее количество людей принявшие участие в исследование составило 42 человек. Из них 30 пациентов с офтальмопатологией (2 группа) и 12 здоровых людей (1 группа). У людей с патологией мазки были взяты с пораженного глаза, у здоровых с правого и левого глаза;

2. У первой группы средний возраст составил 25 лет, из них 50% людей мужского пола и 50 % женского;

3. У второй группы средний возраст 28 лет, доля мужчин 47%, а женщин 53%;

4. Во второй группы 10 человек составило с диагнозом кератит, 10 пациентов с конъюнктивитом, и также 10 – миопия;

Таблица 1. Распределение контрольной группы по возрасту и полу

Контрольная группа	Возраст	Пол
1	28	муж.
2	22	жен.
3	25	жен.
4	23	жен.
5	23	жен.
6	25	муж.
7	25	жен.
8	25	муж.
9	25	жен.
10	31	муж.
11	24	муж.
12	24	муж.
Средний возраст	25	
Доля муж.	50%	
Доля жен.	50%	

Таблица 2. Распределение рабочей группы по полу, возрасту и заболеваниям.

Рабочая группа	Возраст	Пол	Заболевание
1	29	муж.	Кератит
2	24	жен.	Кератит
3	32	жен.	Кератит
4	25	жен.	Кератит
5	29	муж.	Кератит
6	22	жен.	Кератит
7	22	жен.	Кератит
8	36	жен.	Кератит
9	23	муж.	Кератит
10	25	муж.	Кератит
11	29	муж.	Конъюнктивит
12	28	муж.	Конъюнктивит
13	29	жен.	Конъюнктивит
14	29	муж.	Конъюнктивит
15	25	жен.	Конъюнктивит
16	35	муж.	Конъюнктивит
17	27	жен.	Конъюнктивит
18	23	муж.	Конъюнктивит
19	46	муж.	Конъюнктивит
20	27	жен.	Конъюнктивит
21	30	жен.	Миопия
22	21	жен.	Миопия
23	36	муж.	Миопия
24	25	муж.	Миопия
25	25	жен.	Миопия
26	28	муж.	Миопия
27	30	муж.	Миопия
28	22	жен.	Миопия
29	28	жен.	Миопия
30	32	жен.	Миопия
Средний возраст	28		
Доля муж.	47%		
Доля жен.	53%		

Результаты культивирования

Исследования бактериологический посев показал, что на поверхности глаза обитают следующие виды микроорганизмов:

1. *Staphylococcus epidermidis* (Рис. 6)

Круглые колонии, размером 1-2 мм, с ровными краями и белого цвета.

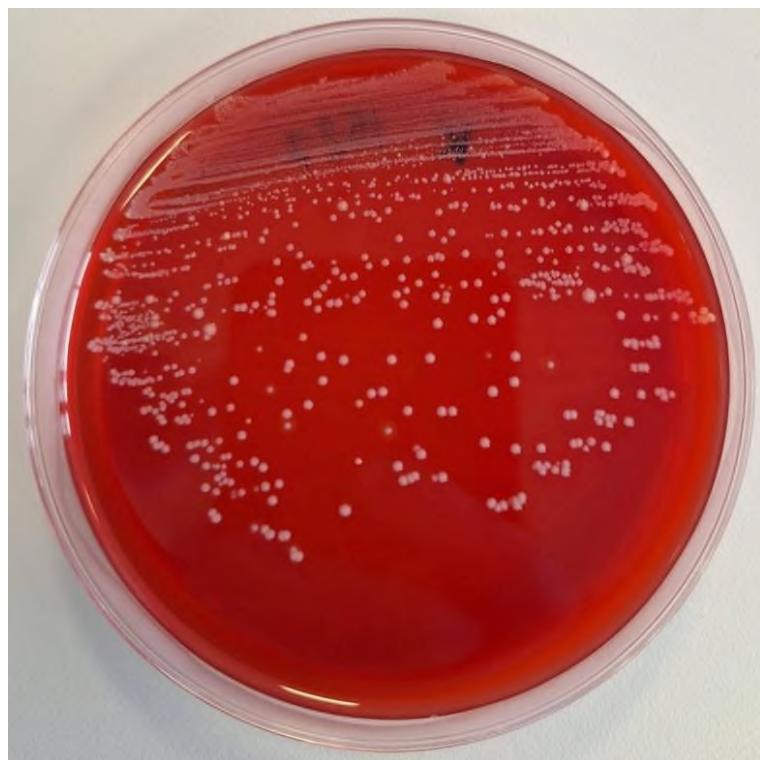


Рисунок 6. *S. epidermidis* на Кровяном агаре

2. *Staphylococcus aureus* (Рис 7.)

Формируют круглые колонии, размером 2-5 мм, также с ровными краями, белого либо лимонного цвета.

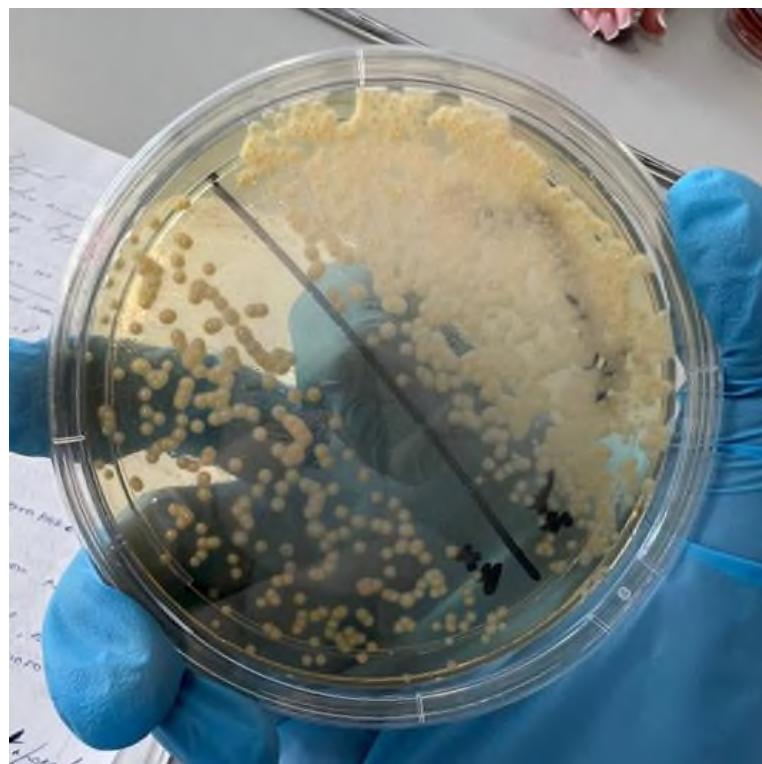


Рисунок 7. *S. aureus* на Желчно-солевой питательной агаровой среде

3. *Staphylococcus warneri* (Рис. 8)

Шарообразные, размером около 1 мм.



Рисунок 8. *S. warneri* на Кровяном агаре

4. *Staphylococcus hominis* (Рис. 9)

Круглые колонии, размером 1 мм. Колонии меньше, чем у *S. aureus*, белые реже слегка желтоватые, часто без гемолиза.



Рисунок 9. *S. hominis* на Желчно-солевой питательной агаровой среде

5. *Bacillus megaterium* (Рис 10.)

Колонии гладкие, непрозрачные, размером примерно 2 мм, выпуклые, белого цвета.



Рисунок 10. *B. megaterium* на Желчно-солевой питательной агаровой среде

6. *Escherichia coli* (Рис. 11)

Малиново-красные колонии с металлическим блеском



Рисунок 11. *E. Coli* на среде Эндо

7. *Klebsiella pneumoniae* (Рис. 12)

Образуют светло-розовые колонии, с металлическим блеском, слизистой консистенции.



Рисунок 12. *K. pneumoniae* на среде Эндо

Результаты масс-спектрометрии

В образцах контрольной группы были выделены чистые культуры *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri* (Рис. 13). У двух пациентов на правом глазу не наблюдалось роста бактерий, а у других двух людей не было роста вообще. По рисунку 13 видно, что у контрольной группы *Staphylococcus epidermidis* встречался чаще всего, а именно в 81% случаев. Но также был обнаружен *Staphylococcus warneri*, 19%.

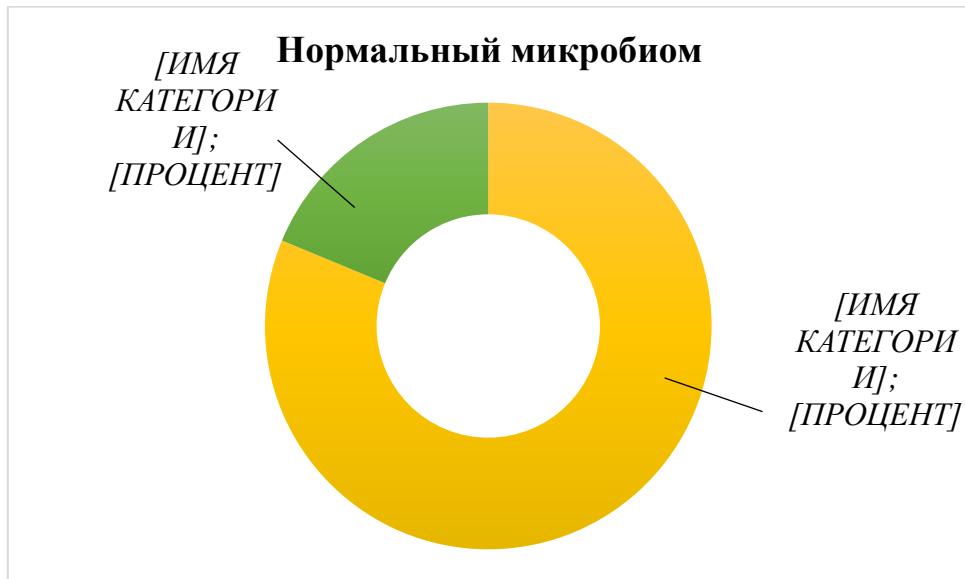


Рисунок 13. Результаты масс-спектрометрии контрольной группы

Все результаты бактериологического исследования отражены в таблице 3. Присутствие бактерий рода *Staphylococcus* на поверхности глаза может быть объяснено тем, что многие виды *Staphylococcus spp.* являются комменсалами человека, то есть они естественным образом обитают не только на коже и слизистых, но и на поверхности глаза. Поскольку *Staphylococcus spp.* имеет статус комменсала, это защищает их от иммунной системы хозяина и позволяет удерживаться на поверхности глаза. К тому же бактерии этого рода могут быстро размножаться, что позволяет им эффективно колонизировать поверхности, включая и глаза. Заняв экологическую нишу, которой выступает поверхность глаза, они, по-видимому, не позволяют активно размножаться другим микроорганизмам.

Эти факторы в совокупности обеспечивают высокую адаптированность и выживаемость *Staphylococcus* spp. на поверхности глаза, делая их одними из наиболее распространенных микроорганизмов в этой экологической нише.

Однако представители *Staphylococcus* spp. представленные не только в нормальной микробиоте глаза, но и в микробиоте глаза, подверженного патологии.

Таблица 3. Результаты у контрольной группы

Контрольная группа	Возраст	Пол	Бактерии (с правого и левого глаза)
1	28	муж.	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
2	22	жен.	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus warneri</i>
3	25	жен.	<i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
4	23	жен.	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
5	23	жен.	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
6	25	муж.	нет роста, <i>Staphylococcus epidermidis</i>
7	25	жен.	нет роста, <i>Staphylococcus epidermidis</i>
8	25	муж.	<i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
9	25	жен.	нет роста, нет роста
10	31	муж.	нет роста, <i>Staphylococcus epidermidis</i>
11	24	муж.	нет роста, нет роста
12	24	муж.	нет роста, <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Средний возраст	25		
Доля муж.	50%		
Доля жен.	50%		

В образцах рабочей группы в зависимости от заболевания были выделены чистые культуры бактерий указанные в таблице 4. По результатам при патологии также встречаются представители рода *Staphylococcus*. Данный факт показывает, что при определенных условиях таких как снижение иммунитета, *Staphylococcus* spp. может стать патогенным микроорганизмом

Таблица 4. Результаты бактериологического исследования мазков с поверхности конъюнктивы с различной офтальмопатологией

Рабочая группа	Возраст	Пол	Заболевание	Бактерии
1	29	муж.	Кератит	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2	24	жен.	Кератит	<i>Staphylococcus aureus, Bacillus megaterium</i>
3	32	жен.	Кератит	<i>Staphylococcus aureus</i>
4	25	жен.	Кератит	<i>Escherichia coli</i>
5	29	муж.	Кератит	<i>нет роста</i>
6	22	жен.	Кератит	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
7	22	жен.	Кератит	<i>нет роста</i>
8	36	жен.	Кератит	<i>Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus Hominis</i>
9	23	муж.	Кератит	<i>Staphylococcus epidermidis, Bacillus megaterium</i>
10	25	муж.	Кератит	<i>Staphylococcus epidermidis, Bacillus megaterium</i>
11	29	муж.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus hominis</i>
12	28	муж.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13	29	жен.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus hominis</i>
14	29	муж.	Конъюнктивит	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
15	25	жен.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
16	35	муж.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus aureus, Bacillus megaterium</i>
17	27	жен.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus aureus</i>
18	23	муж.	Конъюнктивит	<i>Escherichia coli</i>
19	46	муж.	Конъюнктивит	<i>Escherichia coli</i>
20	27	жен.	Конъюнктивит	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
21	30	жен.	Миопия	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
22	21	жен.	Миопия	<i>нет роста</i>
23	36	муж.	Миопия	<i>Staphylococcus epidermidis, Bacillus megaterium</i>
24	25	муж.	Миопия	<i>нет роста</i>
25	25	жен.	Миопия	<i>нет роста</i>
26	28	муж.	Миопия	<i>нет роста</i>
27	30	муж.	Миопия	<i>нет роста</i>
28	22	жен.	Миопия	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
29	28	жен.	Миопия	<i>нет роста</i>
30	32	жен.	Миопия	<i>Staphylococcus hominis</i>
Средний возраст	28			
Доля муж.	47%			
Доля жен.	53%			

Разберем отдельно пациентов в зависимости от их заболевания.

Кератит

Инфекционный кератит (ИК) или бактериальный кератит (БК) относится к группе заболеваний глаза, которые приводят к потере роговичного эпителия, воспалению роговицы или разрушению тканей. При повреждении тканей может произойти заражение вредоносными микроорганизмами. Без соответствующего лечения это заболевание может привести к серьезному ухудшению зрения, включая полную слепоту или потерю глаза.

У людей, страдающих кератитом, были идентифицированы следующие бактерии: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, а также *Staphylococcus hominis*. По таблице 4 видно, что лишь у одного пациента из 10 не наблюдалось роста.

По результатам диаграмма в процентном соотношение у людей, страдающих кератитом (Рис. 14). Показано, что в 40% случаев при кератите были выделены *Staphylococcus epidermidis*, следующим за ним по частоте встречаемости следует *Staphylococcus aureus*, 20%. В таком же количестве встречается *Bacillus megaterium*. В меньшем количестве обнаружились *Escherichia coli* и *Staphylococcus hominis*, 10 %.

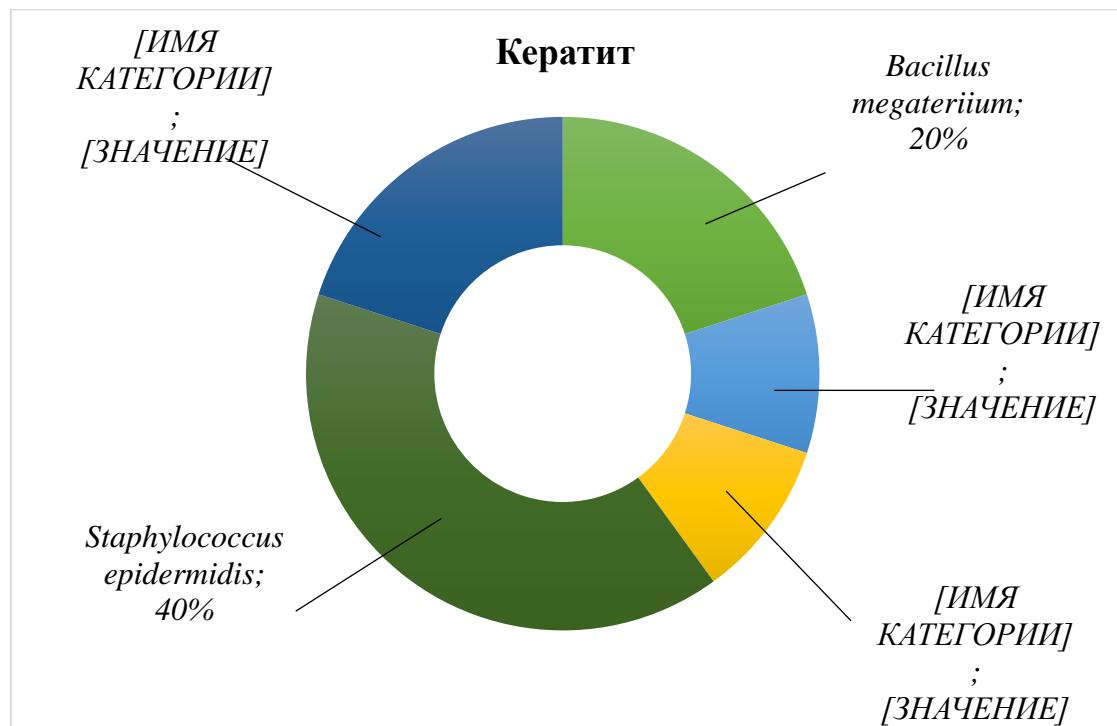


Рисунок 14. Результаты бактериологического исследования мазков с поверхности конъюктивы пациентов с кератитом

Большое количество *Staphylococcus epidermidis* можно объяснить высокой устойчивостью к антибиотикам и к другим внешним факторам. В литературе по данной теме пишут, что штаммы *Staphylococcus epidermidis*, которые являются патогенными принадлежат к биотипам I и II. Также *Staphylococcus epidermidis* обладает высокой адгезией. Приверженность является важным фактором патогенности стафилококка не только при заболеваниях роговицы, но и при других инфекциях. Данные исследований показывают, что *Staphylococcus epidermidis* может привести к развитию язвенных заболеваний.

Встречаемость *Staphylococcus aureus* можно объяснить факторами патогенности. Факторы патогенности *S. aureus* включают в себя способность микроорганизмов прикрепляться к клеткам тканей за счет их гидрофобности, адгезивных свойств полисахаридов, белка A и способности связывать фибронектин. В настоящее время *Staphylococcus aureus*, как патогенный микроорганизм, обладает сильной устойчивостью к антибиотикам и вызывает сложные заболевания, которые трудно поддаются лечению у людей по всему миру.

Bacillus megaterium – это грамположительная бактерия, которая, в отличие от *Staphylococcus aureus*, обычно не считается патогенной для человека. Фактически, *Bacillus megaterium* широко используется в промышленности и научных исследованиях благодаря своим полезным свойствам, таким как способность к производству различных ферментов и других биологически активных веществ. Однако, если рассматривать вопрос о факторах патогенности, то стоит отметить, что некоторые штаммы *Bacillus* могут производить токсины или вызывать инфекции, особенно у людей с ослабленной иммунной системой.

Escherichia coli является грамотрицательной бактерией, которая обычно обитает в кишечнике людей и животных. Большинство штаммов *E.*

coli безвредны, но некоторые могут вызывать болезни, такие как желудочно-кишечные инфекции, а также кератит. Некоторые из факторов патогенности *Escherichia coli* включают в себя: способность бактерии присоединяться к клеткам слизистой оболочки тканям хозяина, способность бактерии проникнуть в клетки хозяина и размножаться внутри них, наличие защитной оболочки вокруг бактерии, которая помогает ей избежать опознания и уничтожения иммунной системой хозяина. Эти факторы патогенности позволяют *Escherichia coli* вызывать различные заболевания, включая инфекции глаза.

Staphylococcus hominis является грамположительной бактерией, которая обычно заселяет слизистые оболочки человека. Некоторые штаммы *Stylococcus hominis* могут стать патогенными и вызывать инфекции при подавленном иммунитете или других факторов. Факторы патогенности *Staphylococcus hominis* является ее способность к адгезии, выработка токсинов в организм человека и устойчивость к некоторым антибиотикам. Совокупность этих факторов может вызвать различные заболевания в том числе кератит.

Конъюнктивит

Бактериальный конъюнктивит – это воспаление конъюнктивы (прозрачной оболочки, покрывающей белок глаза и внутреннюю поверхность век) вызванное бактериальной инфекцией. Оно может проявляться краснотой глаз, отеком, слизисто-гнойным отделяем, зудом и раздражением.

По таблице 4 видно, что при конъюнктивите все материалы с глазами дали положительный результат.

По рисунку (Рис. 15) видно, что у людей принявших участие в исследование так же как и у пациентов страдающих конъюнктивитом преобладающей бактерией является *Staphylococcus epidermidis*, 28%. За ним следует *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

18%. Меньше всего были идентифицированы *Bacillus megaterium*, *Klebsiella pneumoniae*, 9%.

Основным возбудителем бактериального конъюнктивита является *Staphylococcus* (эпидермальный и золотистый), *Escherichia coli*. Это их быстрым ростом, способностью к адгезии, устойчивости к некоторым антибиотикам.

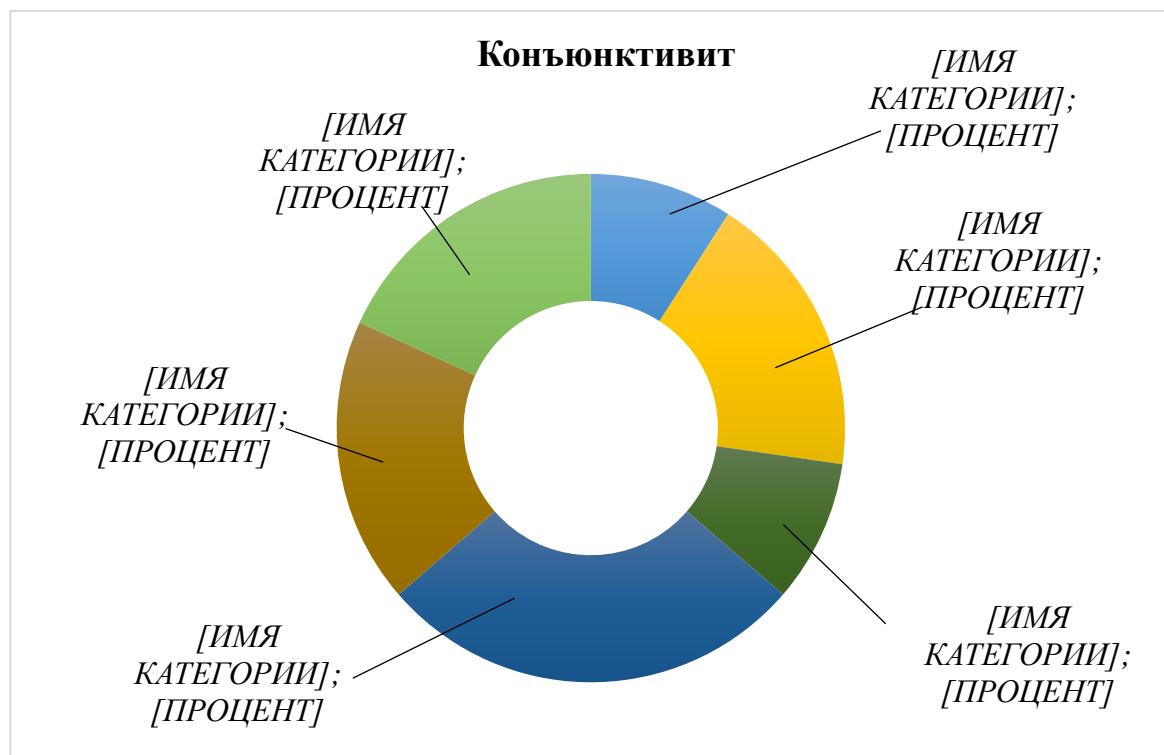


Рисунок 15. Результаты бактериологического исследования мазков поверхности конъюнктивы пациентов с конъюнктивитом

Миопия

Миопия, также известная как близорукость, является состоянием глаз, при котором человек видит хорошо близко, но плохо вдали. Это происходит из-за того, что изображение фокусируется перед сетчаткой, а не на ней. Миопия может быть унаследованной или развиваться из-за длительного напряжения глаз, особенно при чтении или работе за компьютером.

На таблице видно, что у 6 пациентов из 10 не было роста бактерий, это может быть связана с применением антибиотиков, хоть мы и

предупреждали об отказе антибиотиков и антимикотиков на время проведения эксперимента.

По рисунку (Рис. 16) видно, что у людей с миопией были идентифицированы такие же бактерии, как и при кератите так и при конъюнктивите. У 4х пациентов, чьи материалы дали положительный результат, лидером по встречаемости является *Staphylococcus epidermidis*, 60%. После него в соотношении 1:1 идут *Staphylococcus hominis*, *Bacillus megaterium*, 20%.

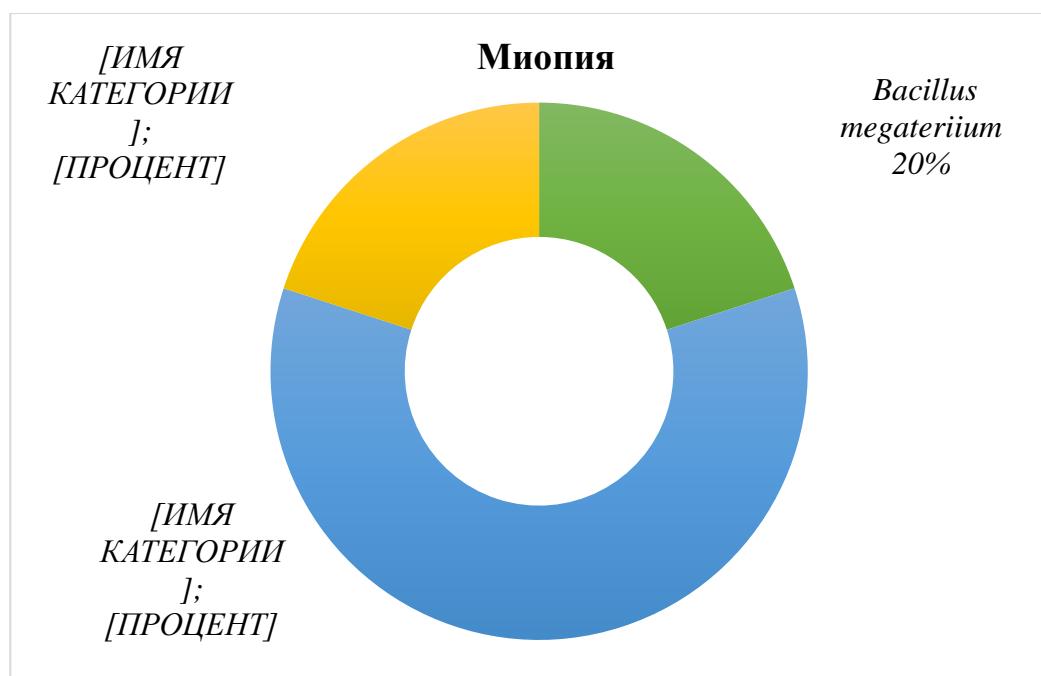


Рисунок 16. Результаты бактериологического исследования мазков поверхности конъюнктивы пациентов с миопией различной степени тяжести

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования была проведена оценка микробиоты глазной поверхности человека и ее связь с офтальмологическими заболеваниями. Целью исследования было изучение состава микробиоты в норме и выявление изменений, связанных с различными офтальмологическими состояниями. В результате анализа литературы и культурального исследования микроорганизмов, полученных из мазков глазной поверхности, были получен ряд заключений.

Во-первых, микробиота глазной поверхности имеет важное значение для поддержания здоровья глаз и может быть связана с развитием офтальмологических заболеваний. Состав микробиоты у лиц с различными офтальмологическими состояниями различается, что указывает на потенциальную связь между составом микробиоты и заболеваниями глаз. Сравнительный анализ состава микробиоты позволил выявить закономерности, указывающие на возможное влияние микробиоты на развитие конкретных офтальмологических патологий.

На основе полученных результатов можно сделать вывод о важности дальнейших исследований в области микробиоты глазной поверхности с целью разработки новых методов диагностики, профилактики и лечения офтальмологических заболеваний на основе коррекции микробиоты. Данное исследование представляет собой важный шаг в понимании роли микробиоты глазной поверхности и ее потенциального влияния на здоровье глаз, открывая перспективы для дальнейших клинических исследований и разработки инновационных подходов

ВЫВОДЫ

1. В ходе сравнительного анализа данных, полученных в ходе проведения культурального метода и метода масс-спектрометрии, было обнаружено, что в нормальной микробиоте глазной поверхности преобладают представители рода *Staphylococcus*: *S. epidermidis* встречался в 81% случаев, а *S. warneri* – 19%.
2. При различных патологиях глаза микробиота глазной поверхности характеризуется: при кератите доминирующими бактериями являются *Staphylococcus spp.*: *S. epidermidis* в 40%, *S.aureus* в 20% и *S. hominis* в 10% случаев, а также идентифицированы также *Bacillus megaterium* в 20% случаев и в меньшем количестве обнаружились *Escherichia coli* – 10%; микробиота глазной поверхности при конъюнктивите характеризуется: *S. epidermidis* в 28%, *S.aureus* в 18% и *S. hominis* в 18% *E. coli*, *B. megatherium*, и *K. pneumoniae* встречаются в 9% случаях; анализ микробиоты глаза при миопии показал, что *S. epidermidis* встречается в 60% случаях, а *S. hominis* и *B. megatherium* в 20%.
3. Исследование у здоровых людей и людей с патологией подтвердило различия в составе микробиоты глазной поверхности, что необходимо учитывать при диагностике, лечение и профилактике различных офтальмологических заболеваний.

к офтальмологической практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабушкин А.Э., Зайнутдинова Г.Х. Динамика некоторых воспалительных заболеваний глаз в Республике Башкортостан за 2001-2013 годы. [Электронный ресурс] URL: <https://eyepress.ru/article/dinamika-nekotorykh-vospalitel-nykh-zabolevaniy-glaz-v-respublike-bashkortostan->
2. Баим А.Д., Мувахедан А., Фарук А.В., Скондра Д. Микробиом и офтальмологические заболевания // Экспериментальная биология и медицина. 2019. Т. 244. № 6. С. 419-429. DOI: 10.1177/1535370218813616.
3. Бхарати М., Джаяхар Р., Рамакришнан Р., Минакши С., Падмавати С., Шивакумар С., Шринивасан М. Микробный кератит в Южной Индии: влияние факторов риска, климата и географических особенностей // Офтальмологическая эпидемиология. 2007. Т. 14. № 2. С. 61–69. DOI: 10.1080/09286580601001347.
4. Дергачёва Н.Н. Разработка и оценка клинико-функциональной эффективности комплекса лечебных процедур при дисфункции мейбомиевых желез: Автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук. 2022. 132 с. URL: <https://www.dissercat.com/content/razrabotka-i-otsenka-kliniko-funktionalnoi-effektivnosti-kompleksa-lechebnykh-protsedur-pri>
5. Лебедев О.И., Суров А.В., Акентьева Е.В. Особенности верификации воспалительных заболеваний глаз (на примере субъекта федерации) // Офтальмологические ведомости. 2014. №2. - Режим доступа: URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-verifikatsii-vospalitelnyh-zabolevaniy-glaz-na-primere-subekta-federatsii>.
6. Майчук Ю.Ф. Глазные инфекции // РМЖ. 1999. №1. С. 7.
7. Оков И.Н., Гурченок П.А., Вохмяков А.В. Нормальная микрофлора конъюнктивы у офтальмохирургических пациентов //

- Офтальмологические ведомости. 2008. №3. - URL:
<https://cyberleninka.ru/article/n/normalnaya-mikroflora-konyunktivy-u-oftalmohirurgicheskikh-patsientov>
8. Околов И.Н. Микробиологическая диагностика бактериальных конъюнктивитов и мониторинг антибиотикорезистентности: Методическое пособие. – СПб., 2011. – 20 с., ил.
9. Онуфрийчук О.Н., Куроедов А.В. Распространенность синдрома «сухого глаза» в России // Клиническая офтальмология. 2021. Т. 21. № 2. С. 96-102. DOI: 10.32364/2311-7729-2021-21-2-96-102. - URL:
https://www.rmj.ru/articles/oftalmologiya/Rasprostranennosty_sindroma_suhogo_glaza_v_Rossii
10. Кравчик М.В., Родина Е.С., Суббот А.М., Пимонова О.И., Фетцер Е.И., Новиков И.А. Визуализация нормальной микрофлоры глазной поверхности посредством импрессионной пробы с использованием сканирующего электронного микроскопа и лантаноидного контрастирования // Вестник офтальмологии. 2022. Т. 138. № 6. С. 5-13. - URL: <https://www.mediasphera.ru/issues/vestnik-oftalmologii/2022/6/10042465X2022061005>
11. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Первый Всемирный доклад о проблемах зрения. - URL:
<https://www.who.int/ru/news/item/08-10-2019-who-launches-first-world-report-on-vision>
12. Axenfeld, T. (1907). Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena: Fischer. Retrieved from
<https://archive.org/details/diebakteriologie00axen/page/n15/mode/2up>
13. Butcher RMR, Sokana O, Jack K, Kalae E, Sui L, Russell C, Houghton J, Palmer C, Holland MJ, Le Mesurier RT, Solomon AW, Mabey DCW, Roberts CH. Active Trachoma Cases in the Solomon Islands Have Varied Polymicrobial Community Structures but Do Not Associate with Individual Non-Chlamydial Pathogens of the Eye. Front Med (Lausanne).

- 2018 Jan 23;4:251. doi: 10.3389/fmed.2017.00251. PMID: 29410954; PMCID: PMC5787070.
14. Campagnoli LIM, Varesi A, Barbieri A, Marchesi N, Pascale A. Targeting the Gut-Eye Axis: An Emerging Strategy to Face Ocular Diseases. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 28;24(17):13338. doi: 10.3390/ijms241713338. PMID: 37686143; PMCID: PMC10488056.
15. Cavuoto KM, Banerjee S, Miller D, Galor A. Composition and Comparison of the Ocular Surface Microbiome in Infants and Older Children. *Transl Vis Sci Technol.* 2018 Nov 30;7(6):16. doi: 10.1167/tvst.7.6.16. PMID: 30519501; PMCID: PMC6269136.
16. Cavuoto KM, Mendez R, Miller D, Galor A, Banerjee S. Effect of clinical parameters on the ocular surface microbiome in children and adults. *Clin Ophthalmol.* 2018 Jul 2;12:1189-1197. doi: 10.2147/OPTH.S166547. PMID: 30013312; PMCID: PMC6040630.
17. Chen J, Chen DF, Cho KS. The Role of Gut Microbiota in Glaucoma Progression and Other Retinal Diseases. *Am J Pathol.* 2023 Nov;193(11):1662-1668. doi: 10.1016/j.ajpath.2023.06.015. Epub 2023 Jul 23. PMID: 37490970; PMCID: PMC10616709.
18. Chen Z, Lin S, Xu Y, Lu L, Zou H. Unique composition of ocular surface microbiome in the old patients with dry eye and diabetes mellitus in a community from Shanghai, China. *BMC Microbiol.* 2024 Jan 10;24(1):19. doi: 10.1186/s12866-023-03176-2. PMID: 38200418; PMCID: PMC10777597.
19. Dao D, Xie B, Nadeem U, Xiao J, Movahedian A, D'Souza M, Leone V, Hariprasad SM, Chang EB, Sulakhe D, Skondra D. High-Fat Diet Alters the Retinal Transcriptome in the Absence of Gut Microbiota. *Cells.* 2021 Aug 18;10(8):2119. doi: 10.3390/cells10082119. PMID: 34440888; PMCID: PMC8392173.
20. Delbeke H, Younas S, Casteels I, Joossens M. Current knowledge on the human eye microbiome: a systematic review of available amplicon and

- metagenomic sequencing data. *Acta Ophthalmol.* 2021 Feb;99(1):16-25. doi: 10.1111/aos.14508. Epub 2020 Jun 29. PMID: 32602257.
21. Doan T, Akileswaran L, Andersen D, Johnson B, Ko N, Shrestha A, Shestopalov V, Lee CS, Lee AY, Van Gelder RN. Paucibacterial Microbiome and Resident DNA Virome of the Healthy Conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Oct 1;57(13):5116-5126. doi: 10.1167/iovs.16-19803. PMID: 27699405; PMCID: PMC5054734.
22. Dong Q, Brulc JM, Iovieno A, Bates B, Garoutte A, Miller D, Revanna KV, Gao X, Antonopoulos DA, Slepak VZ, Shestopalov VI. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Jul 20;52(8):5408-13. doi: 10.1167/iovs.10-6939. PMID: 21571682; PMCID: PMC3176057.
23. Dong X, Wang Y, Wang W, Lin P, Huang Y. Composition and Diversity of Bacterial Community on the Ocular Surface of Patients With Meibomian Gland Dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019 Nov 1;60(14):4774-4783. doi: 10.1167/iovs.19-27719. Erratum in: *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020 Nov 2;61(13):26. doi: 10.1167/iovs.61.13.26. PMID: 31738825.
24. Graham JE, Moore JE, Jiru X, Moore JE, Goodall EA, Dooley JS, Hayes VE, Dartt DA, Downes CS, Moore TC. Ocular pathogen or commensal: a PCR-based study of surface bacterial flora in normal and dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Dec;48(12):5616-23. doi: 10.1167/iovs.07-0588. PMID: 18055811.
25. Golden MI, Meyer JJ, Zeppieri M, Patel BC. Dry Eye Syndrome. 2024 Feb 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. PMID: 29262012.
26. Ham B, Hwang HB, Jung SH, Chang S, Kang KD, Kwon MJ. Distribution and Diversity of Ocular Microbial Communities in Diabetic Patients Compared with Healthy Subjects. *Curr Eye Res.* 2018

- Mar;43(3):314-324. doi: 10.1080/02713683.2017.1406528. Epub 2017 Nov 27. PMID: 29172724.
27. Huang L, Hong Y, Fu X, Tan H, Chen Y, Wang Y, Chen D. The role of the microbiota in glaucoma. *Mol Aspects Med.* 2023 Dec;94:101221. doi: 10.1016/j.mam.2023.101221. Epub 2023 Oct 21. PMID: 37866106.
28. Huang YS, Dai YH, Sun SY, Lan J, Xie LX. [Study of different methods in reducing conjunctival bacteria before cataract surgery]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2009 Sep 22;89(35):2458-61. Chinese. PMID: 20137430.
29. Huang Y, Yang B, Li W. Defining the normal core microbiome of conjunctival microbial communities. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):643.e7-643.e12. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.008. Epub 2016 Apr 19. PMID: 27102141.
30. Keilty, R.A. (1930). The bacterial flora of the normal conjunctiva with comparative nasal culture study. *American Journal of Ophthalmology*, 13(10), 876-879. Retrieved from [https://www.ajo.com/article/S0002-9394\(30\)92437-3/abstract](https://www.ajo.com/article/S0002-9394(30)92437-3/abstract)
31. Li S, Yi G, Peng H, Li Z, Chen S, Zhong H, Chen Y, Wang Z, Deng Q, Fu M. How Ocular Surface Microbiota Debuts in Type 2 Diabetes Mellitus. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019 Jun 17;9:202. doi: 10.3389/fcimb.2019.00202. PMID: 31263683; PMCID: PMC6590198.
32. Li Z, Gong Y, Chen S, Li S, Zhang Y, Zhong H, Wang Z, Chen Y, Deng Q, Jiang Y, Li L, Fu M, Yi G. Comparative portrayal of ocular surface microbe with and without dry eye. *J Microbiol.* 2019 Nov;57(11):1025-1032. doi: 10.1007/s12275-019-9127-2. Epub 2019 Aug 28. PMID: 31463790.
33. Liu Q, Xu ZY, Wang XL, Huang XM, Zheng WL, Li MJ, Xiao F, Ouyang PW, Yang XH, Cui YH, Pan HW. Changes in Conjunctival Microbiota Associated With HIV Infection and Antiretroviral Therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021 Sep 2;62(12):1. doi: 10.1167/iovs.62.12.1. PMID: 34473190; PMCID: PMC8419876.

- 34.Lee J, Alam J, Choi E, Ko YK, Lee A, Choi Y. Association of a dysbiotic oral microbiota with the development of focal lymphocytic sialadenitis in I κ B- ζ -deficient mice. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2020 Oct 30;6(1):49. doi: 10.1038/s41522-020-00158-4. PMID: 33127905; PMCID: PMC7599236.
- 35.Lee SH, Oh DH, Jung JY, Kim JC, Jeon CO. Comparative ocular microbial communities in humans with and without blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 Aug 15;53(9):5585-93. doi: 10.1167/iovs.12-9922. PMID: 22836761.
- 36.Jiao X, Li Z. Temporal dynamics and composition of ocular surface microbiota in C57BL/6J mice: uncovering a 12h ultradian rhythm. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023 Nov 2;13:1244454. doi: 10.3389/fcimb.2023.1244454. PMID: 38029247; PMCID: PMC10651734.
- 37.Jiao J, Yu H, Yao L, Li L, Yang X, Liu L. Recent Insights into the Role of Gut Microbiota in Diabetic Retinopathy. *J Inflamm Res.* 2021 Dec 16;14:6929-6938. doi: 10.2147/JIR.S336148. PMID: 34938095; PMCID: PMC8687677.
- 38.Mosaddad SA, Mahootchi P, Safari S, Rahimi H, Aghili SS. Interactions between systemic diseases and oral microbiota shifts in the aging community: A narrative review. *J Basic Microbiol.* 2023 Aug;63(8):831-854. doi: 10.1002/jobm.202300141. Epub 2023 May 12. PMID: 37173818.
- 39.Nadeem U, Boachie-Mensah M, Zhang J, Skondra D. Gut microbiome and retinal diseases: an updated review. *Curr Opin Ophthalmol.* 2022 May 1;33(3):195-201. doi: 10.1097/ICU.0000000000000836. Epub 2022 Feb 7. PMID: 35132003.
- 40.Napolitano P, Filippelli M, Davinelli S, Bartollino S, dell'Omo R, Costagliola C. Influence of gut microbiota on eye diseases: an overview. *Ann Med.* 2021 Dec;53(1):750-761. doi:

- 10.1080/07853890.2021.1925150. PMID: 34042554; PMCID: PMC8168766.
- 41.Nayyar A, Gindina S, Barron A, Hu Y, Danias J. Do epigenetic changes caused by commensal microbiota contribute to development of ocular disease? A review of evidence. *Hum Genomics*. 2020 Mar 13;14(1):11. doi: 10.1186/s40246-020-00257-5. PMID: 32169120; PMCID: PMC7071564.
- 42.Ozkan J, Nielsen S, Diez-Vives C, Coroneo M, Thomas T, Willcox M. Temporal Stability and Composition of the Ocular Surface Microbiome. *Sci Rep.* 2017 Aug 29;7(1):9880. doi: 10.1038/s41598-017-10494-9. PMID: 28852195; PMCID: PMC5575025.
- 43.Parker A, Romano S, Ansorge R, Aboelnour A, Le Gall G, Savva GM, Pontifex MG, Telatin A, Baker D, Jones E, Vauzour D, Rudder S, Blackshaw LA, Jeffery G, Carding SR. Fecal microbiota transfer between young and aged mice reverses hallmarks of the aging gut, eye, and brain. *Microbiome*. 2022 Apr 29;10(1):68. doi: 10.1186/s40168-022-01243-w. PMID: 35501923; PMCID: PMC9063061.
- 44.Pezzino S, Sofia M, Greco LP, Litrico G, Filippello G, Sarvà I, La Greca G, Latteri S. Microbiome Dysbiosis: A Pathological Mechanism at the Intersection of Obesity and Glaucoma. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 6;24(2):1166. doi: 10.3390/ijms24021166. PMID: 36674680; PMCID: PMC9862076.
- 45.Shin H, Price K, Albert L, Dodick J, Park L, Dominguez-Bello MG. Changes in the Eye Microbiota Associated with Contact Lens Wearing. *mBio*. 2016 Mar 22;7(2):e00198. doi: 10.1128/mBio.00198-16. PMID: 27006462; PMCID: PMC4817251.
- 46.Wang YJ, Sung KC, Lin WC, Huang FC. Comparison of Microbial Sampling Sites and Donor-Related Factors on Corneal Graft Contamination. *J Clin Med.* 2022 Oct 22;11(21):6236. doi: 10.3390/jcm11216236. PMID: 36362464; PMCID: PMC9655421.

- 47.Yau JW, Hou J, Tsui SKW, Leung TF, Cheng NS, Yam JC, Kam KW, Jhanji V, Hon KL. Characterization of ocular and nasopharyngeal microbiome in allergic rhinoconjunctivitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2019 Sep;30(6):624-631. doi: 10.1111/pai.13088. Epub 2019 Jul 25. PMID: 31132163.
- 48.Zhang Y, Zhou X, Lu Y. Gut microbiota and derived metabolomic profiling in glaucoma with progressive neurodegeneration. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Aug 12;12:968992. doi: 10.3389/fcimb.2022.968992. PMID: 36034713; PMCID: PMC9411928.
- 49.Zhou Y, Holland MJ, Makalo P, Joof H, Roberts CH, Mabey DC, Bailey RL, Burton MJ, Weinstock GM, Burr SE. The conjunctival microbiome in health and trachomatous disease: a case control study. *Genome Med.* 2014 Nov 15;6(11):99. doi: 10.1186/s13073-014-0099-x. PMID: 25484919; PMCID: PMC4256740.
- 50.Zysset-Burri DC, Morandi S, Herzog EL, Berger LE, Zinkernagel MS. The role of the gut microbiome in eye diseases. *Prog Retin Eye Res.* 2023 Jan;92:101117. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101117. Epub 2022 Sep 6. PMID: 36075807.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Башкирский государственный медицинский
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Язгарова Р. Р.

Самоцитирование

рассчитано для: Язгарова Р. Р.

Название работы: МИКРОБИОТА ГЛАЗНОЙ ПОВЕРХНОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ОФТАЛЬМОПАТОЛОГИИ

Тип работы: Выпускная квалификационная работа

Подразделение: Башкирский Государственный Медицинский Университет

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 24.06.2024

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 26.06.2024 09:51

Структура документа: Проверенные разделы: библиография с.47-54, титульный лист с.1, содержание с.2, раздел не определён с.3-46

Модули поиска: Интернет Плюс*; Библиография; Переводные заимствования издательства Wiley; ИПС Адилет; Переводные заимствования*; Диссертации НББ; Цитирование; СПС ГАРАНТ: аналитика; Шаблонные фразы; Перефразирования по коллекции IEEE; Коллекция НБУ; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Переводные заимствования IEEE; Кольцо вузов (переводы и перефразирования); Патенты СССР, РФ, СНГ; Переводные заимствования (RuEn); Кольцо вузов; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; IEEE; Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); СМИ России и СНГ; Перефразирования

Работу проверил: Банникова Ольга Сергеевна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.