

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«УФАСИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ  
РАБОТА**

**ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ГЛАЗНОЙ ПОВЕРХНОСТИ У  
БОЛЬНЫХ КАТАРАКТОЙ**

Выполнил: Шарафутдинова Карина  
Ильшатовна  
направление подготовки  
06.04.01 Биология  
направленность (профиль)  
образовательной программы  
Фундаментальная и прикладная  
микробиология

Руководитель: Гимранова Ирина  
Анатольевна, к.м.н., доцент кафедры  
фундаментальной и прикладной  
микробиологии

Выпускная квалификационная  
работа допущена к защите:  
«17» 06 2025 г.

Выпускная квалификационная работа  
защищена с оценкой «отлично»  
«24» 06 2025 г.

Уфа, 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |    |
|---|----|
| Список сокращений и условных обозначений .....  | 4  |
| ВВЕДЕНИЕ .....  | 5  |
| Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....   | 8  |
| 1.1. Анатомия глаз.....   | 8  |
| 1.2. Общее представление о катаракте.....   | 15 |
| 1.3. Характеристика и роль глазной микробиоты .....   | 23 |
| 1.4. Лабораторная диагностика и лечение глазных заболеваний.....                              | 31 |
| Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....  | 40 |
| 2.1. Объекты исследования.....  | 40 |
| 2.2. Методика сбора материала .....   | 40 |
| 2.3. Подготовка лабораторной посуды.....  | 41 |
| 2.4. Приготовление питательных сред для культивирования<br>микроорганизмов.....               | 41 |
| 2.5. Методика культурального посева на питательные среды.....                                 | 46 |
| 2.6. Идентификация микроорганизмов. Масс-спектрометрия.....                                   | 47 |
| 2.7. Выявление антагонистической активности бактерий методом<br>перпендикулярных штрихов..... | 48 |
| 2.8. Выявление антибиотикочувствительности к препаратам, выделенных<br>штаммов бактерий.....  | 48 |
| 2.9. Формирование биопленок, выделенных штаммов бактерий.....                                 | 49 |
| 2.10. Статистическая обработка, полученных данных.....  | 50 |

|  |    |
|--|----|
| Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....   | 51 |
| 3.1. Микробиологическое исследование мазков с поверхности<br>конъюнктивы глаза. .... | 51 |
| 3.2. Видовой состав микробиоты поверхности конъюнктивы глаза. ....                   | 57 |
| 3.3. Антагонистическая активность микроорганизмов .....                              | 61 |
| 3.4. Антибиотикочувствительность микроорганизмов к препаратам .....                  | 66 |
| 3.5. Анализ результатов биопленкообразования бактерий .....                          | 71 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....   | 73 |
| ВЫВОДЫ.....  | 74 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ И ЛИТЕРАТУРЫ.....                                   | 75 |

## **Список сокращений и условных обозначений**

АПК – антигенпрезентирующие клетки

ЖСА – желточно-солевой агар

КОЕ – колониеобразующая единица

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ССГ – синдром сухого глаза

УФ – ультрафиолет

ЦПЭ – цитопатический эффект

РАМР – молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами

PRR – рецепторы распознавания паттерна

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время множество исследований доказывает то, что микробиота играет роль в регулировании иммунологического статуса человеческого организма. Микробиота – это полимикробное сообщество, включающее бактерии, вирусы, грибы, простейшие и эукариоты, которые населяют определенные участки тела. Они могут находиться в определенном месте, формировать микросреду и играть роль в обмене веществ, развитии различных заболеваний человека.

Различные изменения микробиоты могут быть обусловлены несколькими факторами, включая окружающую среду, возраст, пол, применение препаратов, сопутствующие болезни. Известно, что микробиота желудочно-кишечного тракта регулирует гомеостаз пищеварительной системы. Её клиническое значение хорошо изучено. Однако глазная поверхность также имеет свою собственную микробиоту, которая связана с рядом офтальмологических заболеваний.

Глаз является самым уязвимым органом в человеческом теле. Хотя он подвергается различным воздействиям внешних факторов, таких как микроорганизмы, аллергены и физические раздражители, глазная поверхность должна быть здоровой, прозрачной, чтобы сетчатка могла воспринимать свет для нормального зрения. Кроме того, воспалительные реакции на эти внешние раздражители должны быть сведены к минимуму, потому что они могут негативно сказаться на зрении.

Микробиота глазной поверхности характеризуется наличием комменсальных бактерий, которые не вызывают инфекции или воспаления. Так как слизистая оболочка глазной поверхности контактирует с окружающей средой, именно она служит защитным механизмом от потенциально патогенных микроорганизмов. Несмотря на то, что глазная поверхность контактирует с комменсальными бактериями, эпителиальные клетки роговицы и конъюнктивы у здоровых людей не вызывают воспалительной реакции. Это говорит о наличии врожденного

иммунитета эпителия глазной поверхности, который позволяет комменсальной микробиоте колонизировать его.

Изменения состава микробиоты происходят при различных офтальмопатологиях. Катаракта глаза является одним из заболеваний при офтальмопатологиях. Катаракта, определяемая как помутнение хрусталика, препятствующая ясному зрению, является основной причиной потери и ухудшения зрения во всем мире. Наиболее распространенной глазной операцией является хирургическое удаление катаракты, известное как факоэмульсификация. Несмотря на достижения в хирургических технологиях, именно послеоперационная эндофталмия остается одним из самых серьезных и опасных осложнений факоэмульсификации, способным привести к полной слепоте в 50% случаев. Тем не менее, некоторые исследования указывают на наличие бактериального загрязнения водянистой влаги во время операции по удалению катаракты без развития глазных инфекций.

В настоящее время не существуют четких критериев для описания микробиоты глаза при катаракте, включая то, какие изменения в её составе характерными для этого состояния. Также недостаточно изучены особенности и влияние состава микроорганизмов на иммунную систему и организм в целом, а также их зависимость от пола, возраста и других факторов.

### **Цель исследования**

Изучить микробиоту глазной поверхности пациентов с катарактой.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести бактериологическое исследование мазков с поверхности конъюнктивы глаза с идентификацией до вида, выделенных чистых культур методом масс-спектрометрии;
2. Сравнить видовой состав микробиоты поверхности конъюнктивы глаз здоровых людей и пациентов с катарактой;

3. Определить антагонистические свойства, выделенных штаммов бактерий к условно-патогенным микроорганизмам;
4. Определить антибиотикочувствительность, выделенных штаммов бактерий к антибактериальным препаратам, а также антибактериальную активность препаратов, применяемых при катаракте;
5. Провести анализ биопленок, формируемых на инертных поверхностях, выделенных штаммов.

## Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1. Анатомия глаз

Ухудшение зрения у людей стареющего возраста представляет собой серьезную проблему для специалистов в области здравоохранения. В настоящее время идут поиски новых возможностей для отсрочки наступления заболевания глаз, замедлить их прогрессирование или даже восстановить нарушенные функции глаза. Главная функция глаза заключается в преобразовании информации от входящего видимого света ( $\lambda=400\text{-}700$  нм) в высококачественные пространственно-разрешенные изображения внешнего мира в зрительной коре головного мозга.

Возрастные заболевания глаз, можно рассматривать как сложное взаимодействие между основными клеточными и молекулярными признаками старения, такими как потеря белкового гомеостаза, генетическими и другими факторами риска. Эти биологические процессы накладываются на физические механизмы, происходящие при прохождении света через прозрачную роговицу и хрусталик, а также внутренние слои сетчатки, доходя до фоторецепторов и прилегающих к ним клеток пигментного эпителия сетчатки. Прозрачность хрусталика достигается белками кристаллинами, расположенными в цитоплазме вытянутых клеток хрусталика в высоких концентрациях, эти белки требуют длительного сохранения своей структуры, конформации и свойств. Возрастная катаракта, которая вызывается агрегацией белков в хрусталике и приводящая к рассеиванию света, встречается у 50% населения в возрасте около 65 лет и в настоящее время лечится хирургическим методом для замены непрозрачного хрусталика путем имплантации искусственных внутриглазных линз [21].

Общее представление о строении глаза

Глаз – это орган чувств. Он имеет способность поглощать световые лучи из окружающей среды и преобразовать их так, чтобы информация

была обработана мозгом. Человеческий глаз и мозг образуют целую, единую систему, которое развивалось вместе в ходе эволюции-зрительная система. А сам процесс обработки информации называют «наблюдением», «осмотром». И по сути визуальное впечатление формируется на основе зрительной памяти, в которую включается небольшая часть новой информации, полученной с помощью глаза.

Человеческий глаз представляет собой сферическое тело, или как называют глазное яблоко. Это округлые органы, и оно находится в глазнице и прикреплено к разным мышцам, с помощью мышц глазное яблоко может поворачивать в разные стороны. Каждый глаз состоит из следующих структур.

### *Веки*

Веки представляют собой тонкие подвижные складки кожи, которые покрывают круговую мышцу, твердую пластинку и мембрану, ограничивающая переднюю часть орбиты и выстлана слизистой оболочкой. На краях век присутствуют три основных типа желез. Мейбомиевые железы, выделяющие липиды – это специализированные сальные железы с протоками, которые открываются в устья, видимые в виде линии из 25-20 белых точек вдоль внутренних краев век. Липиды, которые выделяются мейбомиевыми железами, находятся на поверхности роговицы в слезной пленке и уменьшают её склонность к испарению, предотвращая сухость глаз.

### *Конъюнктива*

Конъюнктива – это тонкая полупрозрачная слизистая оболочка, которая выстилает внутреннюю поверхность верхнего и нижнего века (ресничная конъюнктива) и поверхность передней части склеры (бульбарная конъюнктива). Конъюнктива представляет собой непрерывную и неизменную слизистую оболочку.

### *Роговица*

Передняя часть глаза – это роговица. Роговица прозрачная и состоит из шести слоёв. Переход от роговицы к склере называется лимбом, в переводе от латинского «граница»). Там располагаются стволовые клетки и с их помощью роговица постоянно обновляется. В центре роговицы немного тоньше, чем по периферии, это важно в случае применения глазных лазеров, когда часть роговицы удаляется для оптимизации преломляющей силы. Так как кривизна роговицы преломляет свет примерно на 45 диоптрий. Сама роговица покрыта слезной жидкостью, вырабатываемая слезными железами и служащая для питания и защиты глаза.

### *Склера*

Глазное яблоко окружено тремя слоями. Наружная оболочка – это склера. Склера – это белая и непрозрачная часть. В передней и открытой части глаза хорошо видно склеру, она имеет беловатый цвет. Она почти полностью окружает глазное яблоко и защищает его. Склера прерывается в двух местах, спереди – роговицей, а сзади – зрительным нервом, который идет изнутри глаза.

### *Передняя и задняя камера, внутрглазная жидкость*

За роговицей находится передняя камера глаза, которая заполнена внутрглазной жидкостью. Она имеет в своем составе питательные вещества, необходимые для питания хрусталика и роговицы. Также во внутрглазной жидкости имеются иммунные факторы, которые обезвреживают опасные инородные тела и микробы. Внутрглазная жидкость помогает поддерживать постоянное внутрглазное давление, вырабатывается и выделяется она цилиарными отростками, затем она медленно поступает через зрачок в переднюю камеру глаза. Задняя камера глаза находится за радужной оболочкой.

### *Радужка*

Радужная оболочка расположена в центре роговицы. Она имеет множество мелких мышечных волокон, которые могут сокращаться или

расширяться. Образующееся круглое отверстие в центре называется зрачком. Чем он темнее, тем больше света нужно для зрения, в темноте зрачок становится больше. При ярком свете зрачок маленький. Радужная оболочка окрашены пигментами (синим, зеленым, серым, коричневым цветами). Именно эта часть определяет цвет глаз человека.

### *Хрусталик*

За зрачком находится хрусталик. Хрусталик – это двояковыпуклый прозрачный диск, состоящий из белков кристаллинов. Он отвечает примерно за 15 диоптрий преломляющей силы, но может изменять свою преломляющую силу. Из-за этой способности, которую называют аккомодационным рефлексом, глаз может чётко видеть, как вблизи, так и вдали. Хрусталик представляет собой жидкую сферу. Его можно сравнить с воздушным шаром, наполненным водой. Жидкость в хрусталике затвердевает со временем. Также, белковые структуры в хрусталике со временем слипаются, затуманивая изображение глаза. Такое ухудшение качества зрения называют – катарактой. Проводятся операции по удалению катаракты старый хрусталик заменяют новым искусственным хрусталиком, которые обеспечивает чёткое зрение даже в пожилом возрасте.

### *Цилиарная мышца*

Цилиарная мышца расположена за роговицей в форме кольца внутри глаза. Она влияет на кривизну хрусталика. В расслабленном состоянии хрусталик плоский и вытянутый, поэтому мы видим хорошо вдали. Если же цилиарная мышца напрягается (сокращается), диаметр кольца уменьшается. Волокна расслабляются и хрусталик принимает выпуклую сферическую форму. Это меняет преломляющую способность хрусталика, чтобы мы могли хорошо видеть вблизи. Этот процесс называют аккомодацией.

### *Стекловидное тело*

Внутреннее пространство глазного яблока заполнено стекловидным телом. Оно состоит из прозрачной жидкости и особенно важно для стабильности глазного яблока, так как жидкость создает давление – внутриглазное давление. Без внутриглазного давления глаз был бы более чувствительным к внешним факторам, которые влияют на роговицу снаружи. Высокое внутриглазное давление является причиной многих заболеваний глаз, например, глаукомы.

### *Сосудистая оболочка*

Внутри склеры находится сосудистая оболочка, которая пронизана кровеносными сосудами и капиллярами. Кровь снабжает сетчатку питательными веществами и кислородом. Сосудистая оболочка имеет темный пигмент и поглощает необработанный свет. Именно эффект «красных глаз на фотографиях» связан с этим, так как вспышка такая яркая, что освещает внутреннюю часть глаза. Затем на фотографии видны красные кровеносные сосуды сосудистой оболочки.

### *Сетчатка*

Сетчатка расположена на задней, внутренней стороне глаза. Она состоит из разных слоёв клеток: фоторецепторы (палочки для цветоощущения, колбочки для цветового зрения) преобразуют световой импульс в электрический нервный импульс. Световая информация собирается в рецептивных полях, усиливается и передается в мозг по зрительному нерву – зрительному пути. Затем происходит зрительный процесс на сетчатке. Сетчатка состоит из множества различных типов клеток, выполняющих разные задачи. Важны сенсорные клетки, они преобразуют свет в электрический импульс.

Бывают два типа зрительных клеток: палочки (отвечают за зрение в темное время суток), колбочки (отвечают за цветовое зрение).

Для цветного зрения используются три разные колбочки:

- Колбочки для красного цвета
- Колбочки для зеленого цвета

- Колбочки для синего цвета

Каждый из трёх типов колбочек реагируют на свет разной длины волны. Если один из типов колбочек деформирован из-за генетического дефекта, возникают различные нарушения цветового зрения.

*Подробнее о развитии и физиологии хрусталика.*

Основная функция хрусталика заключается в том, чтобы передавать и фокусировать изображения на сетчатке, которая улавливает световые сигналы и выполняет некоторую предварительную обработку перед передачей их в виде нервных импульсов в зрительную кору головного мозга. Для того, чтобы эта функция выполнялась показатель преломления внутри хрусталика должен быть относительно постоянным на расстояниях, близких к длине волны передаваемого света. Это достигается за счет упорядоченного расположения эпителиальных клеток хрусталика и волоконных клеток, в которых нет органелл, а их растворимые белки, особенно кристаллоиды, сильно концентрированы и плотно упакованы [9].

Хрусталик человека представляет собой двояковыпуклую прозрачную структуру, образованную поверхностной эктодермой. Он состоит из четырёх частей: зрачковых поясков, капсулы, эпителия и волокон, расположенных от бокового до медиального края [10]. Хрусталик, окруженный базальной мембраной или капсулой, состоит из одного слоя передних эпителиальных клеток, которые покрывают ядро и кору хрусталика. Утолщения поверхностного слоя эктодермы, покрывают глазную ямку. В процессе формирования глазной ямки, глазная ямка хрусталика инвагинируется и в конечном итоге закрывается, образуя хрусталик, и отделяется от эпителия роговицы, который смыкается над ним. Во время развития эпителиальные клетки делятся по окружности хрусталика, а затем мигрируют в сторону экватора хрусталика, где они стимулируются фактором роста фибробластов и вытягиваются в области изгиба, образуя дифференцированные волокнистые клетки. Эти вторичные

волокнистые клетки располагаются вокруг первичных волокнистых клеток в центральном ядре хрусталика, а основания сходятся на швах хрусталика. На ранних этапах волокна начинают синтезировать много кристаллинов хрусталика и других белков, прежде чем разрушать свои органеллы. Разрушение органелл связано с убиквитин-протеасомным путем, с аутофагией. Этот процесс начинается в эмбриогенезе и продолжается с уменьшающейся скоростью на протяжении всего развития и остальной жизни человека, при этом сменяющие друг друга волокна хрусталика накладываются на своих предшественников, в итоге образуя похожую на луковицу структуру ядра и коры хрусталика [74].

Нарушение структуры хрусталика, такое как образование вакуолей и дегенерация волоконных клеток, приводит к рассеянию света. Кристаллы составляют более 90% растворимых белков хрусталика, и их упорядоченная упаковка в однородной фазе поддерживает прозрачность хрусталика [74]. Нарушения в работе антиоксидантных систем в хрусталике, приводящие к последующей агрегации белков, являются основной причиной помутнения хрусталика и образования катаракты. Недавнее исследование показало, что в водянистой влаге глаза пациентов с катарактой высокой степени тяжести уровень антиоксидантов ниже, чем у пациентов с более низкой степенью тяжести [4].

## 1.2. Общее представление о катаракте

Катаракта является одной из основных причин предотвратимой слепоты во всём мире, она представляет собой дегенерацию хрусталика, которая характеризуется помутнением и ухудшением зрения. По всемирным данным катаракта является причиной слепоты у 10,8 миллиона из 32,4 миллиона слепых людей, и что 35,1 миллиона из 191 миллиона людей с нарушениями зрения страдают от этого заболевания. Распространённость катаракты экспоненциально возрастает после 40 лет, примерно составляет от 3,9% среди людей в возрасте 55-64 лет, до 92,6% среди людей в возрасте 80 лет и выше. Высокая распространённость и серьезность данного заболевания, катаракта является серьезной проблемой общественного здравоохранения [9]. Эпидемиологические исследования показали, что распространёнными факторами риска развития катаракты это возраст, курение, ультрафиолетовые излучения, пол, сахарный диабет, высокий индекс массы тела. По мере увеличения продолжительности жизни прогнозируется рост числа людей, страдающих катарактой [34]. В основном катаракта делится на врожденную и возрастную катаракту. Общие симптомы катаракты включают нарушение зрения, снижение контрастной чувствительности, искажение цвета, повышенная чувствительность к бликам.

### Врожденная катаракта

Частота распространённости врожденных катаракт варьируется от 12-136 случаев на 100 тысяч новорожденных, при этом в большинстве стран этот показатель составляет около 72 случаев на 100 тысяч детей. Частота заболеваемости, чаще всего выше в не развитых стран, скорее всего, это связано из-за более высокого риска инфекционных заболеваний и других причин, связанных с окружающей средой. В большинстве случаев врожденных или детских катаракт (8,3-25%) являются наследственными. Они могут быть изолированными катарактами или

сопровождаться аномалиями развитием передней камеры глаза. Также катаракта может быть частью мультисистемных генетических болезней, такие как хромосомные нарушения, дефекты развития и метаболические нарушения [34].

В развитии врожденной катаракты участвуют различные факторы. Генетические факторы связаны с аномалией хромосомного набора ребенка. Материнские и внутриутробные факторы к ним относятся: неправильное питание во время беременности, материнские инфекции такие как краснуха, токсоплазмоз и т.д., эндокринные нарушения, злоупотребление алкоголем, также воздействие радиационного облучения. Также пол влияет на развитие катаракты, риск развития катаракты выше у женщин, чем у мужчин, из-за недостатка эстрогенов в постменопаузальном периоде [32].

Процесс развития хрусталика, начинается на 22-й день беременности, делят на две стадии: формирование хрусталика и фиброгенез. Хрусталик начинает формироваться на поверхности эктодермы, она инвагинируется и утолщается, образуя хрусталиковую пластинку и глазную ямку на пятой неделе беременности. В момент как глазной пузырек отделяется от поверхностной эктодермы, начинается процесс дифференциации хрусталика. Клетки в передней части глазного пузырька размножаются и постепенно дифференцируются в передние субкапсулярные эпителиальные клетки, а клетки в задней становятся тоньше и длиннее, дифференцируются в первичные волокна хрусталика, затем образуют эмбриональные ядра [12]. Катаракта развивается из-за нарушения нормальной структуры или функции белков хрусталика, что и приводит к помутнению. Это происходит в результате воздействия на белки хрусталика стрессовых факторов, в том числе приобретенных внутриутробно или в детстве. Описаны различные врожденные морфологические формы катаракты, в том числе ядерная, задняя полярная, передняя полярная, пластинчатая, задняя субкапсулярная, точечная

катаракта [4]. Генетические дефекты и патогенные факторы могут влиять на различные этапы эмбрионального развития хрусталика и приводить к различным видам врожденной катаракты. Морфология катаракты может помочь выявить механизмы развития катаракты на разных стадиях развития хрусталика и в дальнейшем помочь в диагностике причины и в правильном лечении данного заболевания. Наследственные катаракты отличаются значительной клинической неоднородностью как генетически, так и фенотипически и показывают разные изменения у членов одной семьи.

Детские катаракты имеют разную этиологию, некоторые из них являются наследственными и ненаследственными, также метаболическими, травматическими, инфекционными, вторичные катаракты и катаракты, связанные с синдромами. Двусторонняя врожденная катаракта связана с генетическими отклонениями, системными заболеваниями, инфекционными факторами. Односторонняя катаракта встречается редко и чаще связана с локальными аномалиями, такими как персистирующая фетальная васкуляризация [49]. Ранняя диагностика врожденной катаракты является важным, поскольку время проведения операции одно из основных факторов, влияющих на зрительные функции. Ранняя диагностика врожденной катаракты проводится во всем мире для оптимизации лечения детей с данным заболеванием. Также можно проводить пренатальную диагностику с помощью ультразвука и генетическое тестирование. При катаракте, которая приводит к ухудшению зрения, хирургическое вмешательство рекомендуется в возрасте 6 недель при односторонней и до 8 недель при двусторонней [8].

### Возрастная катаракта

Возрастная или старческая катаракта проявляется после 45-55 лет. Возрастная катаракта обычно является результатом различных комбинаций и совокупного воздействия факторов окружающей среды в

сочетании с генетической предрасположенностью, закодированной в генах белкой хрусталика. С возрастом в кристаллинах хрусталика наблюдается множество изменений. Большинство изменений вызваны или ускорены окислительным, ультрафиолетовым, осмотическими и другими повреждениями. Изменения кристаллинов хрусталика включают протеолиз, увеличение количества дисульфидных мостиков, фосфорилирование, неферментативное гликозилирование, дезаминирование остатков аспарагина и глутамина. Кристаллины составляют более 90% растворимых белков в хрусталике глаза и являются наиболее изученными белками стареющего хрусталика. У людей бывает три класса кристаллинов в хрусталике:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -кристаллины. С возрастом  $\beta$ - и  $\gamma$ -кристаллины видоизменяются, особенно под воздействием стресса окружающей среды, и начинают терять свою стабильную белковую структуру, образуя необратимые агрегаты. При достаточном количестве времени и повреждений высокий уровень  $\alpha$ -кристаллинов в хрусталике истощается и высокомолекулярные агрегаты выпадают в осадок, присоединяясь к нерастворимому белку, количество которого увеличивается с возрастом и в хрусталиках с катарактой [73].

Некоторые факторы могут провоцировать развитие возрастной катаракты. Диарея или обезвоживающий криз, исследования показывают, что диарея, недоедание, ацидоз, обезвоживание, высокий уровень мочевины в организме и связанный с этим осмотический дисбаланс приводят к накоплению цианата, который негативно влияет на уровень глутатиона, вызывающий катаракту. При курении происходит 2-3-кратное увеличение риска развития катаракты, увеличение дозы курения было связано с увеличением помутнения ядра хрусталика. Окислительный стресс (свободные от кислорода радикалы), также являются важным фактором в развитии катаракты, с возрастом этот процесс усиливается, и концентрация белков в хрусталике увеличивается. Содержание липидов и холестерина могут влиять, мембрана хрусталика содержит большое

количество холестерина, развитие катаракты связано с повышенным накоплением и перераспределением холестерина внутри клеток [32].

Возрастные катаракты можно дополнительно классифицировать в зависимости от анатомического расположения непрозрачности внутри хрусталика на ядерные, корковые и задние субкапсуллярные катаракты. Ядерные катаракты поражают центр хрусталика, которые после затвердевания (ядерного склероза) становятся желтым или коричневым. Ядерные катаракты встречаются в пожилом возрасте и связаны с близорукостью. Корковые катаракты поражают наружные волокна хрусталика (по краям ядра) и имеют клиновидную форму. Корковые катаракты вызывают блики. Задние субкапсуллярные катаракты, поражающие заднюю кору хрусталика, наблюдаются у молодых людей. Эта форма катаракты связана с дальнозоркостью и прогрессирует быстрее. Общие симптомы различных типов возрастной катаракты включают помутнение или ухудшение зрения, блеклые цвета, блики, плохое ночное зрение и частые изменения рецепта на корректирующие линзы [34].

Эпидемиологические исследования подтверждают роль генетических факторов в развитии возрастной катаракты и исследование случаев помутнения хрусталика показывают, что наследственность является фактором риска развития разных видов возрастной катаракты [73].

### Травматическая катаракта

Катаракта, образованная после тупых или проникающих травм глаза, попадания инородного тела, приводит к физическому повреждению и разрушению капсулы хрусталика глаза. Когда наружная капсула хрусталика разрывается, внутренняя линза набухает от воды и становится белой из-за денатурации белков хрусталика. Сотрясение хрусталика без разрыва капсулы может привести к катаракте, которая изначально является субкапсуллярной и имеет звездообразный вид [32].

## Сложная катаракта

К нему относятся катаракты, которые являются вторичными по отношению к местным заболеваниям глаз, а также системные воспалительные и дегенеративные заболевания.

**Кожные заболевания и аллергия.** Помутнение хрусталика, связанные с кожными заболеваниями, называются сидроматогенной катарактой, возникают в молодом возрасте и бывают двусторонними. Атопическая катаракта наиболее распространенная и связанная с атопическим дерматитом. Механизм его неизвестен.

**Состояние глаз.** Глаукома и её лечение различными препаратами и фильтрующие операции, представляют высокий риск развития катаракты. Воспалительные заболевания глаз –uveит, вызванный аутоиммунным заболеванием или реакцией, включая гетерохромный циклит Фуха и болезнь Стилла, гипоаллергенная язва роговицы, эндофталмит, пигментный ретинит и другие пигментные дистрофии сетчатки. Миопические изменения также предшествуют развитию катаракты. Ядерная катаракта связана возможно с приобретенной миопией [32].

## Метаболическая катаракта

Такие катаракты возникают из-за эндокринных нарушений и биохимических отклонений. Галактоземическая и диабетическая катаракты – распространенные примеры этого вида катаракты.

Галактоземия связана с врожденной ошибкой метаболизма галактозы, которая возникает из-за дефицита галактозо-1-фосфат уридилтрансферазы и из-за дефицита галактокиназы.

**Сахарный диабет.** Плохой контроль сахарного диабета связан с развитием нескольких системных и глазных осложнений, включая нарушения зрения. Неконтролируемый сахарный диабет приводит к гипергликемии, которая ассоциируется в тканях глаза с неферментативным гликованием белков, осмотическим и окислительным стрессом.

Гипокальциемия. Катарактальные изменения могут быть связаны с паратиреоидной тетанией, которая возникает вследствие атрофии или случайного удаления парашитовидных желез.

Нарушения обмена меди. Врожденная ошибка метаболизма меди приводит к болезни Вильсона (гепатолентикулярной дегенерации), при которой может развиться характерное помутнение в передней капсулой области.

Питание. Исследования показывают, что дефицит микроэлементов в питании связан с катарактой. Плохое питание пациентов с катарактой ускоряет нерастворимость белка в хрусталике. Существуют множество доказательств того, что микроэлементы особенно цинк и медь, содержащиеся в питании, могут играть определенную роль в формировании катаракты у человека [32].

#### Токсическая катаракта.

Многие лекарства могут способствовать развитию катаракты, включая кортикоиды, транквилизаторы и т.д. Применение кортикоидов является ведущим фактором риска развития вторичной катаракты. Также катаракта может быть связана с применением глазных стероидов. Длительное применение миотиков, особенно ингибиторов холинэстеразы длительного действия может вызвать обратимую переднюю субкапсуллярную катаракту гранулярного типа [32].

Токсины. Многие токсины, включая синтетические химикаты и фармацевтические препараты провоцируют развитие катаракты. Тяжелые металлы, такие как ртуть накапливаются в хрусталике по мере старения и развития катаракты. Кадмий, бром, кобальт, никель являются одними из важных кофакторов процесса перекисного окисления липидов и потенциально снижают антиоксидантные функции.

Гормональная заместительная терапия. Чаще всего встречается у женщин в постменопаузе, это предполагает гормональные различия и указывает на возможную роль эстрогена. Рецепторы эстрогена были

обнаружены в хрусталике глаза с катарактой. Природный (эндогенный) эстроген защищает глаз от катаракты.

Употребление алкоголя повышает риск развития ядерной, корковой, задней субкапсулярной катаракты. Хрусталик чувствителен к окислительному стрессу и подвержен токсическому воздействию алкоголя [32].

При заболевании катаракты проводится операция по удалению катаракты – одна из наиболее часто проводимых офтальмологических операций [82]. Нередко сопутствующие заболевания глаза, такие как синдром сухого глаза (ССГ) существуют с катарактой, так как известно, что оба этих заболевания возникают с возрастом [25, 76]. Также известно, что операция по удалению катаракты сама вызывает ССГ после операции [19]. Исследования показывают примерно у 10-30% пациентов, перенесших операцию по удалению катаракты, после операции возникает ССГ [55, 68]. Вероятно, факторами, сопутствующими этому, являются такие механизмы, как повреждение нерва роговицы, воспаления, токсичность, фототоксичность от операционного микроскопа, ухудшение работы мейбомиевых желез [57]. Операция по удалению катаракты является инвазивной и рискованной, так как у некоторых пациентов может наблюдаться неоптимальное восстановление зрения после операции. Спрос на хирургию катаракты превышает ограниченные ресурсы общественного здравоохранения, особенно в странах с низким уровнем дохода. Поэтому поиск альтернативных методов лечения имеет решающее значение для снижения социально-экономического бремени и улучшения качества жизни пациентов. Раннее вмешательство в развитие катаракты имеет ключевое значение, а повышение уровня антиоксидантов может уменьшить окислительное повреждение хрусталика и подавить агрегацию белков. В последние два десятилетия эта область активно исследуется и количество исследований, связанных с фармакологическим лечением катаракты растет [60].

### 1.3. Характеристика и роль глазной микробиоты

Микробные сообщества играют важную роль в человеческом организме. Микробиота – это собирательный термин для обозначения полимикробных сообществ, которые включают бактерии, вирусы, грибы и археи [15]. Они заселяют определенное место, формируют микросреду и играют роль в метаболизме, развитии заболеваний и иммуномодуляции в организме человека [23]. Так некоторые метаболические особенности человека могут зависеть от микробных признаков. Следовательно, характеристика микробиомов в организме человека могла бы стать первым шагом в понимании роли микроорганизмов как в здоровье, так и в болезнях. Микробиом кишечника является наиболее изученным на людях микробным сообществом. Микробиом человеческого глаза, включая состав микробиоты конъюнктивы и роговицы, был исследован частично и недостаточно изучен [53]. Микробная колонизация конъюнктивы начинается вскоре после рождения, хотя были высказывания, что колонизация может начаться внутриутробно. При рождении происходит резкое изменение численности и типов флоры глазной поверхности [3].

Поверхность глаза является защитным барьером врожденной иммунной системы. Она состоит из роговицы и склеры, покрывающей их ткани, такие как конъюнктива и слезная пленка. Она формирует физический барьер благодаря наличию межклеточных соединений эпителия [52]. Слезная пленка имеет противоинфекционные молекулы, такие как лизоцимы, лактоферрин, липокалин и  $\beta$ -дефенсины [54]. Т-лимфоциты конъюнктивы, плазматические клетки, макрофаги, дендритные клетки могут вырабатывать антитела и усиливать иммунный ответ, уничтожая чужеродные микроорганизмы путем фагоцитоза и внутриклеточной деградации [65]. Поверхность глаза защищена различными антимикробными стратегиями, однако она может переносить некоторые комменсальные колонии. Липополисахариды являются основными компонентами внешней мембранны грамотрицательных

бактерий, которая служит барьером устойчивым к противомикробным соединениям, вырабатываемым организмом. Липополисахариды являются молекулярными паттернами, ассоциированными с патогенами (PAMP). Это говорит о том, что они могут быть распознаны организмом хозяина как молекулярный признак вторжения микробов [27]. Также, липотефоевая кислота грамположительных бактерий, липопротеины и микробактериальные липогликаны соответствуют критериям молекулярным паттернам, ассоциированных с патогенами [67]. Рецепторы распознавания паттерна (PRR) – это поверхностные белки антигенпрезентирующих клеток (АПК), способные распознавать PAMP. Как только PRR распознают PAMP и связываются с ним, запускается сигнальный процесс, и начинается выработка провоспалительных цитокинов, так как пара PRR-PAMP является инвазивным сигналом для иммунной системы.

С помощью культуральных методов было установлено, что на глазной поверхности, как и на другой слизистой и кожной поверхности, наблюдается обильная микробная флора, которая состоит из грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Роды *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Micrococcus* являются комменсальными грамположительными бактериями, которые присутствуют в небольшом количестве на веках, конъюнктиве и слезной пленке [24, 31]. Эти бактерии происходят из кожи и колонизируют глазную поверхность сразу после рождения. Такой состав остается относительно стабильным на протяжении всей жизни, если только она не изменяется в результате лечения антибиотиками, различных хирургических вмешательств, инфекций. Состав микробиоты поверхности глаза меняется с момента рождения до зрелого возраста и остается сравнительно стабильным на протяжении всей жизни. Конъюнктива новорожденных носит более высокий уровень положительных культур и большое разнообразие видов, чем на других этапах жизненного цикла человека [77]. Коагулазонегативные *Staphylococcus* и *Propionibacterium*

преобладают в микрофлоре глаз у новорожденных, которые родились естественным путем, однако микробы, похожие на те, что находятся в шейке матки, также часто обнаружаются. Через два дня после рождения из конъюнктивы выделяется меньшее количество микробов и превалируют *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* [62]. Микробиота поверхности глаза становится более похожей по составу на микробиоту взрослого человека. Заметно, что у детей в общем наблюдается более многочисленное разнообразие видов, включая доминирующие аэробные кокки и *Propionibacterium* [13]. С возрастом увеличивается доля анаэробных кокков и бактерий рода *Corynebacterium*. Самым заметным разнообразием видов глазной микробиоты наблюдалось у пожилых людей в возрасте от 28 до 84 лет [2]. Грамотрицательные бактерии рода *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, а также грибы встречаются реже, но они могут присутствовать у здоровых людей [65]. Наиболее часто на конъюнктивальной поверхности здоровых людей выделяют *Staphylococcus epidermidis*, они обычно выделяются из 20-80% конъюнктивальных мазков и из 30-100% мазков из области края век. Реже встречаются такие виды, как *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp. [43].

Основным недостатком методов, которые основаны на культивировании, является то, что при выявлении видов предпочтение отдается быстрорастущим микроорганизмам, которые можно успешно культивировать на стандартных средах [24].

Обнаружение и идентификация видов микроорганизмов на основе геномики выявили значительно более широкое разнообразие микробиоты поверхности глаза, чем то, что было обнаружено с помощью методов культивирования. Первое исследование видов бактерий, обнаруженных на поверхности глаза, с использованием ПЦР на основе секвенирования генов было проведено в 2011 году с исследователями из Института глазных болезней. Секвенирование ДНК конъюнктивы выявило в среднем 221 вид

бактерий на одного человека [24]. Бактерии были разделены на пять типов и 59 отдельных родов. Из пяти типов бактерий прокариоты, актинобактерии и *Firmicutes* составляли 87%, оставшиеся два типа цианобактерии и бактероиды присутствовали в незначительных количествах [51].

Поверхность глаза и склера покрывают внутреннюю полость глаза. Внутриглазная среда считается стерильной из-за её закрытой анатомической структуры, а также из-за защиты, обеспечивающей плотным и непроницаемым барьером между кровью и сетчаткой, если только патогены не проникают в неё из-за обстоятельств. Заражение может произойти при повреждении наружных отделов глаза во время операции или из-за травмы, проникающим предметом. Заболевания, связанные с поражением сосудов сетчатки, могут приводить к проникновению микроорганизмов из циркулирующей крови, потому что в нормальной человеческой крови содержится значительное количество микроорганизмов. Также некоторые микробы могут распространяться по нервам. Случаи заражения центральной нервной системы в результате неврологического распространения тоже бывают. Стекловидное тело и водянистая влага содержат множество органических и неорганических компонентов, которые образуют хорошую среду для микроорганизмов. Исследователи обнаружили, что микроорганизмы *Bacillus Subtilis* и *Bacillus Megaterium* – хорошо растут в водянистой влаге [48].

Хирургическое удаление катаракты является самой распространенной глазной операцией. Несмотря на прогресс в удалении катаракты, послеоперационный эндофталмит является одним из самых страшных осложнений, которое может привести к полной слепоте в 50% случаев. В некоторых исследованиях говорилось о бактериальном загрязнении водянистой влаги во время операции по удалению катаракты. Эндогенная микробиота конъюнктивы является основной причиной послеоперационных и посттравматических глазных инфекций.

Молекулярные методы показали сходство между штаммами, выделенными из стекловидного тела, передней камеры глаза и интраокулярной линзы у пациентов с эндофталмитом, вызванным коагулазоотрицательными стафилококками. Грамположительные микроорганизмы могут быть обнаружены в 70% эндофталмита, при этом самыми распространенными возбудителями являются коагулазоотрицательные стафилококки. Известно, что коагулазоотрицательные стафилококки способны адгезироваться и размножаться на полимерных поверхностях, в том числе на интраокулярных линзах. После адгезии они выделяют вязкий внеклеточный матрикс – биопленку, который защищает микроорганизмы от действия антибиотиков и иммунного ответа хозяина. При выделении культур из мазков и линз после контакта с конъюнктивой пациента, которые подверглись операции, количество колоний, выделенных из интраокулярных линз, было в 4 раза выше, чем из мазков [50].

На микробиоту глаз могут влиять различные факторы такие как условия окружающей среды, возраст, пол, личные привычки, ношение контактных линз, антибиотики, сопутствующие заболевания, инфекции и т.д. Так как внутриглазное пространство относительно изолировано от внешней среды, можно предположить, что внутриглазная микробиота в большей степени связана с факторами, которые влияют на организм. Возраст и гормоны оказывают большое влияние на иммунную регуляцию и здоровье глаз [83].

Синдром сухого глаза – это мультифакторное заболевание поверхности глаз, которое характеризуется нарушением гомеостаза слезной пленки, что в ряде случаев приводит к чрезмерному испарению слёз. Слезные железы, располагаются в веках, отвечают за выделение маслянистых компонентов слезной пленки, которые защищают поверхность глаза от чрезмерной сухости, повреждений. Нарушение работы слёзных желёз приводит к синдрому сухого глаза. В исследованиях сохраняются несоответствия в видах микроорганизмов, которые

изменяются при синдроме сухого глаза и дисфункции мейбомиевых желез. У людей с другими заболеваниями такими как диабет, высокий холестерин, артрит, также наблюдались изменения в микробиоте поверхности глаза [48].

Известно, что глазные заболевания возникают в результате взаимодействия между глазом и кишечником, известным как ось «кишечник-глаз» [58]. В связи этих взаимоотношений гомеостаз кишечника помогает поддерживать здоровье сетчатки, регулируя иммунную систему хозяина и вырабатывая различные противовоспалительные факторы [23]. Однако причинно-следственная связь между изменениями микробиоты кишечника и заболеваниями глаз до конца не изучена, предполагают, что дисбиоз, а именно нарушение баланса, микроорганизмов на поверхности глаза может вызывать воспалительную реакцию, которая способствует повреждению зрительного нерва и прогрессированию заболеваний глаза [11].

Поскольку на микробиоту глаза могут влиять различные факторы, такие как пол, возраст, окружающая среда, ношение контактных линз, географическое положение, антибиотики, определение точного состава нормальной микробиоты глаз затруднителен [3, 30, 64]. Нарушение микрофлоры глаз, так называемые дисбактериозом, характеризуется чрезмерным ростом некоторых патогенных бактерий, которые могут вызывать различные заболевания глаз. Кроме того, бактерии, которые непатогенные при наличии на поверхности глаза, могут стать патогенными при попадании в глаз из-за различий в иммунологическом состоянии конъюнктивы и внутриглазной среды. Так, миграция бактерий во время внутриглазной хирургии была продемонстрирована в экспериментальных моделях, в которых флуоресцентные микросфера, имитирующие стафилококки, распространялись по передней камере и по поверхности интраокулярной линзы во время операции по удалению катаракты [80]. Особенno до и после офтальмологических операций, соблюдение гигиены

глаз и контроль микробной нагрузки на поверхности глаза имеют решающее значение для минимизации риска инфицирования и предотвращения серьезных послеоперационных осложнений. В настоящее время используются различные стратегии предоперационной и послеоперационной антисептики, чтобы уменьшить риск присутствия патогенных микроорганизмов на поверхности глаза. Послеоперационные антибиотики для местного применения назначают на срок до 1 недели после операции до заживления, чтобы избежать риска развития устойчивых к антибиотикам микроорганизмов. Одним из опасных и угрожающих зрению осложнений после операции по удалению катаракты являются послеоперационные инфекции, эндофталмит – гнойное воспаление внутриглазных жидкостей, включающих стекловидное тело и водянистую влагу [80].

Ношение контактных линз влияет на микрофлору глаз, что приводит к дисбактериозу и повышает риск глазных заболеваний. На это влияют материал линз, способ их использования и возраст человека. По результатам данных в статье, в группе лиц, которые носили контактные линзы, было показано, что сухие мазки с конъюнктивы от лиц, носивших линзы, имеют более разнообразную структуру сообщества бактерий, подобную коже, с более высоким содержанием *Methylobacterium*, *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и меньшее количество *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, по сравнению с теми, кто пользуется контактными линзами [75]. Имеются различия в количестве бактерий между теми, кто носил мягкие контактные линзы, и теми, кто носил ортokerатологические линзы [88]. Возраст также влияет на состав микробиоты у людей, которые носят контактные линзы. У взрослых людей, носивших мягкие контактные линзы, микрофлора глаз более обильна, в то время как у детей в возрасте 8-14 лет, использующих мягкие контактные линзы на основе 2-гидроксилэтилметакрилата более двух лет, не наблюдалось различий в составе микробиоты. Также сообщалось об

увеличении количества бактерий, выделенных из конъюнктивы и век при ежедневном ношении линз. Но длительное ношение линз было связано с изменением типов микроорганизмов, и было выделено больше грамотрицательных бактерий. Контактные линзы также изменяют сбалансированный состав микробиоты, в основном увеличивая концентрацию грамположительных бактерий в области нижнего края век и уменьшая концентрацию в верхних отделах конъюнктивы. Наличие грамположительных микроорганизмов на контактных линзах, таких как *Corynebacterium spp.* и коагулазонегативных *Staphylococcus*, связан с более высокой восприимчивостью к развитию язв роговицы. Присутствие грамотрицательных микроорганизмов на контактных линзах способствует развитию эффекта красных глаз, связанных с контактными линзами. Однако в случаях покраснения глаз, связанных с ношением контактных линз, мягкие контактные линзы являются основной причиной развития дисбиоза.

## **1.4. Лабораторная диагностика и лечение глазных заболеваний**

Терапия глазных заболеваний требует этиологической диагностики, которая представляет собой совокупность наблюдений за клиническими проявлениями и микробиологические исследования. Диагноз глазных инфекций ставится клинически на основании осмотра глаза. Перед системным лечением для начала нужно взять образцы, которые инкубируются непосредственно у постели больного, либо отправляются в микробиологическую лабораторию. Из-за серьезных последствий при инфекции, такие как потеря зрения, слепота, важно чтобы лаборатория и врачи-офтальмологи тесно сотрудничали, чтобы использовать оптимальные методы для установления этиологии инфекции и для лечения [47]. В работе офтальмологов есть *in vivo* и *in vitro* методы диагностики глазных инфекций. Доступен широкий спектр традиционных и молекулярных методов, которые позволяют не только быстро диагностировать распространенные инфекции, но и могут выявить неизвестные микроорганизмы, которые могут быть связаны с глазными инфекциями. Инфекции глаз могут быть вызваны бактериями, грибами, паразитами или вирусами. В последнее время методы *in vivo*, такие как конфокальная микроскопия, продвинулись в диагностике, но такое оборудование может быть доступно не во всех учреждениях. В связи с этим подтверждение с помощью микроскопического исследования и культивирования образцов остается золотым стандартом этиологической диагностики.

Конфокальная микроскопия – это неинвазивный метод, который обеспечивает увеличение до  $\times 200-500$  с повышенным контрастом изображения и позволяет визуализировать детали роговицы даже при помутнении роговицы. Позволяет проводить повторные наблюдения, которые помогают в диагностике, лечении и наблюдении за пациентами [39, 79, 33].

Микробиологические методы. Образцы для диагностики глазных заболеваний берутся в месте локализации инфекции. Образцы требуют особого обращения и обработки непосредственно пациента [33]. Важным этапом традиционных микробиологических исследований является выделение микроорганизмов из образцов с исключением загрязнения при контакте с человеком. Для изучения микроорганизмов использовали методы изоляции и культивирования. Методы, основанные на культивировании, могут использоваться только для характеристики небольшого процента фактических микробных популяций в образце, так как они ограничены фенотипическими характеристиками микробов, например, способностью микробов в образце размножаться в определенной питательной среде или на ней при определенных условиях [28, 61].

Многие микробиологические лаборатории проводят быструю диагностику на основе первичного исследования мазков клинических образцов, что помогает начать специфическое лечение на ранней стадии заболевания. Микроскопическое исследование мазков, окрашенных определенным образом, позволяет поставить этиологический диагноз, не требующий культивирования. Самым часто используемым методом является окрашивание по Граму, который позволяет выявить наличие бактерий, грибов и паразитов. Было показано, что обнаружение неокрашенных или же частично окрашенных бацилл в соскобах с роговицы позволяет предположить наличие инфекции, вызванной микобактериями. Результаты окрашивания по Граму образцов, взятых из глаз, имеют высокую прогностическую ценность, но низкую чувствительность из-за ограниченного объема образца и предшествующей противомикробной терапии [6]. Все образцы из конъюнктивы и слезных протоков следует окрашивать по Граму для выявления грамотрицательных диплококков, а именно для видов *Neisseria*, так как в этом случае требуется неотложная медицинская помощь. Обнаружение крупных, прямоугольных

граммоположительных палочек, характерных для *Bacillus* должно вызывать опасения по поводу быстро прогрессирующих инфекций. Соскоб с роговицы и биопсия стекловидного тела связаны с некоторым риском для пациента из-за небольшой массы образца, поэтому окрашивание по Граму нужно проводить только по просьбе врача. Окрашивание по Граму соскоба с роговицы и стекловидного тела менее чувствительно, чем посев [40, 35, 7]. Окрашивание мазка по Циль-Нильсену выявит наличие кислотоустойчивых микроорганизмов, что послужит основанием для немедленного назначения терапии амикацином. Таким образом, на основании результатов первичного осмотра мазка из образца, можно составить план лечения [72]. Быстрый диагноз при вирусной инфекции можно поставить, изучив окрашенные мазки соскобов с роговицы, соскобов/мазков с конъюнктивы. Это можно сделать с помощью неспецифических методов окрашивания мазков, такие как окрашивание по Гимзе, Папаниколау и гематоксилином и эозином. Эти методы помогают выявить многоядерные гигантские клетки, внутриядерные/внутриклеточные включения, также различные воспалительные клетки, преимущественно лимфоциты. При окрашивании по Папаниколау внутриядерные включения видны лучше, чем при окрашивании по Гимзе, но окрашивание по Гимзе хорошо подходит для оценки типов клеток.

Для получения клинически значимых данных о результатах посева из глазных культур нужно открытое взаимодействием с врачами-офтальмологами и гибкость в работе микробиологической лаборатории. Лаборатория должна информировать врачей о том, что они должны сообщать о любых опасениях, связанных с организмами, которые могут потребовать длительной инкубации или особых условий культивирования. Также для выявления редких инфекционных заболеваний, вызывающих поражение глаз, лаборатории нужен подробный анамнез, включающий информацию о сопутствующих заболеваниях, риске заражения

инфекцими, передающиеся половым путем, поездках и иммиграции, о вакцинации пациента.

Обработка для культивирования включает в себя посев образца на определенные питательные среды. Предварительное знание о предполагаемых микроорганизмах помогает определить тип среды, которую нужно использовать для культивирования. Грибки, вызывающие глазные инфекции, являются быстрорастущими сапрофитными грибками, которые могут расти на средах, такие как кровяной и шоколадный агар, которые также используются для бактерий [22]. Все среды ежедневно проверяют на рост и инкубируют в течение 1-2 недель. Наличие организмов с ожидаемой морфологией и лейкоцитов при окрашивании по Граму может помочь определить клиническое значение [46]. Чистая культура одного микроорганизма требует идентификации и определения чувствительности к противомикробным препаратам, за исключением коагулазонегативных стафилококков. Часто встречающиеся бактериальные и дрожжевые патогены при глазных инфекциях, можно достоверно идентифицировать с помощью масс-спектрометрии с временем пролета (MALDI-TOF MS) [63]. В отличие от этого идентификация видов *Bacillus* с помощью MALDI-TOF MS может быть затруднена. Это влияет на оптимальное лечение эндофталмита, учитывая повышенную устойчивость *Bacillus cereus* по сравнению с *Bacillus subtilis* [14, 36]. Различные другие традиционные методы, в том числе биохимические наборы, тоже надежны для выявления большинства бактериальных патогенов, поражающих глаза [29].

Тесты на чувствительность помогают определить наиболее эффективный препарат, который можно использовать для лечения. Чувствительность бактерий к антибиотикам стандартизированы и обычно проводятся по диско-диффузионному методу, а также по методам разведения в бульоне и на агаре для определения минимальной ингибирующей концентрации антибактериальных препаратов. Метод

диффузии в агар позволяет определить, является ли организм чувствительным, устойчивым или среднечувствительным, процедуры разведения в бульоне позволяют определить минимальную летальную концентрацию или минимальную бактерицидную концентрацию.

Посев образцов из глаз на вирусы. Образец для диагностики вируса нужно собирать в подходящую транспортную среду. Можно использовать такие среды как сбалансированный солевой раствор Хэнка или 2-сахарный фосфатный бульон. Образцы могут быть обработаны различными методами, выбор метода зависит от типа образца и конкретного вируса, на который ведется поиск. Рост вируса в клеточных линиях подтверждают по характерным клеточным изменениям или по цитопатическому эффекту (ЦПЭ), либо с помощью методов иммунофлуоресценции или иммунопреципитации, которые выявляют вирусные антигены в инфицированных клеточных линиях. Появление ЦПЭ занимает несколько дней, но антигены можно выявить ещё до появления ЦПЭ. Вирусы можно культивировать в клеточных линиях, которые выращиваются в пробирках или на покровных стёклах во флаконах. В последнее время методы молекулярной диагностики вирусов для выявления вирусной ДНК в клинических образцах вытеснили выделение вирусов.

Молекулярные методы, особенно ПЦР, в настоящее время являются наиболее востребованными тестами для диагностики вирусов и обнаружения организмов, которые тяжело поддаются культивированию, или которые растут очень долго. ПЦР – это быстрый, надежный и чувствительный метод для диагностики бактериальной и грибковой инфекции. ПЦР в реальном времени имеет большое преимущество в том, что является количественной, и говорилось о её применении для диагностики и наблюдения за несколькими глазными вирусными инфекциями [37]. Секвенирование фрагментов генома часто помогает идентифицировать организмы, которые трудно идентифицировать с помощью традиционных методов.

## Микробиологическая терапия

Антибиотические препараты, которые используются для лечения глазных инфекций, можно вводить разными способами: перорально, интракамерно, интрастромально, внутривенно, субконъюнктивально и другими способами. Препараты местнодействующие закапываются непосредственно на конъюнктиву и поверхность роговицы и начинают действовать, но они быстро разбавляются слезной жидкостью и быстро выводятся из организма через слезную систему. Внутривенные препараты в свою очередь должны проникать из капилляров склеры в бессосудистую роговицу или из внутренних капилляров глаз во внутренние ткани глаза. Самыми распространенными глазными инфекциями являются бактериальный кератит и конъюнктивит, которые обычно лечат местными противомикробными препаратами [9].

Для лечения пациентов с глазными инфекциями имеются несколько классов антибактериальными препаратов: цефалоспорины, сульфаниламиды, макролиды, аминогликозиды, карбапенемы, линезолид, даптомицин, рифампицин, фторхинолоны.

Офтальмологические антибиотики используются для лечения и профилактики инфекционных и воспалительных заболеваний. Изменение микробиома глаза влияет на гомеостаз глаза и повышает риск глазных инфекций [56]. Применение антибиотиков вызывает изменение микробиоты глаза, а их долгое применение может способствовать развитию устойчивости к антибиотикам. В последние годы в качестве альтернативы антибиотикотерапии были предложены пробиотики и препараты на основе метаболитов, а также терапия бактериофагами.

Пробиотические препараты стали популярным средством, использующим их преходящие и неинвазивные свойства, которые помогают поддерживать здоровую иммунную систему, улучшая здоровье кишечника. Считается, что пробиотики модулируют иммунные реакции, защищают от физиологического стресса, подавляют вторжение патогенов,

регулируют микробиоту и улучшают барьерную функцию эпителия кишечника [71]. Лактобактерии, способны уменьшать количество внеклеточных ловушек нейтрофилов. *Bacillus fragilis* обеспечивает защиту от аутоиммунных заболеваний благодаря полисахаридной капсule. В некоторых исследованиях оценивается стабильность пробиотической глазной капли, содержащей *Saccharomyces boulardii* и *Lactobacillus rhamnosus*. Ученые доказали, что введение *Enterococcus faecium* и *Saccharomyces boulardii* в слезную пленку эффективно при синдроме сухого глаза [16]. Изменения в микробиоме кишечника после лечения IRT5, смесью из пяти пробиотических штаммов, показали улучшение клинических проявлений в модели аутоиммунного сухого глаза за счет снижения активности антигенпрезентирующих процессов в иммунной системе [37]. В тоже время пробиотики IRT5 могут модулировать EAU, снижая процент патогенных CD8+ Т-клеток в лимфатических узлах [42]. Также, интересно, что *Lactobacillus paracasei* KW3110 улучшал функцию культивируемых клеток RPE при хроническом воспалительном стрессе и мог безопасно снимать усталость глаз у людей [85].

### Старческая катаракта

Это прогрессирующее помутнение хрусталика, является результатом сложных взаимодействий между генами и окружающей средой в процессе старения. Кумулятивное окислительное повреждение, которое вызвано длительным воздействием ультрафиолетового излучения солнечного света, а также старение антиоксидантной системы защиты в тканях глаза являются значимыми факторами, способствующими образованию катаракты [59]. Кристаллы в волокнах хрусталика не восстанавливаются, соответственно хрусталик хорошо оснащен высокоактивной системой антиоксидантной защиты от окислительного повреждения. Окислительный стресс в хрусталике человека в основном устраняется неферментативными антиоксидантами, а именно глутатионом и аскорбиновой кислотой [59]. В

хрусталиках с катарактой уровень общей антиоксидантной способности (ТАС) значительно ниже, чем в хрусталиках здоровых людей [38]. Снижение ферментативной активности антиоксидантов может быть вызвано генетическими вариациями в генах, кодирующих антиоксиданты. Водянистая влага играет важную роль в защите передней эпителиальной выстилки хрусталика от окислительного стресса. Глутатион является распространенным антиоксидантом в водянистой влаге, так как на его долю приходится до 73,2% ТАС в водянистой влаге [78]. Ферментативные антиоксиданты в водянистой влаге, в их числе каталаза, глутатионпероксидаза, значительно снижаются по мере увеличения степени твердости ядра хрусталика. Основной компонент в водянистой влаге, а именно аскорбиновая кислота, снижен в водянистой влаге пациентов с катарактой по сравнению со здоровыми образцами [86]. У пациентов с задней субкапсулярной катарактой в водянистой влаге глаз обнаруживается более высокий уровень мочевой кислоты [66]. Наблюдается, что у пациентов с катарактой уровень общей антиоксидантной способности в сыворотке крови на 30% ниже, чем у здоровых людей [38].

Доклинические исследования объясняют потенциальную пользу потребления витаминов С и Е для профилактики и замедления развития катаракты. Витамины С и Е это антиоксиданты в хрусталике глаза человека. Витамин С поглощает и нейтрализует активные формы кислорода и свободные радикалы [41]. Источниками витамина С являются картофель, помидоры и цитрусовые [26]. Также витамин С способен поглощать ультрафиолетовый свет предотвращая окислительное повреждение. Витамин Е понижает выработку активных форм кислорода во время окисления жиров и распространения реакций со свободными радикалами. Источниками витамина Е являются семена, орехи и зеленые листовые овощи [70]. Именно недостаток витамина С может сделать хрусталик более восприимчивым к катаракте.

Пищевые ксантофиллы, а именно лютеин и зеаксантин являются компонентами пигмента сетчатки. Окислительное повреждение, которое вызывается проникновением света в глаз, является важным фактором, способствующим развитию катаракты. Ультрафиолетовое излучение может вызывать фотохимическое образование активных форм кислорода, которое приводит к окислительному повреждению, но пиковые спектры поглощения лютеина и зеаксантина помогают уменьшить это повреждение, отфильтровывая синий и УФ-свет. Лютеин содержится в листовых зеленых овощах, яичный желток и зеленом перце, а зеаксантин тоже в яичных желтках и красном перце [81]. В настоящее время хирургическое удаление катаракты и замена хрусталика на искусственный являются наиболее эффективными методами лечения катаракты. Также операция по удалению катаракты может сопровождаться осложнениями, такими как разрыв задней капсулы, эндофталмит и необходимость в повторной операции [87]. Разработка новых фармакологических препаратов может помочь решить эти проблемы и улучшить состояние пациентов с катарактой.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Объекты исследования**

В качестве метода для получения материала был выбран метод смыва, который производили с поверхности глаза. Клинический материал был получен во время приема врача-офтальмолога Всероссийского Центра глазной и пластической хирургии, практическая часть работы была выполнена на кафедре фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирского государственного медицинского университета» Минздрава России.

### **2.2. Методика сбора материала**

Перед взятием материала с поверхности глаза (конъюнктивы), готовится универсальная транспортная среда – тиогликолевая среда. В качестве метода для получения материала использовался метод смыва. Взятие материала производил врач-офтальмолог в стерильных условиях. Берется стерильный ватный тампон для сбора образцов, оттягивают нижнее веко и проводят ватным тампоном по поверхности конъюнктивы 3-4 раза., затем полученный образец помещают в пробирку с тиогликолевой средой для транспортировки и дальнейшего исследования в лаборатории.

Мазок брали с левого и правого глаза. Пациентов разделили на две группы: контрольная (группа сравнения) и рабочая группа с данным заболеванием. Каждый пациент заполнял анкету клинического исследования, где указывали ФИО, пол, дату рождения, наличие аллергии, основной диагноз (наличие или отсутствие офтальмопатологии), сопутствующие диагнозы, список используемых препаратов, если на момент сбора анализов проводится лечение глазного заболевания, также собран анамнез у всех пациентов, согласившихся на исследование.

## **2.3. Подготовка лабораторной посуды**

Перед началом исследования в лаборатории производится подготовка посуды. Лабораторная посуда должна быть чистой и хорошо вымытой, для этого используют моющие средства, также для дополнительной чистки могут использоваться специальные ершики и щетки. Вымытую посуду промывают водопроводной водой, после ополаскивают дистиллированной водой, далее высушивают на лабораторных подносах при комнатной температуре.

Как посуда подсохнет её упаковывают в фольгу или крафт бумагу и ставят в сухожаровые шкафы на некотором расстоянии друг от друга и от стенок сухожара. Стерилизацию в сухожаре проводят при 180°C на 90 минут (для чашек Петри) и при 160° на 60 минут (для пробирок и флаконов). По завершению стерилизации сухожар не открывают пока температура в нем не снизится до комнатной температуры. После чего посуду можно использовать по необходимости.

Стерильные флаконы с питательной средой стерилизуют методом автоклавирования, то есть насыщенным паром под давлением, при 1,1 атм (121°C) в течение 15 минут. По завершению стерилизации автоклав выключают, флакон со средой достают из автоклава, после чего производят разлив среды в нужную посуду.

## **2.4. Приготовление питательных сред для культивирования микроорганизмов**

До того, как производить посев нужна жидкая транспортная среда – тиогликолевая. Тиогликолевая среда (Оболенск, Россия) – это среда для контроля стерильности, для культивирования различных анаэробов и аэробов, также подходит для сохранения микроорганизмов на протяжении периода транспортировки материала.

Состав среды, г/л:

1. Панкреатический гидролизат казеина 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  $0,8\pm0,2$
7. Цистеина гидрохлорид 0,75
8. Агар 0,75

pH 7,0 — 7,4

Приготовление включает в себя: 31 грамм питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до растворения агара. Затем фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по 5 мл в стерильные емкости и автоклавируют при температуре 121°C в течение 15 минут. После среду разливают в стерильные пробирки (эпандорфы) для дальнейшего сбора и транспортировки образца.

Для культивирования микроорганизмов используют различные по составу питательные среды, в которых содержатся вещества, нужные для роста данного микроорганизма.

В данном исследовании были использованы такие питательные среды, как Кровяной агар, Желточно-солевой агар (ЖСА), Сабуро, среда Эндо, Агар Мюллера-Хинтона.

Кровяной агар – это питательная среда на основе ГРМ-агара (Оболенск, Россия) с добавлением 5% животной крови, именно благодаря чему происходит улучшение роста микроорганизмов, при этом можно увидеть гемолиз, что ускоряет процесс идентификации бактерий.

В состав среды входит, г/л:

1. Панкреатический гидролизат рыбной муки 12,0
2. Пептон ферментативный 12,0
3. Натрия хлорид 6,0
4. Агар микробиологический  $10,0 \pm 2,0$

Процесс приготовления включает: 39 г агара растворяют в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 минуты до полного растворения агара. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в стеклянный флакон и автоклавируют при  $121^{\circ}\text{C}$  в течение 15 минут. После автоклавирования среду охлаждают до температуры  $50^{\circ}\text{C}$ , добавляют 5% животной крови, перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри по 25 мл. После того, как агар застыл, чашки подсушивают в стерильных условиях при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 40-60 минут. Далее готовую среду можно использовать в течение 7 суток при хранении в холодильнике.

Желточно-солевой агар (ЖСА) – это селективная и дифференциальная среда, на основе солевого агара (Микроген) с добавлением желтка куриного яйца (для выявления лецитиназного венчика) и высокой концентрации хлорида натрия, предусмотренная для выращивания стафилококков.

В состав среды входит, г/л:

1. Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой  $35,0 \pm 1,8$
2. Натрия хлорид 75
3. Натрий углекислый 0,15
4. Динатрия фосфат обезвоженный 0,5

Процесс приготовления включает: 112,2 г сухой питательной среды растворяют в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 минуты до полного

растворения агара. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в стерильный стеклянный флакон и автоклавируют при температуре 121°C в течение 15 минут. После среду охлаждают до температуры 50°C, добавляют желток куриного яйца, размешивают, разливают в стерильные чашки Петри по 25 мл. После застывания среды, придерживаясь правил асептики, чашки подсушивают при температуре 37°C в течение 40-60 минут. Готовая среда в чашках Петри должна быть прозрачной и желтого цвета. Готовую среду ЖСА можно использовать в течение 15 суток при температуре хранения от 2 до 8°C.

Среда Сабуро (Оболенск, Россия) – это питательная среда для выращивания дрожжеподобных и плесневых грибов. Содержит добавки хлорамфеникол и цефалексин, которые ингибируют рост бактерий, тем самым обеспечивая оптимальные условия для развития грибов и дрожжей.

В состав среды входит, г/л:

1. Панкреатический гидролизат рыбной муки 10,0
2. Панкреатический гидролизат казеина 10,0
3. Дрожжевой экстракт 2,0
4. Натрия фосфат однозамещенный 2,0
5. Д-глюкоза 40,0
6. Агар 10,0±3,0

pH 6,0±0,3

Приготовление: нужное количество среды, которое указано на этикетке, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 минуты до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, затем разливают во флаконы, автоклавируют при температуре 121°C в течение 15 минут. По истечению времени среду охлаждают до температуры 50°C, разливают в стерильные чашки Петри по 25 мл и после

застывания подсушивают при 37 градусах. Готовая среда прозрачная, имеет желто-коричневый цвет. Возможна легкая опалесценция. Агар используют в течение семи дней при хранении в условиях температуры холодильника.

Среда Эндо (Оболенск, Россия) – это селективная и дифференциальная среда, используется для культивирования энтеробактерий. При росте лактозоположительных бактерий проявляется красно-розовая окраска, а лактозоположительных – прозрачная.

В состав среды входит, г/л:

1. Панкреатический гидролизат рыбной муки 12,0
2. Дрожжевой экстракт 1,0
3. Натрия хлорид 3,4
4. Д-(+)-лактоза 10,0
5. Натрия сульфит, безводный 0,8
6. Натрия фосфат 2-зам. 12-водный 0,5
7. Фуксин основной 0,2
8. Агар  $10,0 \pm 3,0$

pH  $7,4 \pm 0,2$

Приготовление: растворить 36,0 г вещества в 1 л дистиллированной воды. Довести до кипения, чтобы среда растворилась полностью. Тщательно помешивая и разлить в стерильные чашки Петри, при минимальном количестве света, так как среда чувствительна к свету.

Агар Мюллера-Хинтона (HIMEDIA, Индия) – эта среда используется для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Состав среды, г/л:

1. Вытяжка из говядины 300,0
2. Кислотный гидролизат казеина 17,50
3. Крахмал 1,50
4. Агар 17,00

pH 7,3±0,2

Приготовление среды: растворить 38 г в 1000 мл дистиллированной воды. Кипятить до полного растворения. Стерилизовать в автоклаве при температуре 121°C 15 минут. Готовую среду можно использовать в течение 7 дней при хранении в холодильнике.

## **2.5. Методика культурального посева на питательные среды**

После приготовления питательных сред происходит процесс посева образцов на твердую питательную среду. Первичный посев материала производился после суток инкубации в термошайкере.

Посев производился на твердую питательную среду в чашку Петри с использованием бактериологической петли. Чашку Петри берут в левую руку, придерживая дно одной стороной с помощью указательного и среднего пальцев, а другой стороной придерживать безымянным и мизинцем. Крышку чашки Петри нужно приоткрыть, чтобы был доступ для бактериологической петли, фиксировав указательным и средним пальцами. Образец берут с эплендорфа с тиогликолевой средой, небольшое количество образца наносят на поверхность питательной среды у края чашки, затем бактериологическую петлю прожигают над пламенем горелки, бак петлю держат плоско на питательной среде, чтобы избежать царапин, и методом истощающих штрихов проводят по всей среде или по секторам, предварительно чашку Петри разделив на равные части. После

проведения посевов чашки закрывают, подписывают и помещают в термостат крышкой вниз.

## **2.6. Идентификация микроорганизмов. Масс-спектрометрия**

Идентификация микроорганизмов проводилась методом масс-спектрометрии. Масс-спектрометрия – это метод идентификации веществ, который основан на измерении массы и заряда ионов, образующихся при ионизации компонентов образца.

Устройство масс-спектрометра:

1. Система для ввода исследуемого образца
2. Источник ионизации с ускорителем ионов
3. Масс анализатор (для разделения ионов, отношение его массы к заряду  $m/z$ )
4. Детектор
5. Устройство для регистрации.

Для предотвращения сталкивания ионов с другими молекулами или атомами, анализ проходит в вакууме.

Принцип работы масс-спектрометра. Для идентификации берется чистая культура микроорганизма и наносится на многоразовую металлическую пластину из нержавеющей стали, после того как колонии подсохли туда же капают матрицу в объеме 0,11 мкл, затем ждут высыхания матрицы. Далее пластина помещается непосредственно в прибор, там на матрицу с неизвестным микроорганизмом начинают поступать импульсы лазера. Матрица преобразует энергию лазера в энергию возбуждения и тем самым помогает в ионизации белков бактерий (рибосомальных). Происходит ионизация, после чего ионы в электромагнитном поле с разной скоростью поднимаются по пролетной трубе до масс-анализатора, где и разделяются по отношению массы к

заряду m/z. Чем меньше масса иона, тем медленнее скорость его пролета. Нейтральные ионы удаляются вакуумом. Разделенные ионы перемещаются в зону детектора. Вычисляется скорость перемещения ионов до детектора и отношение массы к заряду ионов. В результате строятся спектры масс анализируемых образцов, которые сравниваются с известными спектрами, находящимися в базе [18, 20, 45].

## **2.7. Выявление антагонистической активности бактерий методом перпендикулярных штрихов**

Для выявления антагонистической активности бактерий используется такая среда, которая должна обеспечивать хороший рост испытуемой бактерии и тест-штаммы бактерий. Идентифицированные бактерии (*S. epidermidis*, *S. hominis*) по отдельности засевали на кровяной агар вертикальным штрихом по центру чашки Петри. Далее чашки инкубировали в термостате на 37°C в течение 24 ч. После инкубации на чашки методом перпендикулярных штрихов от края чашки к центру подсевают *E. coli*, *S. aureus* и *Candida spp.* Инкубировали сутки в термостате при 37°C с последующим измерением (в мм) зон ингибции роста.

## **2.8. Выявление антибиотикочувствительности к препаратам, выделенных штаммов бактерий**

Определяли чувствительность бактерий к антибиотикам, были использованы 5 видов антибиотиков: офлоксацин (HIMEDIA), цефтриаксон (HIMEDIA), цефазолин (HIMEDIA), цефотаксим (HIMEDIA), амоксициллин (НИЦФ). Для определения антибиотикочувствительности препаратов, применяемых при лечении катаракты были использованы 4 вида капель с разным действующим веществом, не описанным антибактериальным действием (таблица 1).

Таблица 1. Используемые препараты.

| Название препарата | Действующее вещество              |
|--------------------|-----------------------------------|
| Таустин            | Таурин                            |
| Офтаринт           | Цитохром С, никотинамид, аденоzin |
| Каталин            | Пиреноксин                        |
| Дикло-ф            | Диклофенак                        |

Для выявления антибиотикочувствительности была использована среда Мюллера-Хинтона. Использовались, выделенные чистые культуры бактерий *Staphylococcus epidermidis* (разные штаммы, от разных пациентов), *S.hominis*, *S.aureus*. Из них готовили инокулюм, в пробирку наливали стерильный физиологический раствор по 5 мл, стерильной бактериальной петлей брали чистую колонию и вносили в пробирку. Доводили плотность инокулюма по стандарту мутности МакФарланда до 0,5. Далее каплю готового инокулюма наносили на среду Мюллера-Хинтона и методом посева «газоном», распределяли материал по поверхности с помощью шпателя до полного впитывания. После того, как произвели посев материала на среду, наносили препараты капель примерно одного размера и диски, пропитанные антибиотиками, ждали полного высыхания капель и сутки инкубировали чашки в термостате при 37°C.

## 2.9. Формирование биопленок, выделенных штаммов бактерий

Для получения биопленок использовалась среда тиогликолевая с применением 96-луночных пластиковых планшетов. Для этого штаммы *Staphylococcus epidermidis* выращивали 24 часа в жидкой среде в термостате при 37°C до концентрации  $10^8$ – $10^9$  КОЕ/мл [1]. Затем культуры разводили чистой средой до  $10^6$  КОЕ/мл. Брали чистые пробирки куда добавляли по 10 мл чистой среды и 100 мкл культуры, после вносили в

лунки планшета по 200 мкл. Планшеты герметизировали Parafilm («Amcor», США) и инкубировали в термошайке с периодичностью в 1 сутки, 4 сутки, 7 суток. После культивирования планшеты доставали, из лунок отбирали среду с планктонными клетками. Биопленки промывали Na-фосфатным буфером (рН 7,0), окрашивали 5-7 минут 0,1% раствором генциан фиолетового («Агат-Мед», Россия) и аккуратно смывали краситель под проточной водой. Далее краситель, связанный с адгезированными клетками, растворяли этанолом. Результаты учитывали спектрофотометрическим методом с использованием прибора SuPerMax 3100 («Flash Spectrum Biotechnology», Китай).

## **2.10. Статистическая обработка, полученных данных**

По результатам собранных данных в ходе исследования, была проведена статистическая обработка с использованием программного пакета Microsoft Excel. Первостепенной задачей статистического анализа являлось определение значимых закономерностей, взаимосвязей и различий между переменными, полученными в ходе исследования.

В начале анализа была проведена описательная статистика данных. Включал в себя расчет основных показателей: среднее значение, стандартное отклонение, минимальные и максимальные значения. Это позволило оценить общее представлением о распределении данных. После чего были созданы диаграммы, позволяющие наглядно представить данные и выявить закономерности. Для анализа взаимосвязей между категориальными переменными применили критерий Хи-квадрат. Уровень значимости был установлен на уровне  $p<0.05$ , что соответствует стандартной практике статистического анализа.

Статистическая обработка позволила систематизировать информацию, сформулировать выводы о взаимосвязях и закономерностях.

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Микробиологическое исследование мазков с поверхности конъюнктивы глаза

С помощью масс-спектрометра было идентифицировано шесть видов бактерий и один вид грибов.

По результатам культивирования микроорганизмов в группе сравнения в большей степени были выделены *Staphylococcus epidermidis* в 47% случаев, *Staphylococcus warneri* – 3%, а в 50% случаев рост не обнаружен (рис.1).

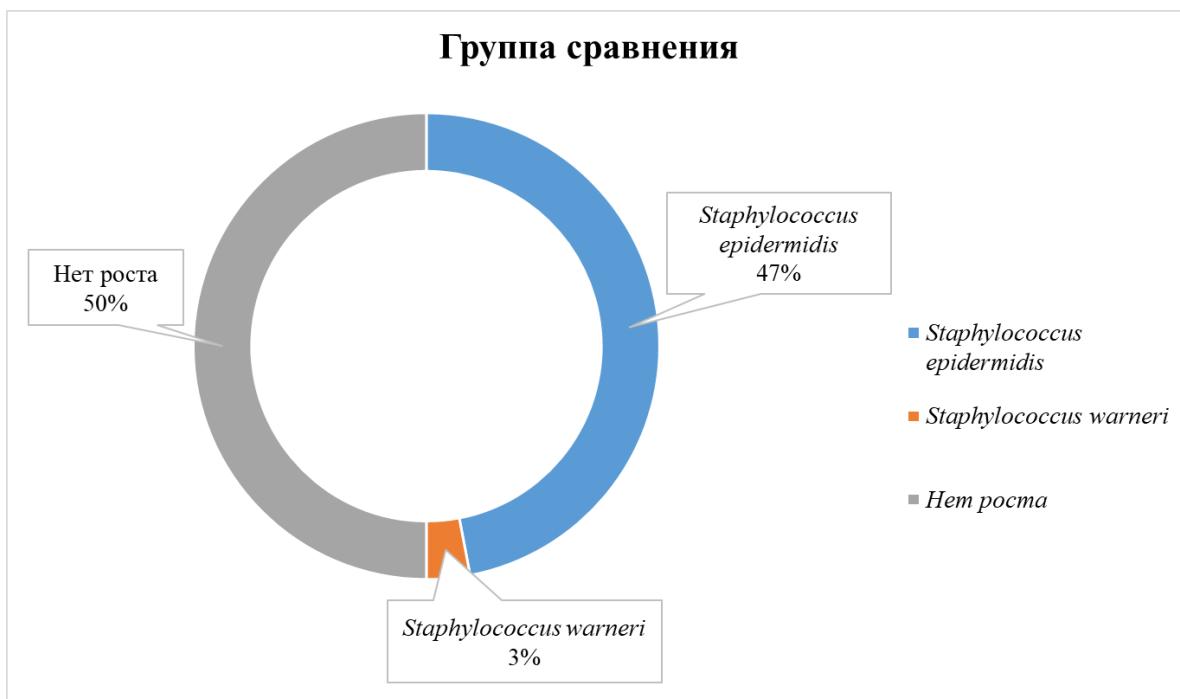


Рисунок 1. Результаты культивирования группы сравнения

Результаты бактериологического исследования группы сравнения представлены в таблице 2. Бактерии рода *Staphylococcus* в большей степени выделялись на поверхности глаза, это может быть связано с тем, что многие виды *Staphylococcus spp.* обитают естественным образом на коже, слизистых и также на поверхности глаза, то есть являются комменсалами человека. Так как они являются комменсалами, соответственно это защищает их от иммунной системы хозяина и дает

возможность удерживаться на поверхности глаза. Также они способны быстро размножаться, что позволяет им колонизировать поверхности, включая и глаза, и по всей видимости они не позволяют активно размножаться другим микроорганизмам. Данные факторы в общем обеспечивают хорошую адаптированность и выживаемость *Staphylococcus spp.* на поверхности глаза, делая их наиболее распространенными микроорганизмами в этой экологической нише. Тем не менее, представители рода *Staphylococcus* обнаружаются не только в нормальной микробиоте глаза, но и в микробиоте пораженного глаза.

Таблица 2. Результаты группы сравнения.

| №  | Возраст | Пол  | Результаты культивирования        |
|----|---------|------|-----------------------------------|
| 1  | 29      | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 2  | 23      | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>     |
| 3  | 25      | муж. | <i>Hem pocsta</i>                 |
| 4  | 24      | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 5  | 23      | жен. | <i>Hem pocsta</i>                 |
| 6  | 26      | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 7  | 25      | муж. | <i>Hem pocsta</i>                 |
| 8  | 25      | муж. | <i>Hem pocsta</i>                 |
| 9  | 26      | жен. | <i>Hem pocsta</i>                 |
| 10 | 31      | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 11 | 29      | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 12 | 24      | муж. | <i>Hem pocsta</i>                 |
| 13 | 24      | муж. | <i>Hem pocsta</i>                 |

|                        |     |      |                                   |
|------------------------|-----|------|-----------------------------------|
| 14                     | 29  | жен. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 15                     | 33  | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 16                     | 31  | жен. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 17                     | 25  | муж. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 18                     | 31  | жен. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 19                     | 25  | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 20                     | 33  | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 21                     | 32  | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 22                     | 22  | жен. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 23                     | 26  | жен. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 24                     | 26  | жен. | <i>Hem pocma</i>                  |
| 25                     | 32  | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 26                     | 22  | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 27                     | 36  | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 28                     | 28  | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 29                     | 28  | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 30                     | 36  | муж. | <i>Hem pocma</i>                  |
| <b>Средний возраст</b> | 28  |      |                                   |
| <b>Доля муж.</b>       | 50% |      |                                   |
| <b>Доля жен.</b>       | 50% |      |                                   |

В образцах пациентов с катарактой были выделены чистые культуры бактерий, указанные в таблице 3. В 30% случаев выделялись *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus warneri* в 22% случаев; *Staphylococcus hominis* выделен в 20% случаев; *Staphylococcus haemolyticus* и *Staphylococcus aureus* в 5% случаев; *Enterococcus faecium* в 5%; *Candida tropicalis* – в 3% случаев, а в 10% случаев рост не наблюдался. По результатам при катаракте также встречаются представители рода *Staphylococcus*, данный факт указывает на то, что при определенных условиях, такие как снижение иммунитета, представители этого рода могут стать патогенными микроорганизмами.



Рисунок 2. Результаты культивирования пациентов с катарактой

Таблица 3. Результаты пациентов с катарактой.

| № | Возраст | Пол  | Результаты культивирования        |
|---|---------|------|-----------------------------------|
| 1 | 68      | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 2 | 65      | муж. | <i>Нет роста</i>                  |

|    |    |      |                                    |
|----|----|------|------------------------------------|
| 3  | 51 | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 4  | 53 | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 5  | 54 | муж. | <i>Hem pocma</i>                   |
| 6  | 58 | жен. | <i>Staphylococcus aureus</i>       |
| 7  | 84 | жен. | <i>Enterococcus faecium</i>        |
| 8  | 80 | муж. | <i>Enterococcus faecium</i>        |
| 9  | 56 | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 10 | 79 | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 11 | 79 | муж. | <i>Hem pocma</i>                   |
| 12 | 72 | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 13 | 70 | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 14 | 77 | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 15 | 70 | жен. | <i>Hem pocma</i>                   |
| 16 | 71 | жен. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 17 | 72 | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 18 | 63 | муж. | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> |
| 19 | 72 | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 20 | 65 | муж. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 21 | 68 | жен. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 22 | 70 | жен. | <i>Staphylococcus aureus</i>       |
| 23 | 75 | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 24 | 71 | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |

|                        |     |      |                                    |
|------------------------|-----|------|------------------------------------|
| 25                     | 79  | муж. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 26                     | 68  | муж. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 27                     | 66  | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 28                     | 81  | муж. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 29                     | 84  | муж. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 30                     | 70  | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 31                     | 78  | муж. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 32                     | 73  | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 33                     | 69  | жен. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 34                     | 60  | муж. | <i>Candida tropicalis</i>          |
| 35                     | 58  | жен. | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  |
| 36                     | 80  | жен. | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> |
| 37                     | 59  | муж. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 38                     | 68  | жен. | <i>Staphylococcus warneri</i>      |
| 39                     | 72  | муж. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| 40                     | 75  | муж. | <i>Staphylococcus hominis</i>      |
| <b>Средний возраст</b> | 69  |      |                                    |
| <b>Доля муж.</b>       | 53% |      |                                    |
| <b>Доля жен.</b>       | 47% |      |                                    |

### **3.2. Видовой состав микробиоты поверхности конъюнктивы глаза**

Общая численность людей, принявших участие в исследовании составило 60 человек. Из них 30 людей, не имеющих никаких глазных заболеваний, то есть группа сравнения; 40 пациентов с офтальмопатологией – катарактой.

В группе сравнения средний возраст составил 28 лет, из них 50% мужчин, а женщин 50%.

В образцах пациентов с катарактой средний возраст 69 лет, доля мужчин 53%, а женщин 47%.

Таблица 4. Распределение группы сравнения по возрасту и полу

| <b>№</b> | <b>Возраст пациентов</b> | <b>Пол</b> |
|----------|--------------------------|------------|
| 1        | 29                       | муж.       |
| 2        | 23                       | жен.       |
| 3        | 25                       | муж.       |
| 4        | 24                       | жен.       |
| 5        | 23                       | жен.       |
| 6        | 26                       | муж.       |
| 7        | 25                       | муж.       |
| 8        | 25                       | муж.       |
| 9        | 26                       | жен.       |
| 10       | 31                       | муж.       |
| 11       | 29                       | жен.       |
| 12       | 24                       | муж.       |

|                        |     |      |
|------------------------|-----|------|
| 13                     | 24  | муж. |
| 14                     | 29  | жен. |
| 15                     | 33  | муж. |
| 16                     | 31  | жен. |
| 17                     | 25  | муж. |
| 18                     | 31  | жен. |
| 19                     | 25  | жен. |
| 20                     | 33  | муж. |
| 21                     | 32  | муж. |
| 22                     | 22  | жен. |
| 23                     | 26  | жен. |
| 24                     | 26  | жен. |
| 25                     | 32  | муж. |
| 26                     | 22  | жен. |
| 27                     | 36  | жен. |
| 28                     | 28  | жен. |
| 29                     | 28  | муж. |
| 30                     | 36  | муж. |
| <b>Средний возраст</b> | 28  |      |
| <b>Доля жен.</b>       | 50% |      |
| <b>Доля муж.</b>       | 50% |      |

Таблица 5. Распределение пациентов с катарактой по возрасту и полу

| №  | Возраст пациентов | Пол  |
|----|-------------------|------|
| 1  | 68                | муж. |
| 2  | 65                | муж. |
| 3  | 51                | жен. |
| 4  | 53                | муж. |
| 5  | 54                | муж. |
| 6  | 58                | жен. |
| 7  | 84                | жен. |
| 8  | 80                | муж. |
| 9  | 56                | жен. |
| 10 | 79                | муж. |
| 11 | 79                | муж. |
| 12 | 72                | жен. |
| 13 | 70                | муж. |
| 14 | 77                | муж. |
| 15 | 70                | жен. |
| 16 | 71                | жен. |
| 17 | 72                | жен. |
| 18 | 63                | муж. |
| 19 | 72                | жен. |
| 20 | 65                | муж. |

|                        |     |      |
|------------------------|-----|------|
| 21                     | 68  | жен. |
| 22                     | 70  | жен. |
| 23                     | 75  | муж. |
| 24                     | 71  | жен. |
| 25                     | 79  | муж. |
| 26                     | 68  | муж. |
| 27                     | 66  | жен. |
| 28                     | 81  | муж. |
| 29                     | 84  | муж. |
| 30                     | 70  | жен. |
| 31                     | 78  | муж. |
| 32                     | 73  | жен. |
| 33                     | 69  | жен. |
| 34                     | 60  | муж. |
| 35                     | 58  | жен. |
| 36                     | 80  | жен. |
| 37                     | 59  | муж. |
| 38                     | 68  | жен. |
| 39                     | 72  | муж. |
| 40                     | 75  | муж. |
| <b>Средний возраст</b> | 69  |      |
| <b>Доля муж.</b>       | 53% |      |

|           |     |  |
|-----------|-----|--|
| Доля жен. | 47% |  |
|-----------|-----|--|

### 3.3. Антагонистическая активность микроорганизмов

Антагонистические свойства были обнаружены у следующих микроорганизмов:

*Staphylococcus epidermidis* (по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*) (рис. 3)

*Staphylococcus hominis* (по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*) (рис. 4)

*Staphylococcus warneri* (по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*) (рис. 5)

Зоны ингибиции роста бактерий штаммами антагонистами представлены в таблице 6.

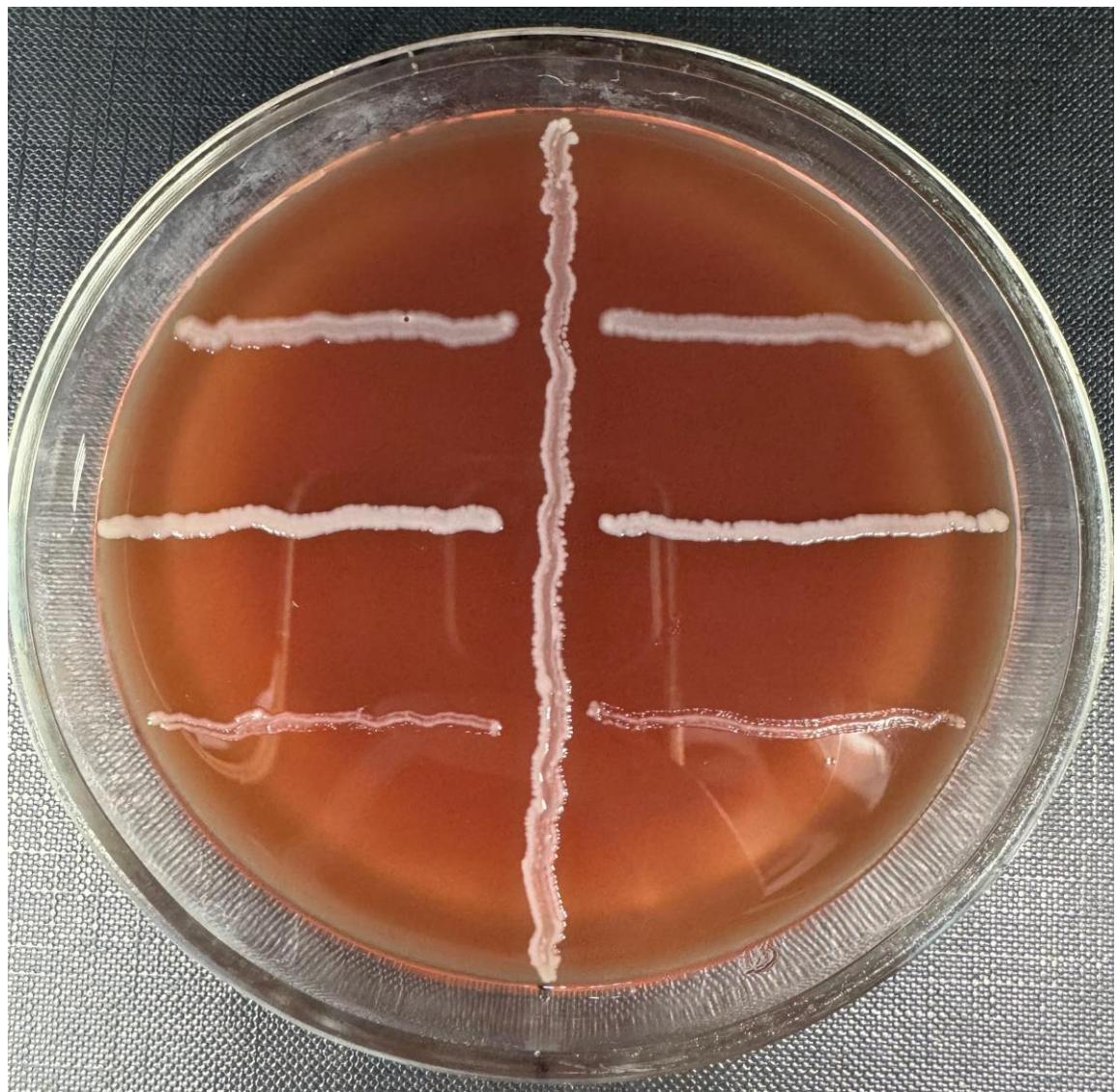


Рисунок 3. Антагонистические свойства *Staphylococcus hominis* против *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*

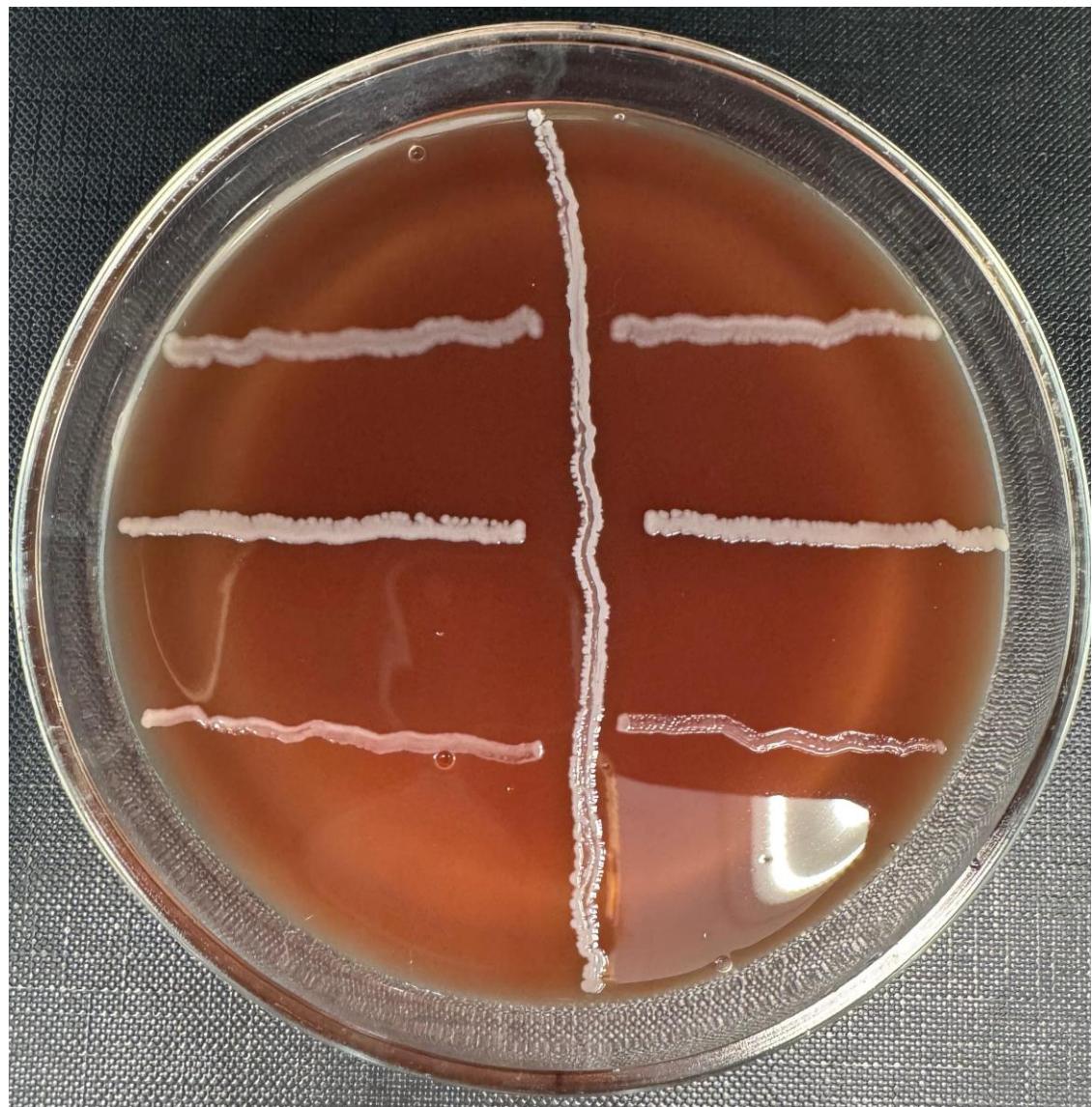


Рисунок 4. Антагонистические свойства *Staphylococcus epidermidis* против *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*



Рисунок 5. Антагонистические свойства *Staphylococcus warneri* против *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*

Таблица 6. Антагонистические свойства микроорганизмов

| Бактерии<br>антагонисты           | Зоны ингибиции роста микроорганизмов, мм |                              |                     |
|-----------------------------------|--|------------------------------|---------------------|
|                                   | <i>Escherichia coli</i>                  | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Candida spp.</i> |
| <i>Staphylococcus hominis</i>     | 2-3                                      | 2                            | 2                   |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 2-3                                      | 3                            | 2                   |
| <i>Staphylococcus warneri</i>     | 2  | 1                            | 2                   |

То есть, данные бактерии обладают антагонистическими свойствами к условно-патогенным микроорганизмам лишь в незначительной степени. Возможно, антагонистические свойства стафилококков, могут быть ограниченными и варьироваться от конкретных условий, таких как условия культивирования (температура, pH), наличие питательных веществ и конкуренция за ресурсы.

### 3.4. Антибиотикочувствительность микроорганизмов к препаратам

Использовали 4 вида капель, применяемые при заболевании катаракты и которые не обладают антибактериальными свойствами. Также были использованы 5 разных дисков с антибиотиками.

При измерении зоны подавления роста бактерий было показано, что препараты Таустин, Каталин абсолютно не участвуют в подавлении роста бактерий. Возможно, в составе данных капель не присутствуют те вещества, которые способны подавлять рост бактерий. Препараты Офтаринт и Дикло-Ф, в свою очередь, оказывают незначительную антибактериальную активность (таблица 7).

Таблица 7. Антибиотикорезистентность к препаратам

| Бактерии                          | Препараты |          |         |         |
|-----------------------------------|-----------|----------|---------|---------|
|                                   | Таустин   | Офтаринт | Каталин | Дикло-Ф |
| <i>Staphylococcus hominis</i>     | —         | 9 мм     | —       | 7 мм    |
| <i>Staphylococcus warneri</i>     | —         | 9 мм     | —       | 14 мм   |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | —         | 10 мм    | —       | —       |

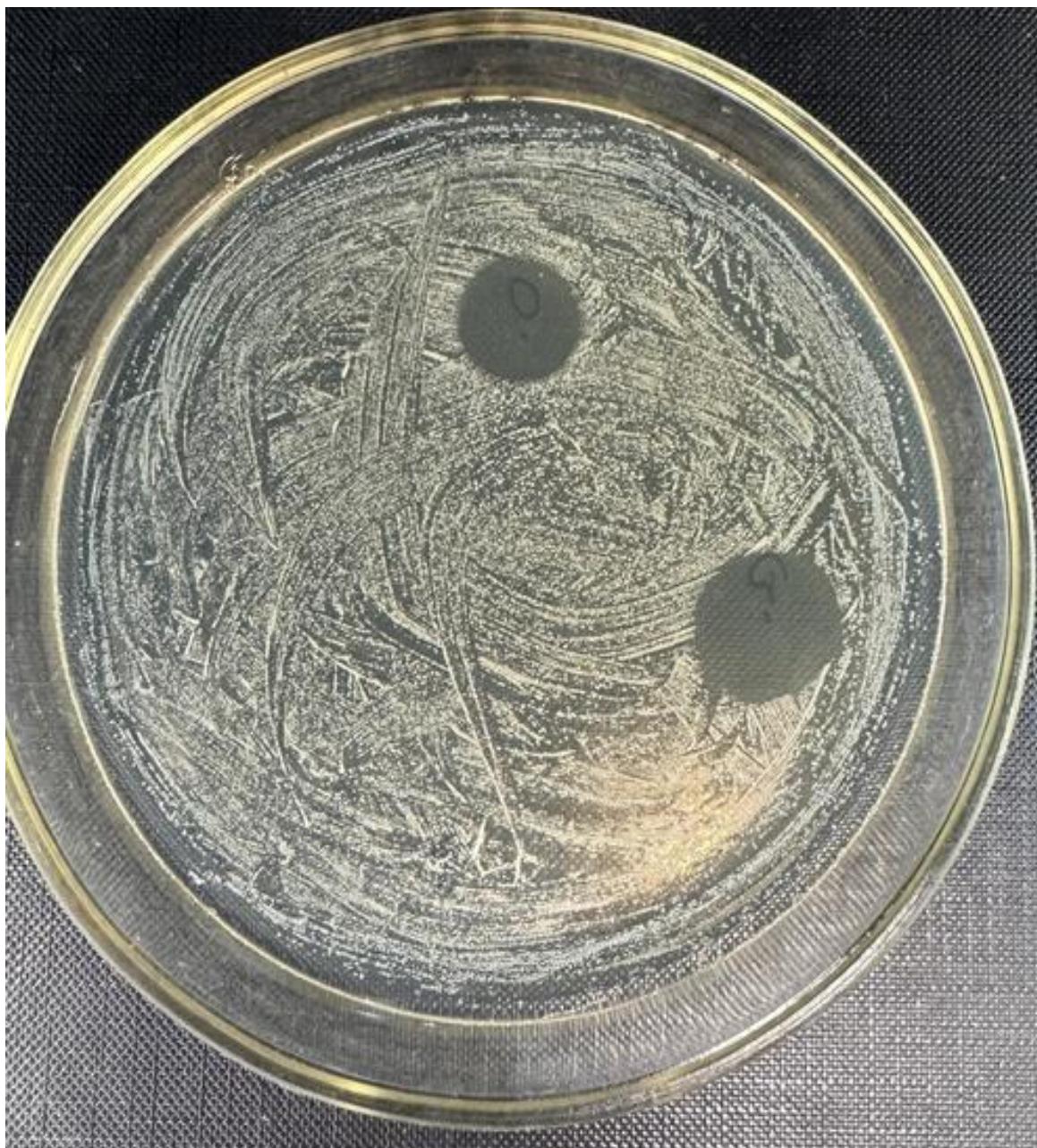


Рисунок 6. Зоны подавления роста *S.hominis* под воздействием препаратов, применяемых при лечении катаракты.



Рисунок 7. Зоны подавления роста *S. warneri* под воздействием препаратов, применяемых при лечении катаракты.

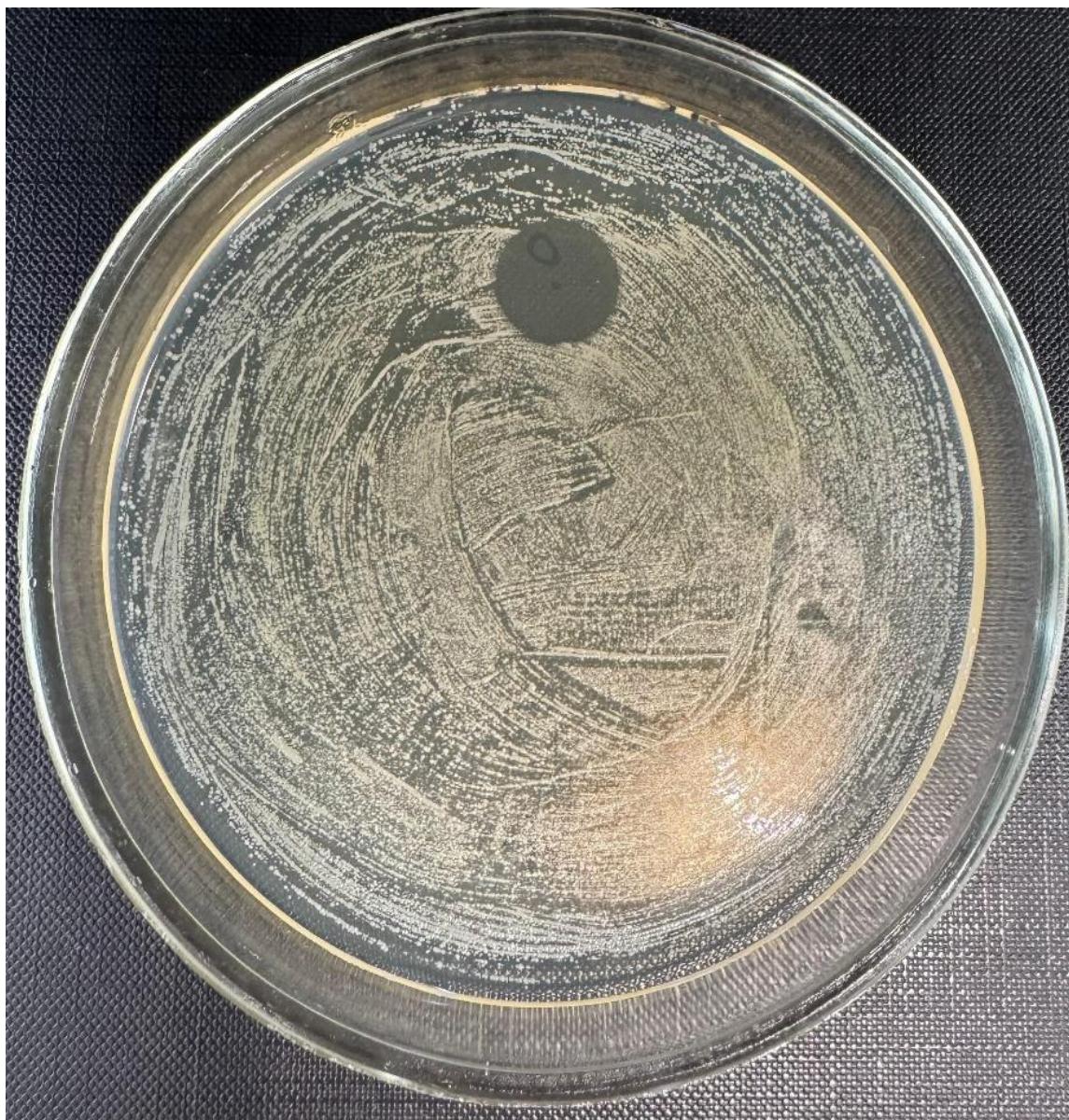


Рисунок 8. Зоны подавления роста *S.epidermidis* под воздействием препаратов, применяемых при лечении катаракты.

В случае с антибиотиками показано, что цефотаксим в принципе не оказывает воздействия на данные бактерии. При измерении диаметра зон задержки роста можно сказать, что *Staphylococcus hominis* чувствительна к офлоксацину, цефтриаксону, цефазолину и амоксициллину; *Staphylococcus warneri* – чувствительна к офлоксацину, цефтриаксону, цефазолину и амоксициллину; *Staphylococcus epidermidis* аналогично данным бактериям (табл.8).

Таблица 8. Антибиотикочувствительность к антибиотикам  
выделенных штаммов

| <b>Бактерии</b>                   | <b>Антибиотики</b> |             |           |            |              |
|-----------------------------------|--------------------|-------------|-----------|------------|--------------|
|                                   | Офлоксацин         | Цефтриаксон | Цефазолин | Цефотаксим | Амоксициллин |
| <i>Staphylococcus hominis</i>     | 20 мм              | 23 мм       | 13 мм     | —          | 23 мм        |
| <i>Staphylococcus warneri</i>     | 30 мм              | 28 мм       | 21 мм     | —          | 30 мм        |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 27 мм              | 22 мм       | 14 мм     | —          | 25 мм        |

### 3.5. Анализ результатов биопленкообразования бактерий

При исследовании способности к биопленкообразованию у выделенных штаммов стафилококков установлено, что изоляты значительно отличались как по динамике изменений, так и по самим значениям относительной оптической плотности, сформированных биопленок на протяжении трех периодов культивирования: 1, 4 и 7 сутки (рисунок 9).

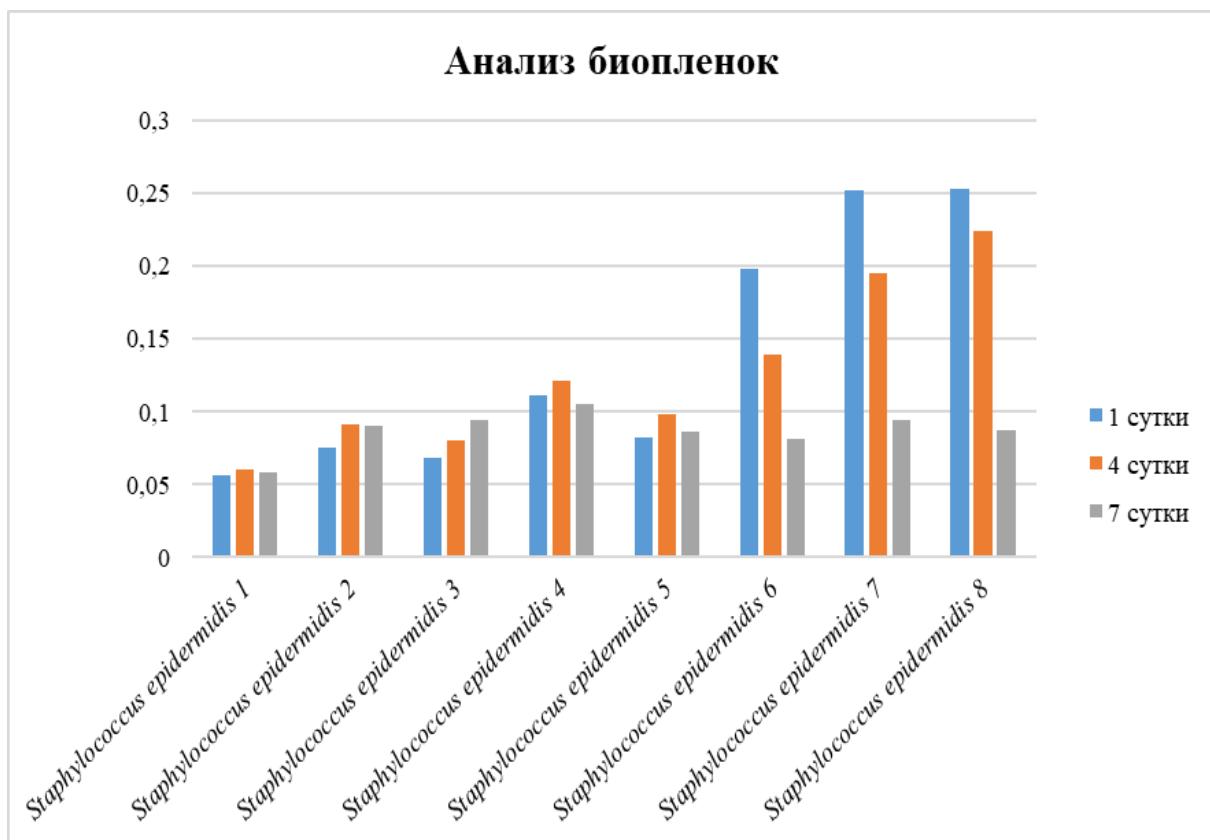


Рисунок 9. Сравнение изменений в относительной биомассе биопленок *Staphylococcus spp.* в 3-х периодах времени.

Известно, что *Staphylococcus spp.* с выраженной адгезивной способностью выживают в стрессовых условиях, могут формировать агрегаты, микроколонии, а далее и биопленки. На ранних стадиях развития бактерии прикрепляются к поверхностям с помощью адгезинов. Эта первичная адгезия является критическим этапом, который позволяет бактериям избежать уничтожения и закрепиться в организме хозяина.

После успешной адгезии начинается формирование биопленки. По результатам нашего исследования выявились 3 высокоадгезивных штамма *S. epidermidis* 6, 7, 8, что составило 37,5% микробных культур из выделенных нами культур *Staphylococcus spp.*

Наряду со способностью к адгезии микробных культур большее значение имеет и биопленкообразование, которое способствует размножению и выживанию бактериальных культур в различных неблагоприятных условиях. Эта способность *Staphylococcus spp.*, входящих в состав нормальной микробиоты глазной поверхности, говорит о формировании симбиотического микробного сообщества, угнетающего развитие патогенов за счет усиления синтеза веществ, обладающих антагонистическим действием.

Исходя из полученных результатов видно, что наилучшей биопленкообразующей способностью характеризовался штамм *S. epidermidis* 8. Достаточно высокие показатели биопленкообразования отмечались и у изолятов *S. epidermidis* 6 и *S. epidermidis* 7. Относительно слабой способностью к формированию биопленок характеризовались штаммы *S. epidermidis* 1, *S. epidermidis* 2, *S. epidermidis* 3 и *S. epidermidis* 5.

Полученные данные подчеркивают необходимость индивидуального подхода при лечении катаракты с учетом состава микробиоты поверхности глаза. Высокий биопленкообразующий потенциал указывает на наивысшую способность к формированию биопленок, что указывает на его повышенную вирулентность и устойчивость к стандартной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования проведена оценка микробиоты глазной поверхности у больных катарактой. Целью исследования было изучение состава микробиоты как у здоровых людей, так и у пациентов с катарактой. В результате были выявлены особенности, которые имеют значительное влияние на клинические события и подходы к лечению. Отмечено, что у больных катарактой наблюдаются изменения в составе и разнообразии микробиоты, что возможно связано с воспалительными процессами, возрастными изменениями и сопутствующими заболеваниями.

Таким образом, понятие об особенностях микробиоты глазной поверхности у пациентов с катарактой открывает новые перспективы для разработки профилактических и терапевтических лечений. Это возможность использования пробиотиков или антимикробных средств для коррекции дисбиоза, также индивидуализированный подход к предоперационной подготовке и послеоперационным осложнениям. Дальнейшие исследования в этой области нужны для более лучшего понимания роли микробиоты в патогенезе заболеваний глаз и оптимизации лечения пациентов с катарактой.

## ВЫВОДЫ

1. По результатам бактериологического исследования мазков с поверхности конъюнктивы глаз с идентификацией методом масс-спектрометрии, было выделено 6 видов бактерий и 1 вид грибов.

2. В ходе сравнительного анализа видового состава микробиоты поверхности конъюнктивы глаз у пациентов с катарактой статистически значимо реже в 1,5 раза ( $p<0,01$ ) определяются *Staphylococcus epidermidis*, в 7,2 раза чаще ( $p<0,001$ ) *Staphylococcus warneri*, а также определяются *Staphylococcus hominis* в 20% случаев по сравнению с группой здоровых лиц.

3. Антагонистические свойства были определены у следующих выделенных штаммов бактерий: *Staphylococcus epidermidis* (по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*), *Staphylococcus hominis* (по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*), *Staphylococcus warneri* (по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.*).

4. Антибиотикочувствительностью к препаратам, выделенных штаммов бактерий, обладали *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri* к антибиотикам офлоксацину, цефтриаксону, цефазолину и амоксициллину, а также препараты офтариант и дикло-ф, применяемые при лечении катаракты обладали антибактериальной активностью по отношению к *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*.

5. Анализ биопленок, формируемых на инертных поверхностях, выделенных штаммов, показал, что высокие показатели биопленкообразования обнаружены у *S. epidermidis* 8, *S. epidermidis* 6 и *S. epidermidis* 7. Слабой способностью к формированию биопленок характеризовались штаммы *S. epidermidis* 1, *S. epidermidis* 2, *S. epidermidis* 3 и *S. epidermidis* 5.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вершинина З. Р. и др. Влияние сверхэкспрессии гена *rosR* на образование биопленок бактериями *Rhizobium leguminosarum* //Микробиология. – 2021. – Т. 90. – №. 2. – С. 191-203.
2. Andersson J., Vogt J.K., Dalgaard M.D., Pedersen O., Holmgard K., Heegaard S. Ocular surface microbiota in patients with aqueous tear-deficient dry eye //The ocular surface. – 2021. – Т. 19. – С. 210-217.
3. Aragona P., Baudouin C., Benitez del Castillo J.M., Messmer E., Barabino S., Merayo-Lloves J., Brignole-Baudouin F., Inferrera L., Rolando M., Mencucci R., Rescigno M., Bonini S., Labetoulle M. The ocular microbiome and microbiota and their effects on ocular surface pathophysiology and disorders //Survey of ophthalmology. – 2021. – Т. 66. – №. 6. – С. 907-925.
4. Atalay E., Oğurel T., Derici M. K. The role of oxidative damage in cataract etiopathogenesis //Therapeutic Advances in Ophthalmology. – 2023. – Т. 15. – С. 25158414231168813.
5. Bell S. J., Oluoney N., Harding P., Moosajee M., Congenital cataract: A guide to genetic and clinical management //Therapeutic Advances in Rare Disease. – 2020. – Т. 1. – С. 2633004020938061.
6. Bharathi M.J., Ramakrishnan R., Meenakshi R., Mittal S., Shivakumar C., Srinivasan M. Microbiological diagnosis of infective keratitis: comparative evaluation of direct microscopy and culture results //British Journal of Ophthalmology. – 2006. – Т. 90. – №. 10. – С. 1271-1276.
7. Bhende M., Raman R., Jain M., Shah P.K., Sharma T., Gopal L., Bhende P.S., Srinivasan S., Jambulingam M. Incidence, microbiology, and outcomes of endophthalmitis after 111,876 pars plana vitrectomies at a single, tertiary eye care hospital //PLoS One. – 2018. – Т. 13. – №. 1. – С. e0191173.

8. Bremond-Gignac D., Daruich A., Robert P.M., Valleix S. Recent developments in the management of congenital cataract //Annals of translational medicine. – 2020. – T. 8. – №. 22.
9. Brockhaus L., Goldblum D., Eggenschwiler L., Zimmerli S., Marzolini C. Revisiting systemic treatment of bacterial endophthalmitis: a review of intravitreal penetration of systemic antibiotics //Clinical microbiology and infection. – 2019. – T. 25. – №. 11. – C. 1364-1369.
10. Burton M.J., Ramke J., Marques A.P., Bourne R.R.A., Congdon N., Jones I., Ah Tong B.A.M., Arunga S., Bachani D., Bascaran C. The lancet global health commission on global eye health: vision beyond 2020 //The Lancet Global Health. – 2021. – T. 9. – №. 4. – C. e489-e551.
11. Campagnoli L. I. M., Varesi A., Barbieri A., Marchesi N., Pascale A. Targeting the gut–eye axis: An emerging strategy to face ocular diseases //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – T. 24. – №. 17. – C. 13338.
12. Cavalheiro G.R., Matos-Rodrigues G. E., Zhao Y., Gomes A.L., Anand D., Predes D., Lima S., Abreua J.G., Zheng D., Lachke S.A., Cvekl A., Martins R.A.P. N-myc regulates growth and fiber cell differentiation in lens development //Developmental biology. – 2017.
13. Cavuoto K.M., Banerjee S., Miller D., Galor A. Composition and comparison of the ocular surface microbiome in infants and older children //Translational vision science & technology. – 2018. – T. 7. – №. 6. – C. 16-16.
14. Celandroni F., Salvetti S., Gueye S.A., Mazzantini D., Lupetti A., Senesi S., Ghelardi E. Identification and pathogenic potential of clinical *Bacillus* and *Paenibacillus* isolates //PloS one. – 2016. – T. 11. – №. 3. – C. e0152831.
15. Chiang M. C., Chern E. Ocular surface microbiota: Ophthalmic infectious disease and probiotics //Frontiers in microbiology. – 2022. – T. 13. – C. 952473.

16. Chisari G., Chisari E.M., Borzi A.M., Chisari C.G. Aging eye microbiota in dry eye syndrome in patients treated with *Enterococcus faecium* and *Saccharomyces boulardii* //Current clinical pharmacology. – 2017. – T. 12. – №. 2. – C. 99-105.
17. Choi S.H., Oh J.W., Ryu J.S., Kim H.M., Im S.H., Kim K.P., Kim M.K. IRT5 probiotics changes immune modulatory protein expression in the extraorbital lacrimal glands of an autoimmune dry eye mouse model //Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2020. – T. 61. – №. 3. – C. 42-42.
18. Clark A.E., Kaleta E.J., Arora A., Wolk D.M. Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology //Clinical microbiology reviews. – 2013. – T. 26. – №. 3. – C. 547-603.
19. Cochener B., Cassan A., Omiel L. Prevalence of meibomian gland dysfunction at the time of cataract surgery //Journal of Cataract & Refractive Surgery. – 2018. – T. 44. – №. 2. – C. 144-148.
20. Croxatto A., Prod'hom G., Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology //FEMS microbiology reviews. – 2012. – T. 36. – №. 2. – C. 380-407.
21. Cvekl A., Vijg J. Aging of the eye: Lessons from cataracts and age-related macular degeneration //Ageing Research Reviews. – 2024. – C. 102407.
22. Das S., Sharma S., Kar S., Sahu S.K., Samal B., Mallick A. Is inclusion of Sabouraud dextrose agar essential for the laboratory diagnosis of fungal keratitis? //Indian journal of ophthalmology. – 2010. – T. 58. – №. 4. – C. 281-285.

23. De Sordi L., Lourenço M., Debarbieux L. The battle within: interactions of bacteriophages and bacteria in the gastrointestinal tract //Cell host & microbe. – 2019. – T. 25. – №. 2. – C. 210-218.
24. Dong Q., Brulc J.M., Iovieno A., Bates B., Garoutte A., Miller D., Revanna K.V., Gao X., Antonopoulos D.A., Slepak V.Z., Shestopalov V.I. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva //Investigative ophthalmology & visual science. – 2011. – T. 52. – №. 8. – C. 5408-5413.
25. Donthineni P.R., Kammar P., Shanbhag S.S., Singh V., Das A.V., Basu S. Incidence, demographics, types and risk factors of dry eye disease in India: Electronic medical records driven big data analytics report I //The ocular surface. – 2019. – T. 17. – №. 2. – C. 250-256.
26. Doseděl M., Jirkovský E., Macáková K., Krčmová L.K., Javorská L., Pourová J., Mercolini L., Remiāo F., Nováková L., Mladěnka P. Vitamin C—sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination //Nutrients. – 2021. – T. 13. – №. 2. – C. 615.
27. Erridge C. Endogenous ligands of TLR2 and TLR4: agonists or assistants? //Journal of leukocyte biology. – 2010. – T. 87. – №. 6. – C. 989-999.
28. Fernández-Rubio M.E., Rebolledo-Lara L., Martínez-García M., Alarcon-Tomas M., Cortes-Valdes C. The conjunctival bacterial pattern of diabetics undergoing cataract surgery //Eye. – 2010. – T. 24. – №. 5. – C. 825-834.
29. Gilligan P. H. Identification of pathogens by classical clinical tests //the Prokaryotes, E. Rosenberg, EF DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. Thompson, eds.(Springer Berlin Heidelberg). – 2013. – C. 57-89.
30. Gomes J. Á. P., Frizon L., Demeda V. F. Ocular surface microbiome in health and disease //The Asia-Pacific Journal of Ophthalmology. – 2020. – T. 9. – №. 6. – C. 505-511.

31. Grzybowski A., Brona P., Kim S. J. Microbial flora and resistance in ophthalmology: a review //Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2017. – T. 255. – C. 851-862.
32. Gupta V. B., Rajagopala M., Ravishankar B. Etiopathogenesis of cataract: an appraisal //Indian journal of ophthalmology. – 2014. – T. 62. – №. 2. – C. 103-110.
33. Hau S.C., Dart J.K.G., Vesaluoma M., Parmar D.N., Claerhout I., Bibi K., Larkin D.F.P. Diagnostic accuracy of microbial keratitis with in vivo scanning laser confocal microscopy //British Journal of Ophthalmology. – 2010. – T. 94. – №. 8. – C. 982-987.
34. Heruye S. H., Maffofou Nkenyi L.N., Singh N.U., Yalzadeh D., Ngele K.K., Njie-Mbye Y.F., Ohia S.E., Opere C.A. Current trends in the pharmacotherapy of cataracts //Pharmaceuticals. – 2020. – T. 13. – №. 1. – C. 15.
35. Hsu H.Y., Ernst B., Schmidt E.J., Parihar R., Horwood C., Edelstein S.L. Laboratory results, epidemiologic features, and outcome analyses of microbial keratitis: a 15-year review from St. Louis //American journal of ophthalmology. – 2019. – T. 198. – C. 54-62.
36. Ikeda M., Yagihara Y., Tatsuno K., Okazaki M., Okugawa S., Moriya K. Clinical characteristics and antimicrobial susceptibility of *Bacillus cereus* blood stream infections //Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. – 2015. – T. 14. – C. 1-7.
37. Kandori M., Inoue T., Takamatsu F., Kojima Y., Hori Y., Maeda N. Prevalence and features of keratitis with quantitative polymerase chain reaction positive for cytomegalovirus //Ophthalmology. – 2010. – T. 117. – №. 2. – C. 216-222.
38. Katta A.V., Katkam R.V., Geetha H. Lipid peroxidation and the total antioxidant status in the pathogenesis of age related and diabetic cataracts: a

study on the lens and blood //Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. – 2013. – T. 7. – №. 6. – C. 978.

39. Kaufman S.C., Musch D.C., Belin M.W., Cohen E.J., Meisler D.M., Reinhart W.J., Udell I.J., Van Meter W.S. Confocal microscopy: a report by the American Academy of Ophthalmology //Ophthalmology. – 2004. – T. 111. – №. 2. – C. 396-406.

40. Kehrmann J., Chapot V., Buer J., Rating P., Bornfeld N., Steinmann J. Diagnostic performance of blood culture bottles for vitreous culture compared to conventional microbiological cultures in patients with suspected endophthalmitis //European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2018. – T. 37. – C. 889-895.

41. Khoo H.E., Ng H.S., Yap W.S., Goh H.J.H., Yim H.S. Nutrients for prevention of macular degeneration and eye-related diseases //Antioxidants. – 2019. – T. 8. – №. 4. – C. 85.

42. Kim J., Choi S.H., Kim Y.J., Jeong H.J., Ryu J.S., Lee H.J., Kim T.W., Im S-H., Oh J.Y., Kim M.K. Clinical effect of IRT-5 probiotics on immune modulation of autoimmunity or alloimmunity in the eye //Nutrients. – 2017. – T. 9. – №. 11. – C. 1166.

43. Kugadas A., Gadjeva M. Impact of microbiome on ocular health //The ocular surface. – 2016. – T. 14. – №. 3. – C. 342-349.

44. Kulbay M., Wu K.Y., Nirwal G.K., Belanger P., Tran S.D. Oxidative Stress and Cataract Formation: Evaluating the Efficacy of Antioxidant Therapies //Biomolecules. – 2024. – T. 14. – №. 9. – C. 1055.

45. Lavigne J.P., Espinal P., Dunyach-Remy C., Messad N., Pantel A., Sotto A. Mass spectrometry: a revolution in clinical microbiology? //Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2013. – T. 51. – №. 2. – C. 257-270.

46. Leal Jr S.M., Jones M., Gilligan P.H. Clinical significance of commensal gram-positive rods routinely isolated from patient samples //Journal of clinical microbiology. – 2016. – T. 54. – №. 12. – C. 2928-2936.
47. Leal Jr S.M., Rodino K.G., Fowler W.C., Gilligan P.H. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: diagnosis of ocular infections //Clinical microbiology reviews. – 2021. – T. 34. – №. 3. – C. 10.1128.
48. Li J. J., Yi S., Wei L. Ocular microbiota and intraocular inflammation //Frontiers in Immunology. – 2020. – T. 11. – C. 609765.
49. Li J., Chen X., Yan Y., Yao K. Molecular genetics of congenital cataracts //Experimental Eye Research. – 2020. – T. 191. – C. 107872.
50. Locatelli C. I., Kwitko S., Simonetti A. B. Conjunctival endogenous microbiota in patients submitted to cataract surgery //Brazilian journal of Microbiology. – 2003. – T. 34. – C. 203-209.
51. Lu L. J., Liu J. Focus: microbiome: human microbiota and ophthalmic disease //The Yale journal of biology and medicine. – 2016. – T. 89. – №. 3. – C. 325.
52. Mantelli F., Mauris J., Argüeso P. The ocular surface epithelial barrier and other mechanisms of mucosal protection: from allergy to infectious diseases //Current opinion in allergy and clinical immunology. – 2013. – T. 13. – №. 5. – C. 563-568.
53. Matysiak A., Kabza M., Karolak J.A., Jawirska M.M., Rydzanicz M., Ploski R., Szaflak J.P., Gajecka M. Characterization of ocular surface microbial profiles revealed discrepancies between conjunctival and corneal microbiota //Pathogens. – 2021. – T. 10. – №. 4. – C. 405.
54. McDermott A. M. Antimicrobial compounds in tears //Experimental eye research. – 2013. – T. 117. – C. 53-61.

55. Miura M., Inomata T., Nakamura M., Sung J., Nagino K., Midorikawa-Inomata A., Zhu J., Fujimoto K., Okumura Y., Fujio K., Hirosawa K., Akasaki Y., Kuwahara M., Eguchi A., Shokirova H., Murakami A. Prevalence and characteristics of dry eye disease after cataract surgery: a systematic review and meta-analysis //Ophthalmology and therapy. – 2022. – T. 11. – №. 4. – C. 1309-1332.
56. Mshangila B., Paddy M., Kajumbula H., Ateenyi-Agaba C., Kahwa B., Seni J. External ocular surface bacterial isolates and their antimicrobial susceptibility patterns among pre-operative cataract patients at Mulago National Hospital in Kampala, Uganda //BMC ophthalmology. – 2013. – T. 13. – C. 1-6.
57. Naderi K., Gormley J., O’Brart D. Cataract surgery and dry eye disease: a review //European Journal of Ophthalmology. – 2020. – T. 30. – №. 5. – C. 840-855.
58. Napolitano P., Filippelli M., Davinelli S., Bartollino S., Dell’Omo R., Costagliola C. Influence of gut microbiota on eye diseases: an overview //Annals of medicine. – 2021. – T. 53. – №. 1. – C. 750-761.
59. Nita M., Grzybowski A. The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults //Oxidative medicine and cellular longevity. – 2016. – T. 2016. – №. 1. – C. 3164734.
60. Nye-Wood M.G., Spraggins J.M., Caprioli R.M., Schey K.L., Donaldson P.J., Grey A.C. Spatial distributions of glutathione and its endogenous conjugates in normal bovine lens and a model of lens aging //Experimental eye research. – 2017. – T. 154. – C. 70-78.
61. Ozkan J., Nielsen S., Diez-Vives C., Coroneo M., Thomas T., Willcox M. Temporal stability and composition of the ocular surface microbiome //Scientific reports. – 2017. – T. 7. – №. 1. – C. 9880.

62. Ozkan J., Willcox M. D. The ocular microbiome: molecular characterisation of a unique and low microbial environment //Current eye research. – 2019. – T. 44. – №. 7. – C. 685-694.
63. Panagea T., Pincus D.H., Grogono D., Jones M., Bryant J., Parkhill J., Floto R.A., Gilligan P. Mycobacterium abscessus complex identification with matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry //Journal of Clinical Microbiology. – 2015. – T. 53. – №. 7. – C. 2355-2358.
64. Peter V. G., Morandi S.C., Herzog E.L., Zinkernagel M.S., Zysset-Burri D.C. Investigating the ocular surface microbiome: what can it tell us? //Clinical Ophthalmology. – 2023. – C. 259-271.
65. Petrillo F., Pignataro D., Lavano M. A., Santella B., Folliero V., Zannella C., Astarita C., Gagliano C., Franci G., Avitabile T., Galdiero M. Current evidence on the ocular surface microbiota and related diseases //Microorganisms. – 2020. – T. 8. – №. 7. – C. 1033.
66. Qin Y.J., Chan S.O., Lin H.L., Zhang Y.Q., Chen Y.L., Niu Y.Y., Xie W.J., Chu W.K., Pang C.P., Zhang H.Y. Elevated level of uric acid in aqueous humour is associated with posterior subcapsular cataract in human lens //Clinical & Experimental Ophthalmology. – 2020. – T. 48. – №. 9. – C. 1183-1191.
67. Ray A., Cot M., Puzo G., Gilleron M., Nigou J. Bacterial cell wall macroamphiphiles: pathogen-/microbe-associated molecular patterns detected by mammalian innate immune system //Biochimie. – 2013. – T. 95. – №. 1. – C. 33-42.
68. Sajnani R., Raia S., Gibbons A., Chang V., Karp C.L., Sarantopoulos C.D., Levitt R.C., Galor A. Epidemiology of persistent postsurgical pain manifesting as dry eye-like symptoms after cataract surgery //Cornea. – 2018. – T. 37. – №. 12. – C. 1535-1541.

69. Scuderi G., Troiani E., Minnella A. M. Gut microbiome in retina health: the crucial role of the gut-retina axis //Frontiers in Microbiology. – 2022. – T. 12. – C. 726792.
70. Shahidi F., Pinaffi-Langley A.C.C., Fuentes J., Speisky H., de Camargo A.C. Vitamin E as an essential micronutrient for human health: Common, novel, and unexplored dietary sources //Free Radical Biology and Medicine. – 2021. – T. 176. – C. 312-321.
71. Shakya M., Lo C.C., Chain P.S.G. Advances and challenges in metatranscriptomic analysis //Frontiers in genetics. – 2019. – T. 10. – C. 904.
72. Sharma S. Diagnosis of infectious diseases of the eye //Eye. – 2012. – T. 26. – №. 2. – C. 177-184.
73. Shiels A., Hejtmancik J. F. Biology of inherited cataracts and opportunities for treatment //Annual review of vision science. – 2019. – T. 5. – №. 1. – C. 123-149.
74. Shiels A., Hejtmancik J. F. Inherited cataracts: Genetic mechanisms and pathways new and old //Experimental eye research. – 2021. – T. 209. – C. 108662.
75. Shin H., Price K., Albert L., Dodick J., Park L., Dominguez-Bello M.G. Changes in the eye microbiota associated with contact lens wearing //MBio. – 2016. – T. 7. – №. 2. – C. 10.1128/mbio. 00198-16.
76. Stapleton F., Alves M., Bunya V.Y., Jalbert I., Lekhanont K., Malet F., Na K-S., Schaumberg D., Uchino M., Vehof J., Viso E., Vitale S., Jones L. Tfos dews ii epidemiology report //The ocular surface. – 2017. – T. 15. – №. 3. – C. 334-365.
77. Trojacka E., Izdebska J., Szaflik J., Przybek-Skrzypecka J. The Ocular Microbiome: Micro-Steps Towards Macro-Shift in Targeted Treatment? A Comprehensive Review //Microorganisms. – 2024. – T. 12. – №. 11. – C. 2232.

78. Tsao Y.T., Wu W.C., Chen K.J., Yeh L.K., Hwang Y.S., Hsueh Y.J., Chen H.C., Cheng C.M. Analysis of aqueous humor total antioxidant capacity and its correlation with corneal endothelial health //Bioengineering & translational medicine. – 2021. – T. 6. – №. 2. – C. e10199.
79. Vaddavalli P.K., Garg P., Sharma S., Sangwan V.S., Rao G.N., Thomas R. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and acanthamoeba keratitis //Ophthalmology. – 2011. – T. 118. – №. 1. – C. 29-35.
80. Vagge A., Lixi F., Ponzin D., Noce C.D., Camposampiero D., Santocono M., Traverso C.E., Scorcia V., Giannaccare G. Characterization of Conjunctival Microflora and Antibiotic Sensitivity Patterns in Patients Undergoing Cataract Surgery //Microorganisms. – 2025. – T. 13. – №. 2. – C. 227.
81. Walchuk C., Suh M. Nutrition and the aging retina: A comprehensive review of the relationship between nutrients and their role in age-related macular degeneration and retina disease prevention //Advances in Food and Nutrition Research. – 2020. – T. 93. – C. 293-332.
82. Wang W., Yan W., Fotis K., Prasad N.M., Lansingh V.C., Taylor H.R., Finger R.P., Facciolo D., He M. Cataract surgical rate and socioeconomic: a global study //Investigative ophthalmology & visual science. – 2016. – T. 57. – №. 14. – C. 5872-5881.
83. Wen X., Miao L., Deng Y., Bible P.W., Hu X., Zou Y., Liu Y., Guo S., Liang J., Chen T., Peng G., Chen W., Liang L., Wei L. The influence of age and sex on ocular surface microbiota in healthy adults //Investigative ophthalmology & visual science. – 2017. – T. 58. – №. 14. – C. 6030-6037.
84. Xue W., Li J.J., Zou Y., Zou B., Wei L. Microbiota and ocular diseases //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2021. – T. 11. – C. 759333.
85. Yamazaki T., Suzuki H., Yamada S., Ohshio K., Sugamata M., Yamada T., Morita Y. *Lactobacillus paracasei* KW3110 suppresses inflammatory stress-

induced premature cellular senescence of human retinal pigment epithelium cells and reduces ocular disorders in healthy humans //International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – T. 21. – №. 14. – C. 5091.

86. Yanshole V.V., Yanshole L.V., Snytnikova O.A., Tsentalovich Y.P. Quantitative metabolomic analysis of changes in the lens and aqueous humor under development of age-related nuclear cataract //Metabolomics. – 2019. – T. 15. – C. 1-11.
87. Zetterberg M., Montan P., Kugelberg M., Nilsson I., Lundström M., Behndig A. Cataract surgery volumes and complications per surgeon and clinical unit: data from the Swedish National Cataract Register 2007 to 2016 //Ophthalmology. – 2020. – T. 127. – №. 3. – C. 305-314.
88. Zhang H., Zhao F., Hutchinson D.S., Sun W., Ajami N.J., Lai S., Wong M.C., Petrosino J.F., Fang J., Jiang J., Chen W., Reinach P.S., Qu J., Zeng C., Zhang D., Zhou X. Conjunctival microbiome changes associated with soft contact lens and orthokeratology lens wearing //Investigative ophthalmology & visual science. – 2017. – T. 58. – №. 1. – C. 128-136.

## СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Автор работы:** Шарафутдинова Карина Ильшатовна

**Самоцитирование**

**рассчитано для:** Шарафутдинова Карина Ильшатовна

**Название работы:** ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ГЛАЗНОЙ ПОВЕРХНОСТИ У БОЛЬНЫХ КАТАРАКТОЙ

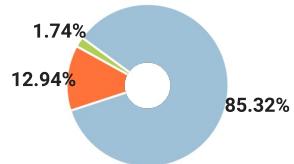
**Тип работы:** Выпускная квалификационная работа

**Подразделение:** ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ

## РЕЗУЛЬТАТЫ

|                 |   |        |
|-----------------|---|--------|
| СОВПАДЕНИЯ      |  | 12.94% |
| ОРИГИНАЛЬНОСТЬ  |  | 85.32% |
| ЦИТИРОВАНИЯ     |  | 1.74%  |
| САМОЦИТИРОВАНИЯ |  | 0%     |

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 18.06.2025



**Структура  
документа:**

Проверенные разделы: основная часть с.11-68, введение с.4-11, выводы с.69-70

**Модули поиска:**

Цитирование; Шаблонные фразы; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Переводные заимствования; ИПС Адилет; IEEE; Перефразирования по коллекции IEEE; Рувики; Патенты СССР, РФ, СНГ; Коллекция НБУ; Публикации РГБ; Медицина; Диссертации НББ; Кольцо вузов; СМИ России и СНГ; СПС ГАРАНТ: аналитика; Публикации eLIBRARY; Сводная коллекция ЭБС; Публикации РГБ (переводы и перефразирования); Переводные заимствования IEEE; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Кольцо вузов (переводы и перефразирования); Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Публикации eLIBRARY (переводы...)

**Работу проверил:** Халилова Рита Камилевна

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.

# ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Обучающийся Шарафутдинова Карина Ильшатовна группы БМ-201ФПМ  
Выпускная квалификационная работа на тему: «Особенности микробиоты  
глазной поверхности у больных катарактой»

Обучающийся Шарафутдинова Карина Ильшатовна успешно закончила курс обучения по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Итогом обучения явилось выполнение выпускной квалификационной работы, которая является исследовательской работой обучающегося.

При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования и анализа данных источников литературы, а также обобщения полученной информации. В процессе выполнения экспериментальной части были проведены самостоятельные исследования, освоены методы группировки, сравнения и другие. Тема раскрыта полно, выводы отражают основные результаты исследования и могут быть использованы в практической деятельности.

В период выполнения выпускной квалификационной работы обучающийся показала себя трудолюбивым, добросовестным исследователем, проявила самостоятельность и творческую инициативу.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, аккуратно оформлена и может быть рекомендована к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура).

Научный руководитель  
к.м.н., доцент кафедры  
фундаментальной и  
прикладной микробиологии  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России



Гимранова И.А.  
(подпись)

## ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Шарафутдиновой Карины Ильшатовны группы БМ-201 ФПМ по теме: «Особенности микробиоты глазной поверхности у больных катарактой».

Целью данной работы явилось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:  
к.б.н., доцент кафедры  
фундаментальной и  
прикладной микробиологии  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России  
Дата 18.06.2025



# ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Шарафутдиновой Карины Ильшатовны группы БМ-201 ФГМ по теме: «Особенности микробиоты глазной поверхности у больных катарактой».

Целью данной работы явилось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:

канд.биол.наук, старший научный сотрудник  
лаборатории молекулярной генетики человека  
Института биохимии и генетики УФИЦ РАН

Полянсь Каражевській Р.Р.  
Заверяю Сенчинарь Р.Р.

Казанцева Анастасия Валерьевна

