

РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ПРОТОКОЛА ИДЕНТИФИКАЦИИ *BRUCELLA SPP.* МЕТОДОМ ПЦР

Г.Д. Абишева¹, Е.С. Шевцова¹, А.Д. Каиржанова¹,
Т.Б. Кариебаев², И.И. Сытник², С.Б. Тюлегенов²,
А.Б. Шевцов¹, К.К. Муканов¹

¹ РГП Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан

² РГП Национальный референтный центр по ветеринарии,
Астана, Казахстан

Бруцеллез — инфекционная болезнь, поражающая животных всех видов, а также человека, и представляющая собой серьезную проблему для здравоохранения и животноводства. Ранняя диагностика играет ключевую роль в борьбе с бруцеллезом. Наряду с серологическими методами, в практике используются методы прямого обнаружения возбудителя бактериологическими методами и методом ПЦР. В данной работе представлены результаты исследований по разработке ПЦР протокола идентификации бруцелл и его апробации.

В работе были использованы праймеры: Omp2a-AB-F 5'-ttcgatcgctggtgtgttg-3' и Omp2a-AB-R 5'-gtcttg-ccscagtcgcat-3'. Оптимизацию проводили в градиенте температуры при концентрации магния от 1,5 до 3,5 mM с использованием ДНК штаммов *B. abortus* 19 и генетического близкого вида *O. thiophenivorans*.

В результате оптимальный состав реакционной смеси включал праймеры 0,35 μM каждого, 1 Ед Taq DNA Polymerase (Fermentas); 0,2 mM каждого дНТФ; 1-х ПЦР буфер (Fermentas, 10 mM Tris-HCl (pH 8,8 при 25°C), 50 mM KCl, 0,08% (объем/объем) Nonidet P40), MgCl₂ 2,5 mM. Оптимальная температура отжига праймеров — 62°C.

Оценка чувствительности протокола была проведена на ряде двукратных разведений ДНК *B. abortus* 19, взятых в концентрациях от 50 до 9,5 нг в реакции. Предел обнаружения составил 76 фг, или около 21 геномных копий ДНК. Проверка специфичности была проведена на образцах ДНК 64 бактериальных патогенов: *B. abortus* (10 штаммов), *B. melitensis* (10 штаммов), *B. suis* (5 штаммов), *B. ovis* (5 штаммов), *B. canis* (1 штамм), *L. monocytogenes* (5 штаммов), *Clostridium spp.* (5 штаммов), *Enterobacteriaceae* (17 штаммов), *Mycobacterium spp.* (6 штаммов). Специфический ПЦР продукт был выявлен только в 30 образцах ДНК *Brucella spp.* в остальных ДНК, включая 1 образец ДНК *B. ovis* ПЦР продукты отсутствовали. В результате анализа нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена данный штамм был идентифицирован как *B. bronchi-septica*. Таким образом, разработанный протокол идентификации *Brucella spp.* методом ПЦР является высокоспецифичным тестом для применения в диагностических лабораториях.

МОНИТОРИНГ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У МАКАК ЯВАНСКИХ ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ

А.А. Агумава, О.А. Шамсутдинова, М.Г. Чикобава
ФГБУ НИИ медицинской приматологии РАНН, г. Сочи

В последние годы появляется все больше данных о связи цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) с осложнениями беременности и родов (аборт, патологические роды, мертворождения). Частота распространения ЦМВИ среди особей репродуктивного возраста и беременных самок неуклонно растет. Установлена возможность трансплацентарной и перинатальной передачи ЦМВИ детенышам от инфици-

рованных матерей во время беременности и родов за счет аспирации цервикального и вагинального содержимого.

Цель работы — определение роли ЦМВИ в патологии беременности и родов у макак яванских. Объектом исследования являлись 12 погибших самок макаки яванской репродуктивного возраста, имевших в анамнезе самопроизвольные выкидыши, интранатальную гибель плода и неонатальную смерть новорожденных. Группу сравнения составили 14 самок, не имевших в анамнезе осложнений беременности и родов. Материалом для исследования служили соскобы, взятые из цервикального отдела и полости матки погибших самок. Определение инфицированности обезьян ЦМВ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для подготовки и постановки ПЦР использовали коммерческие наборы «ДНК-сорб» и «АмплиСенс CMV-FL» соответственно, производства ЦНИИ эпидемиологии (Москва).

Результаты проведенного исследования показали, что ЦМВИ была выявлена у 9 (75%) самок с патологией беременности и родов и у 4 (28,6%) самок группы сравнения. Так, ДНК ЦМВ обнаружена у 100% самок с самопроизвольными выкидышами, у 71% самок с интранатальной смертью плода и у 66% самок с неонатальной гибелью новорожденного в анамнезе. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о более высокой частоте обнаружения ЦМВИ ($p \leq 0,001$) у самок, имеющих в анамнезе различные виды патологии беременности и родов, по сравнению с особями, не имевшими осложнений. В результате нашего исследования мы пришли к заключению, что ЦМВИ влияет на репродуктивную функцию, исход беременности и родов у самок макаки яванской. Наши данные подтверждаются основными закономерностями развития ЦМВИ у людей.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ АКТУАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

А.В. Алабушева¹, О.Е. Хохлова^{1,2}, Т.А. Пируева¹,
О.И. Иванова¹, М.В. Данжаев¹

¹ ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

² Российско-японский центр микробиологии, эпидемиологии и инфекционных заболеваний, г. Красноярск

Цель: изучить микробный пейзаж гнойно-воспалительных осложнений у онкологических больных и чувствительность к антибиотикам основных возбудителей.

Материалы и методы. В период с июня 2012 г. по ноябрь 2013 г. обследовано 100 пациентов, находившихся на послеоперационном лечении в ОРИТ КККОД им. А.И. Крыжановского. По поводу злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (рак желудка, пищевода, поджелудочной железы, ободочной и прямой кишки) прооперировано 83 пациента, по поводу рака легких — 17. Исследуемый материал — бронхоальвеолярное содержимое, раневое отделяемое. Выделение и идентификацию возбудителей проводили в соответствии со стандартными методиками. Продукцию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у энтеробактерий определяли методом «двойных дисков» на среде

Muller–Hinton с использованием дисков с антибиотиками (OXOID). Для определения MRSA использовали метод скрининга с оксациллином, ПЦР (mecA, nuc). Типирование штаммов MRSA проводили с помощью ПЦР (agr), М-ПЦР (SCCmec-типирование).

Результаты. У больных с опухолями ЖКТ при посеве промывных вод бронхов рост получен в 85,7% случаев, из гнойных очагов брюшной полости — в 95%. У больных с раком легких микроорганизмы в промывных водах бронхов выявлены в 87,5%. В промывных водах бронхов и раневом отделяемом преобладали неферментирующие грамотрицательные бактерии — 41,2 и 44,4% соответственно. На долю энтеробактерий приходится соответственно 19,6 и 38,9%, при этом продуценты БЛРС в промывных водах бронхов составили 60%, а в раневом отделяемом — 56,3%. Микроорганизмы рода *Staphylococcus* составили 32,3 и 5,6% соответственно. Удельный вес метициллинрезистентных стафилококков — 47,2%, при этом доля MRSA — 23,5% от всех выделенных стафилококков. Все изученные изоляты MRSA не продуцировали лейкоцидин Пантон–Валентайна и относятся к двум клонам, в том числе 75% изолятов представлены вариантом SCCmecIIIА, 25% — вариантом SCCmecIV.

Вывод. Полученные данные о структуре возбудителей гнойно-воспалительных осложнений у онкологических больных и их антибиотикорезистентности необходимо учитывать при проведении эмпирической антимикробной химиотерапии.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

К.А. Алехина, О.С. Абрамовских, А.Ю. Савочкина

ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Челябинск

Вероятность развития заболевания, обусловленного вирусом папилломы человека высокого риска (ВПЧ ВР), в значительной степени определяется состоянием иммунной реактивности организма, что и обозначило цель исследования.

Материалы и методы. Проведено иммунологическое обследование 40 женщин с хроническим цервикальным и 40 женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией I степени (CIN I), у которых предварительно методом ПЦР был обнаружен ВПЧ ВР. Контрольную группу составили 40 женщин без клинико-морфологических изменений на шейке матки и другой гинекологической патологии с наличием ВПЧ ВР. Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту. Иммунологическое обследование включало определение показателей функциональной активности нейтрофилов, уровней иммуноглобулинов, цитокинов в периферической крови и цервикальной слизи.

Результаты исследования. У пациенток с хроническим цервицитом и CIN I, ассоциированными с папилломавирусной инфекцией (ПВИ), установлены однонаправленные изменения факторов местного иммунитета, которые выражались в повышении активности лизосомальных ферментов нейтрофилов и уровня IFN γ в цервикальной слизи.

Для больных с хроническим цервицитом, ассоциированным с ПВИ, по сравнению с женщинами без патологии шейки матки характерно повышение активности фагоцитоза нейтрофилов и уровня IL-1 β

в цервикальной слизи, повышение активности фагоцитоза нейтрофилов, снижение показателей спонтанного НСТ-теста нейтрофилов и концентрации IgG в периферической крови. У больных с CIN I, ассоциированной с ПВИ, относительно пациенток с хроническим цервицитом установлено снижение активности фагоцитоза нейтрофилов, уровней IL-2 и IL-8, повышение концентрации sIgA в цервикальной слизи, повышение активности спонтанного НСТ-теста нейтрофилов при увеличении их количества, рост концентрации IgG, падение уровней IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, TNF α в периферической крови.

Таким образом, при патологии шейки матки, ассоциированной с ПВИ, независимо от характера поражения цервикального эпителия, наблюдаются изменения иммунологических показателей цервикальной слизи и периферической крови, которые имеют как однонаправленный характер, так и отличительные особенности в каждой группе больных, связанные с прогрессией заболевания.

СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ЭХИНОКОККОЗОМ

Е.В. Алымова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Эхинококкоз печени является одним из наиболее распространенных и тяжелых паразитарных заболеваний, лечение которого остается весьма актуальной проблемой. Эхинококкоз вызывает глубокие изменения этого жизненно важного органа, приводящие к местным и общим осложнениям. Известно, что при данной патологии может развиваться окислительный стресс, который обусловлен избыточной продукцией активных форм кислорода (АФК), источником которых могут являться активированные макрофаги, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы и другие клетки в ходе так называемого «респираторного взрыва». Ключевая роль в защите организма от оксидативного стресса отводится системе глутатиона, основными компонентами которой являются восстановленный глутатион (GSH) и ферменты его метаболизма — глутатионпероксидаза (GPO) и глутатион-S-трансфераза (GST), устраняющие продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эндоксенобиотики. Исследование системы глутатиона проведено в эритроцитах контрольной группы (26 человек) и у больных хроническим эхинококкозом, принимавших немозол фирмы «Ирса», Индия (12 человек).

При эхинококкозе нами выявлено повышение содержания MDA в 3,7 раза (6,30 мкмоль/гHb $p < 0,001$), которое может быть косвенным подтверждением увеличения уровня активных формы кислорода, запускающих не только процессы ПОЛ, но и оксидативной модификации других биомолекул. В эритроцитах больных эхинококкозом при лечении немозолом отмечается снижение активности глутатион-S-трансферазы — на 34% (1,55 ммоль/мин/гHb) по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы 2,34 ммоль/мин/гHb ($p < 0,005$), достоверных изменений в активности GPO не было обнаружено. Содержание восстановленного глутатиона снижено на 24% — 1,77 мкмоль/гHb ($p < 0,005$).

Глутатион — важнейший внутриклеточный тиоловый антиоксидант, от уровня которого зависит работа глутатионзависимых ферментов, GST и GPO. Кроме того, GSH участвует в непосредственной де-

токсикации АФК, а также необходим для поддержания в восстановленном состоянии мембранного антиоксиданта α -токоферола.

Нарушение системы глутатиона, сопровождающееся повышением конечного продукта липопероксидации полиеновых жирных кислот в фосфолипидах плазматической мембраны эритроцитов является фактором, неблагоприятным для больных эхинококкозом.

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ДИАСКИНТЕСТА В ДИАГНОСТИКЕ РАННИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

С.М. Ананьев², Н.В. Корнева¹, А.А. Старшинова¹,
В.В. Вербинская²

¹ ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ
² ГБУЗ Противотуберкулезный диспансер № 5, Санкт-Петербург

Введение. Низкая информативность пробы Манту с 2ТЕ (п. Манту 2ТЕ) в оценке активности туберкулезной инфекции требует поиска надежных критериев ранней диагностики инфицирования МБТ у детей. С 2010 г. в практике широко применяется новый иммунологический тест — Диаскинтест (ДСТ), который по результатам исследований имеет высокую информативность в диагностике активности туберкулезной инфекции у детей.

Материалы и методы. С января по октябрь 2012 г. в противотуберкулезном диспансере (ПТД) СПб № 5 обследованы 192 пациента от 1 до 14 лет, направленных из общей лечебной сети (ОЛС) в связи с изменением чувствительности к туберкулину. Распределение по полу было практически равным: девочек — 90 (46,9%), мальчиков — 102 (53,1%); преобладали пациенты в возрасте 4–6 лет — 87 (45,3%) и 7–11 лет — 74 (38,5%), 12–14 лет — 27 (14,1%), 1–3 года — 4 (2,1%). Всем детям проведены п. Манту 2ТЕ и ДСТ.

Результаты. Результаты п. Манту 2ТЕ: низкая чувствительность к туберкулину — 27,1% (52); средняя — 50% (96); высокая — 22,9% (44). У детей с низкой чувствительностью в 82,7% (43) получен отрицательный результат ДСТ, сомнительный — 1,9% (1), положительный — 15,4% (8). У детей со средней чувствительностью отрицательный результат ДСТ отмечался в 66,7% (64), сомнительный — 3,1% (3), положительный — 30,2% (29). У детей с высокой чувствительностью по п. Манту 2ТЕ отрицательный результат ДСТ отмечен в 45,5% (20) случаев, положительный — 54,5% (24). У пациентов с низкой и средней чувствительностью к туберкулину отрицательный результат ДСТ отмечался достоверно чаще в сравнении с высокой чувствительностью ($p < 0,05$). У пациентов с высокой туберкулиновой чувствительностью достоверных различий частоты отрицательного и положительного результатов ДСТ не получено (45,5 против 54,5%; $p > 0,1$), что указывает на возможность определения истинной активности туберкулезной инфекции с использованием п. Манту 2ТЕ только у 54,5% детей. Анализ динамики п. Манту 2ТЕ и отрицательный результат ДСТ позволили снять необходимость наблюдения в ПТД у 118 детей (61,5%), из них у 23 человек — поствакциная аллергия, 95 — инфицированы МБТ с прошлых лет. Использование комплекса современных методов диагностики позволило у 13 (11,1%) пациентов установить туберкулез органов дыхания, все дети имели положительный ДСТ. 61 пациенту с положительным

ДСТ установлен диагноз латентная туберкулезная инфекция, что потребовало проведения профилактических мероприятий.

Выводы. Применение ДСТ на этапе ПТД позволяет выявить ранние проявления туберкулезной инфекции. Только 31,5% (61) направленных из ОЛС детей нуждались в наблюдении ПТД, у 6,8% (13) был диагностирован туберкулез. Включение ДСТ в алгоритм обследования ПТД позволяет исключить необходимость наблюдения в 61,5% (118) случаев.

ОРГАНИЗАЦИЯ СИСТЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ. ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ

Н.С. Анисимова, А.Е. Гушин, В.В. Покровский
ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Хламидийная инфекция (ХИ) характеризуется широким распространением и оказывает негативное влияние на репродуктивное здоровье населения. В связи с этим оценка действующей системы эпидемиологического надзора (ЭН) за ХИ является одной из актуальных задач общественного здравоохранения. Нами проведено изучение качества и эффективности основных элементов системы: статистического и лабораторного мониторингов, а также организационных и нормативно-правовых основ надзора. Установлено, что основной причиной неполной информации о выявленных случаях ХИ является существующая несовершенная система учета и регистрации, характеризующаяся сложностью организации информационных потоков, отсутствием регулярного и полноценного информационного обмена между заинтересованными участниками, отсутствием контроля за полнотой учета. Таким образом, для обеспечения достаточного объема и достоверности информации о случаях ХИ требуется оптимизация системы ЭН во всех подсистемах.

Информационно-аналитическая подсистема ЭН за ХИ может быть оптимизирована:

- совершенствованием системы учета ХИ посредством оснащения едиными компьютерными системами передачи информации из КВД и ЛПУ в территорию управления РПН с помощью электронной почты;
- совершенствованием лабораторной базы КВД.

Диагностическая подсистема ЭН за ХИ может быть оптимизирована применением в аналитической деятельности данных о распространенности ХИ среди разных возрастно-половых групп пациентов, результатов скрининговых обследований населения.

Управленческая подсистема ЭН может быть оптимизирована посредством:

- создания нормативно-методических документов, объединяющих усилия КВД и РПН по профилактике ХИ;
- создания унифицированных электронных форм учета и отчетности;
- введения обязательного обследования на ХИ в рамках медицинских осмотров;
- усиления мер контроля за эффективностью регистрации ХИ в ЛПУ, имеющих медицинскую лицензию;
- введения ХИ в перечень инфекций, учитываемых и контролируемых по формам 1 и 2.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТА ВИРУСА КРАСНУХИ В РАМКАХ НАДЗОРА ЗА КОРЬЮ И КРАСНУХОЙ НА ЭТАПЕ ИХ ЭЛИМИНАЦИИ

А.Ю. Антипова¹, Е.В. Тимофеева², И.Н. Лаврентьева¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

²Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу,
Санкт-Петербург

На этапе элиминации кори и краснухи обязательным элементом эпиднадзора за этими инфекциями является лабораторное подтверждение каждого случая (Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 17 апреля 2013 г. № 17). В рамках реализации программы «Профилактика кори и краснухи в период верификации их элиминации в Российской Федерации (2013–2015 гг.)» предусмотрено проведение генетического мониторинга циркуляции диких штаммов вирусов кори и краснухи для дифференцирования эндемичных и завозных случаев на территории РФ.

Цель исследования — лабораторное обследование лиц с первичным диагнозом «краснуха» для выделения и генотипирования изолятов вируса краснухи.

В сыворотках крови и смывах из ротоглотки больных, поступивших в Городскую инфекционную больницу № 30 в 2011 г. с клиническим диагнозом «краснуха» в одном из 30 случаев диагноз был подтвержден лабораторно методами ИФА (IgM-АТ в сыворотке крови) и ПЦР. Из ротоглоточного смыва больного был получен изолят Sankt Petersburg RUS 1366, который по результатам генотипирования отнесен к 1Е генотипу и близкородственен штаммам, циркулирующим в Китае.

Проведенное эпидемиологическое расследование показало, что заболевший, студент одного из ВУЗов Петербурга, проживающий в общежитии, уехал в КНР 22.01.11 г., вернулся в СПб 04.03.11 г. и 14.03.11 г. заболел краснухой. Очаг инфекции был ограничен одним заболевшим. Был доказан факт импортирования штамма вируса краснухи Sankt Petersburg RUS 1366 из Китая.

Отсутствие циркуляции эндемичных штаммов вируса является необходимым условием верификации элиминации. Собственные результаты и литературные данные (Шульга С.В., 2010; Бузицкая Ж.В., 2012; Тюников Г.И., 2007) подтверждают факт вытеснения эндемичного для России генотипа 2С штаммами вируса краснухи первой генетической группы.

ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА СХСР3- И ССР6-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ С НСV-ИНФЕКЦИЕЙ

Н.А. Арсентьева¹, Д.С. Елезов¹, И.В. Кудрявцев²,
А.В. Семенов¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

²ФГУН НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Введение. Характерной чертой вирусного гепатита С является высокая частота хронизации процесса (80%), в большой степени обусловленная нарушением иммунного ответа. Провоспалительные хемокины — ключевые молекулы, ответственные за направленное движение иммунокомпетентных клеток в очаг воспаления. Поэтому хемокиновые рецепторы, экс-

прессурующиеся на поверхности лейкоцитов, можно рассматривать как маркеры активации клеток, готовых к миграции. При развитии НСV-инфекции для попадания лимфоцитов в печень хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR6 имеют наибольшую значимость. Целью исследования стало количественное определение CXCR3- и CCR6-положительных лимфоцитов у больных с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС).

Материалы и методы. Материалом исследования служила периферическая кровь больных ХВГС (n = 42) и условно здоровых доноров (n = 32). Методом проточной цитофлюориметрии определяли экспрессию хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR6 на Т-хелперах (Тх), цитотоксических Т-лимфоцитах (ЦТЛ), натуральных киллерных (НК), Т-натуральных киллерных клетках (ТНК) и В-лимфоцитах. Статистический анализ осуществляли с применением GraphPad Prism 6. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты. Количество основных популяций лимфоцитов Тх, ЦТЛ, НК, ТНК и В-клеток больных ХВГС не отличалось от контрольной группы. Тем не менее, содержание CXCR3+ Тх было повышено в 1,3 раза (p < 0,0001), а CCR6+ Тх было снижено в 1,5 раза (p = 0,002) в крови больных с НСV-инфекцией по сравнению с условно здоровыми донорами. Количество ЦТЛ, экспрессирующих CXCR3 и CCR6 в группе больных, снижалось в 1,3 (p < 0,0001) и 1,75 (p = 0,004) раза соответственно, по сравнению с контрольной группой. Уровень CXCR3+ и CCR6+ НК и ТНК был ниже у больных ХВГС: в 2,3 и 14,5 среди НК (p = 0,005; p = 0,002) и 1,3 и 1,5 среди ТНК (p = 0,009; 0,019). Количество CXCR3+ В-клеток у пациентов с НСV-инфекцией было повышено более чем в 3 раза по сравнению с группой условно здоровых доноров (p < 0,0001).

Закключение. У больных с НСV-инфекцией в периферической крови увеличивается содержание CXCR3+ Тх и В-лимфоцитов, уменьшается количество CXCR3+ и CCR6+ клеток, обладающих цитотоксической активностью, что может отражать активацию гуморального и подавление эффекторного звеньев иммунитета.

ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В СИСТЕМЕ МОНИТОРИНГА ВИБРИОФЛОРЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ

Е.А. Басов, Л.В. Миронова, М.В. Афанасьев, В.С. Ганин,
Ж.Ю. Хунхеева, Л.Я. Урбанович, С.В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора

Мониторинг вибриофлоры поверхностных водоемов является важным звеном в системе эпиднадзора за холерой. При его осуществлении одно из требований — скорость и достоверность идентификации патогена. В настоящее время таким требованиям отвечает MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ (MALDI-TOF MS), позволяющий идентифицировать микроорганизмы на основании их белкового профиля.

Цель работы — оценка эффективности использования прямого белкового профилирования с использованием MALDI-TOF MS в мониторинге вибриофлоры поверхностных водоемов.

При проведении мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов г. Иркутска в летний период 2012–13 гг. исследовано 1872 пробы (вода, ил, гидробионты, водоросли). Бактериологическому и масс-спектрометрическому анализу подвергались колонии, морфологически сходные с *V. cholerae*. Масс-спектрометрический анализ осуществлялся после предварительной постановки ориентировочной реакции агглютинации с холерными сыворотками O1 и O139 серогрупп: не агглютинирующиеся культуры исследовались прямым нанесением на чип, агглютинирующиеся одной из сывороток предварительно проходили спиртовую обработку с последующей экстракцией белка ацетонитрилом и муравьиной кислотой.

В результате из 583 исследованных колоний масс-спектрометрически к *V. cholerae* отнесено 220 из 76 проб, отобранных в стационарных точках поверхностных водоемов г. Иркутска. Бактериологически как *V. cholerae* идентифицировано 65 культур, отнесенных по результатам масс-спектрометрического анализа к указанному виду. Из них две культуры по комплексу признаков отнесены к *V. cholerae* eltor, остальные 63 — к *V. cholerae* не O1/O139. Выявленные различия масс-спектрометрической идентификации и бактериологического анализа (наличие положительных по MALDI-TOF MS культур, не подтвержденных бактериологически) требуют дальнейшего исследования с применением молекулярно-генетических методов, позволяющих определить таксономическую принадлежность микроорганизма.

Таким образом, методика MALDI-TOF MS идентификации показала высокую эффективность при проведении мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов и может быть рекомендована для включения в схему лабораторной диагностики холеры.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА CIN III И SARCOMA IN SITU ШЕЙКИ МАТКИ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

И.Л. Батурина, И.Ю. Орнер, М.А. Зотова, Л.Ф. Телешева, А.В. Жаров, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева

НИИ иммунологии ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Челябинск

В настоящее время основным методом диагностики, подтверждающим рак шейки матки (РШМ), является гистологическое исследование. Однако до 20% эксцизионных биопсий оказываются неинформативными, в связи с чем возникла потребность усовершенствовать дифференциальную диагностику между цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) и преинвазивным раком шейки матки (Cg *in situ*).

Цель исследования: установить иммунологические критерии перехода CIN III в Cg *in situ* для использования их в дифференциальной диагностике данной патологии.

Материалы и методы. Проведено иммунологическое обследование 53 женщин с гистологически верифицированным диагнозом CIN III (I подгруппа, n = 30) и Cg *in situ* (II подгруппа, n = 23), у ко-

торых предварительно методом ПЦР была выявлена папилломавирусная инфекция. Для оценки иммунологических показателей у женщин исследовались периферическая кровь и цервикальная слизь. Статистические методы: «Statistica for Windows 6.0», пошаговый дискриминантный анализ.

Результаты исследования. Выявлены достоверные отличия ряда иммунологических показателей у больных CIN III и Cg *in situ*. Для уточняющей диагностики между I и II подгруппами установлены переменными явились: абсолютное содержание CD10⁺, CD20⁺, CD25⁺ лимфоцитов крови, функциональный резерв нейтрофилов цервикальной слизи (ФРНС, у.е.), уровень IL-10 крови (IL-10K, пг/мл), IFN γ (IFN γ C, пг/мл) и TNF α (TNF α C, пг/мл) цервикальной слизи. На основании полученных данных была составлена функция: $F(x) = -15,671 \times (CD10^+) + 13,993 \times (CD20^+) - 15,035 \times (CD25^+) + 0,488 \times \text{ФРНС} + 0,633 \times \text{IL-10K} + 0,1 \times \text{IFN}\gamma\text{C} - 0,081 \times \text{TNF}\alpha\text{C} - 4,786$. Применение формулы подразумевает формальную подстановку количественных значений показателей.

Выводы. Методом пошагового дискриминантного анализа составлена функция, позволяющая провести дифференциальную диагностику между CIN III и Carcinoma *in situ*, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией.

СКРИНГ ШТАММОВ HELICOBACTER PYLORI НА НАЛИЧИЕ cagA+

Э.Е. Бекенова^{1,2}, Г.Н. Кулмамбетова², А.К. Туякова², А.Т. Сукашев³, А.А. Логвиненко³, К.Х. Алмагамбетов²

¹ Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

² РПП Республиканская коллекция микроорганизмов, Астана, Казахстан

³ Национальный научный медицинский центр Астаны, Казахстан

Инфицирование бактерией *Helicobacter pylori* вызывает развитие в слизистой желудка воспалительного процесса, который в большинстве случаев протекает в форме хронического гастрита. К настоящему времени у двух штаммов *H. pylori* (J99 и 26695) определены полные последовательности генома. Геном *H. pylori* содержит 1600 генов. Ряд генов, продукты которых — белки CagA, VacA, IceA, BabA, считаются факторами патогенности. Гены *H. pylori*, ассоциированные с цитотоксином А или островка патогенности *cag*, кодируют белок длиной 1186 аминокислотных остатка и состоит из 30–40 генов. Этот белок признан одним из основных факторов патогенности *H. pylori* и считается ответственным за нарушение целостности эпителия слизистой желудка. Он обычно отсутствует у штаммов, которые выделены от людей, являющихся бессимптомными носителями *H. pylori*.

Целью работы являлось культивирование и скрининг штаммов на наличие CagA+ *H. pylori*.

В работе были исследованы 16 культур *H. pylori*, изолированных из биоптатов слизистой оболочки желудка от пациентов с патологиями желудочно-кишечного тракта Национального научного медицинского центра г. Астаны. С биопсийного материала проводили посев на селективные среды. Посевы инкубировали при температуре 37°C, влажности 98%, в микроаэрофильных условиях, в течение 7 сут.

Скрининг штаммов *H. pylori* на вирулентный ген *cagA* был проведен с помощью ПЦР. Реакция ПЦР была выполнена с праймерами Lage (1995) 5'-ААТАСАСААСГССТССААГ-3' и 5'-ТТГТТГ-ССГСТТТТГСТСТС-3' в общем объеме 20 мкл. Программа ПЦР амплификации включала длительную денатурацию 95°C в течение 5 мин; 30 циклов: 95°C — 30 с, 55°C — 30 с, 72°C — 40 с; заключительная элонгация 7 мин при 72°C, ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). Фракционировали фрагменты *cagA* гена методом электрофореза в 1% агарозном геле.

В результате проведенной нами работы был амплифицирован специфический фрагмент вирулентного *cagA+* гена *H. pylori* молекулярной массой около 400 п.н. в биоптатах 8 из 16 больных с язвенными поражениями желудка, гастритом и язвой 12-перстной кишки.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ НОСИТЕЛЬСТВА *S. PNEUMONIAE* В ДЕТСКИХ ОРГАНИЗОВАННЫХ КОЛЛЕКТИВАХ ГОРОДА ИРКУТСКА

О.И. Боброва, О.Г. Карноухова, Л.А. Степаненко,
Г.Ю. Коган, В.И. Злобин

ГБОУ ВПО Иркутский государственный медицинский
университет МЗ РФ

Цель исследования — изучение распространенности носительства *S. pneumoniae* в детских организованных коллективах города Иркутска. Всего обследовано 118 детей в возрасте от 2 до 5 лет. Из них 53,4% — девочки и 46,6% — мальчики. Дополнительно проведено анкетирование детей по индивидуальной разработанной схеме с применением «Методических рекомендаций по комплексной оценке состояния здоровья детей и подростков при массовых врачебных осмотрах» [М., 1982 (МЗ СССР)]. Дети разделены на 4 группы здоровья и обследованы на носительство *S. pneumoniae*. Забор материала производили с задней стенки носоглотки тампоном COPAN 482CE, транспортировался в среде обогащения и засевали по методу Гоелда на чашки Петри с 5–10% кровяно-сыровоточным агаром. Посевы инкубировали при 37°C 24 часа. Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным свойствам и чувствительности к оптохину и литическому действию желчи. Среди обследованных детей, процент носительства пневмококка колебался от 6,8 до 18,7. Наибольшая частота носительства (11,9%) наблюдалась среди детей 2 группы здоровья.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *YERSINIA* МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Е.А. Богумильчик¹, М.В. Афанасьев², М.Б. Ярыгина²,
Е.А. Воскресенская¹, Г.Я. Ценева¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург;

²ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора

Разнообразие представителей рода *Yersinia*, близкородственных *Y. enterocolitica* (YE-like), затрудняет идентификацию по фенотипическим признакам, и их часто определяют как *Y. enterocolitica* вследствие недостаточного количества коммерческих тестов. В последние годы метод масс-спектрометрии (MS)

все шире внедряется для идентификации микроорганизмов, в том числе иерсиний. Для изучения коллекции 1110 штаммов иерсиний использовали MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Германия). У изученных штаммов, по значению Score Value (SV) установлена таксономическая принадлежность.

По итогам проведенных исследований показана высокая дифференцирующая способность MS для определения принадлежности к роду *Yersinia* (100% штаммов), видам *Y. pseudotuberculosis* — 327 штаммов (100%) и *Y. enterocolitica* — 563 штамма (99,8%). Методом MS среди группы представителей, ранее отнесенных к *Y. enterocolitica*, выявлено 57 штаммов (9,5%), относящихся к YE-like видам. При исследовании 219 представителей YE-like отмечена достоверная идентификация до вида (SV > 2,3) только для 30,9% штаммов вида *Y. kristensenii*, 14,8% — *Y. intermedia*, 11,1% — *Y. frederiksenii*. Для ряда штаммов с неоднозначными результатами по MS проводили реидентификацию с использованием дополнительных тестов в соответствии с современными данными о биохимической активности иерсиний и подтверждали видовую принадлежность по последовательности участка гена 16S рРНК. Идентификация методом MS иерсиний близкородственных *Y. enterocolitica* видов осложняется тем, что в более чем 70% случаев, наиболее соответствующим масс-спектру исследуемого штамма по значению SV, является референтный масс-спектр штаммов *Y. enterocolitica* базы MALDI Biotyper 3.0. Тем не менее, метод MS позволил выявить три штамма вида *Y. aleksiciae* (подтверждено по последовательности гена 16S рРНК), не имеющих отличий от *Y. kristensenii* по известным биохимическим свойствам.

Быстрый и относительно дешевый метод MS может быть рекомендован в качестве экспресс метода для установления принадлежности к роду *Yersinia*, видам *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Сочетанное использование метода MS и постановки необходимых биохимических тестов, позволяет повысить эффективность внутриродовой дифференциации бактерий рода *Yersinia*.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КОЛЛЕКЦИЙ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

А.Г. Богун, А.А. Кисличкина, Н.В. Майская,
Л.А. Кадникова, Д.В. Русанова, С.А. Благодатских
ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

В деятельности коллекций патогенных микроорганизмов важно иметь уверенность, что депонируемые штаммы правильно идентифицированы и охарактеризованы авторами, а в процессе хранения не происходит изменения их свойств. Биохимические и культурально-морфологические исследования часто не обеспечивают эффективную дифференциацию. Большое разнообразие микроорганизмов, находящихся на хранении не позволяет иметь весь набор специфических методов, поскольку требует значительных материальных затрат.

В ГКПМ-Оболенск, созданной на базе ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, депонировано более 10 000 штаммов. Деятельность коллекции связана с предоставлением стандартных образцов, патентному депонированию, гарантийному хранению штам-

мов бактерий и грибов I–IV групп патогенности, а также бактериофагов. Комплекс MALDI-Biotyper позволяет проводить родовую и видовую идентификацию микроорганизмов с единичной колонии менее чем за 1 час. При недостоверной идентификации может использоваться анализ последовательности гена 16SrRNA на системе ABI 3500. Для дополнительной идентификации используются: полимеразная цепная реакция (выявление генов токсинов, анализ делеций и инсерций), CRISPR-анализ, анализ ПДРФ, анализы MLVA и MLST. Для многих бактерий существуют базы данных, позволяющие проводить эффективное сравнение изученных признаков. Недостатком дополнительных методов идентификации является необходимость использования наборов реактивов, ориентированных на анализ только одного вида микроорганизма.

Полногеномное секвенирование наиболее информативно для дифференциации штаммов. В ГКПМ-Оболensk используются секвенаторы Ion Torrent и FLX 454, которые позволяют анализировать 1–10 бактериальных геномов за один раунд секвенирования, причем микроорганизмы могут принадлежать к различным таксономическим группам. Анализ генома микроорганизма занимает 2–5 дней после выделения культуры. Количество секвенированных геномов, размещенных в интернете, постоянно увеличивается и уже превышает число штаммов, включенных в традиционные базы данных (MLST, CRISPR, MLVA). Все это позволяет предположить, что в ближайшее время в качестве основного метода молекулярно-генетического типирования будет применяться полногеномный анализ.

РИСКИ, СВЯЗАННЫЕ С ЕЖЕГОДНОЙ ПРИВИВКОЙ ДЕТЕЙ СУБЪЕДИНИЧНОЙ АДЬЮВАНТНОЙ ВАКЦИНОЙ «ГРИППОЛ»

Е.Ю. Боравлева, А.С. Гамбарян

ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва

В России осенью 2009 г. миллионы школьников были привиты адьювантной вакциной «Гриппол плюс», содержащей антиген вышедшего из циркуляции H1N1 вируса. Такая вакцинация была, по меньшей мере, бесполезна. Пандемический вирус 2009 г. инфицировал привитых старыми вакцинами с такой же частотой, что и непривитых (Pelat et al., 2011).

В целях разработки стратегии вакцинации с учетом риска новых пандемий нами было проведено сравнение протективности вакцин разных типов. В эксперименте на мышах мы сравнивали цельновирионные инактивированные вакцины, расщепленные вакцины с адьювантами различной природы и без них, а также экспериментальные живые вакцины. Изучалась способность вакцин разных типов защищать от специфического и гетеросубтипического контрольного заражения (высокопатогенным H5N1 и пандемическим H1N1).

Было показано, что предварительное инфицирование непатогенным вирусом гриппа (холодаадаптированной живой вакциной, человеческим вирусом либо вирусом диких птиц) обеспечивает высокий уровень защиты от гетеросубтипического контрольного заражения высокопатогенным H5N1 вирусом, в то время как иммунизация инактивированными вакцинами практически совершенно бесполезна

в этом отношении. А после иммунизации субъединичной вакциной «Гриппол» с полиоксидонием и контрольного заражения гетеросубтипическим вирусом мы обнаруживали эффект более тяжелого хода болезни и/или ускоренной гибели по сравнению с непривитыми животными.

Примеры перекрестной защиты живыми противогриппозными вакцинами описаны в литературе (Рекстин и др., 2005; Kreijtz et al., 2007; Jang et al., 2013; Sun et al., 2011; Chen et al., 2011). Также показана неэффективность, в подобном случае, инактивированной вакцины (Красильников и др., 2010; Pelat et al., 2011; Hillaire et al., 2011).

Из вышеизложенного следует, что при принятии решения о вакцинации от гриппа надо принимать в расчет не только соотношение потенциальных рисков и защиты от эпидемических штаммов, но и возможные риски в случае появления нового пандемического вируса. В последнем случае привитые живыми вакцинами будут частично защищены, а привитые субъединичной вакциной с полиоксидонием (или без него) окажутся в более опасном положении, чем непривитые.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00547А.

ОЦЕНКА УГРОЗ КОЛОНИЗАЦИИ ПАЦИЕНТОВ АКУШЕРСКИХ СТАЦИОНАРОВ РЕЗИДЕНТНЫМИ ШТАММАМИ С ВЫСОКОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К АНТИБИОТИКАМ

А.А. Вакарин, А.С. Корначев, Л.В. Катаева

ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора

Результативность системы биологической безопасности родильных домов оценивается ее способностью к минимизации угроз формирования и распространения в среде пациентов резидентных штаммов с высокой устойчивостью к антибиотикам (РШ). Эти угрозы обеспечиваются разными факторами.

Целью нашей работы являлось изучение влияния докорма на распространение РШ среди новорожденных в роддомах. В качестве объектов исследования выступали два роддома г. Тюмени, которые, начиная с 2005 г., в своей работе использовали технологию родовспоможения, ориентированную на участие семьи (РОУС), для медицинской помощи женщинам с физиологической беременностью с 36 недель без соматической патологии. Ключевым различием акушерских стационаров являлся характер вскармливания новорожденных. В основу исследования, положен еженедельный микробиологический мониторинг микрофлоры, колонизирующей здоровых новорожденных и родильниц, и ежеквартальный отбор смывов для оценки уровней контаминации объектов производственной среды РШ. В период с 2011–2013 гг. исследовано 4180 мазков, взятых со слизистых конъюнктивы, носа, зева, прямой кишки и кожи пупочного остатка у 928 детей и с молочных желез и рук 727 женщин в послеродовом периоде. Кроме того, отобран 1821 смыв на микробиологическую обсемененность поверхностей в стационарах. Выделено 8483 штамма, из них у 5319 определена чувствительность к десяти индикаторным антибиотикам и исчислен индекс полирезистентности (ИПР). Статистическая обработка выполнена лицензионным программным обеспечением SPSS версия 14.0, с использованием диаграмм рассеивания и карт Шухарта.

Установлено, что в роддоме, широко используя докорм новорожденных, ИПР микрофлоры, выделенной от пациентов, составлял 18,02%, а в роддоме, ориентированном на грудное вскармливание — 16,75%. Разность средних составила 1,27% (ДИ 0,4–2,14). Данные различия формировались за счет флоры, обнаруженной в кале и на коже пупочного остатка новорожденных. Таким образом, можно предположить, что ведущая роль в интенсивности колонизации кишечника детей микрофлорой с высоким значением ИПР принадлежит характеру вскармливания новорожденных. Степень достоверности этой гипотезы предстоит оценить в ходе последующих этапов научного исследования.

ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

Е.В. Васильева, В.Н. Вербов, Арег А. Тотолян

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Для предупреждения распространения туберкулеза (ТБ) большое значение имеет своевременная и достоверная диагностика. Перспективным направлением для совершенствования методов клинической диагностики туберкулеза является идентификация биомаркеров в венозной крови. Цель исследования — поиск информативных иммунологических маркеров и разработка алгоритма, позволяющего дифференцировать активный ТБ легких от латентной туберкулезной инфекции (ЛТБИ).

В исследование были включены больные впервые выявленным туберкулезом легких до начала специфической противотуберкулезной терапии, здоровые доноры и группа контактных лиц, имеющих длительный контакт с больными ТБ. Всем лицам, включенным в исследование, определяли содержание в плазме крови неоптерина (IBL, Германия), специфических антител класса IgG (ПТА) (ИФА-анти-ТУБ, Россия) и выполняли «QuantiFERON-TB Gold In-Tube» (КФТ). Помимо IFN γ мы определяли спонтанную (NIL) и антигениндуцированную (AG) продукцию 12 анализов (EGF, MIP-1 β , VEGF, IL-2, IL-4, IL-6, IL-1 α , IFN α 2, TGF α , TNF α , sIL-2R α , sCD40L) с помощью технологии xMap (Millipore, США) и IP-10 иммуноферментным методом (Bender Medsystems, Австрия). Для статистической обработки полученных данных использовали пакеты программ MS Excel, SPSS (версия 13.0), Prizm 5.0 (GraphPad Software Inc.), JMP 9.0.

Установлено, что для диагностики инфицирования КФТ является наиболее информативным тестом. При дифференциальной диагностике латентной и активной туберкулезной инфекции наибольшей значимостью обладает выявление ПТА, после чего следует НПТ. Специфичность КФТ для решения этой задачи ничтожна. В результате проведения мультиплексного анализа было установлено, что IP-10_{AG-NIL} и IL-2_{AG-NIL} могут служить биомаркерами, альтернативными IFN γ _{AG-NIL}, которые позволяют работать в более широком диапазоне определяемых концентраций и при более высоких пороговых значениях. Построение дерева решений в программе JMP 9.0 позволило выбрать три наиболее значимых маркера: IFN γ _{AG-NIL}, TGF α _{NIL} и IL-6_{AG}, комбинированное определение которых позволило выявить 96,3% (26 из 27) случаев активного туберкулеза и 80,7% (21 из 26) случаев ЛТБИ.

На основании полученных результатов нами предложен двухступенчатый алгоритм иммунологической диагностики ТБ. На первом этапе предлагается проводить количественное измерение специфической продукции IFN γ , IP-10 или IL-2, тем самым выявляя контингент лиц, инфицированных микобактериями. На втором этапе, для определения активности туберкулезного процесса, применять комбинацию IFN γ , TGF α и IL-6 или определять содержание НПТ и ПТА в сыворотке крови.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

Е.В. Венев¹, В.В. Цветков²

¹ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

² ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург

Введение. Комбинированная терапия хронического гепатита С (ХГС) позволяет добиться устойчивого вирусологического ответа у 50–60% больных, получающих пегилированные интерфероны и рибавирин. Для пациентов, не ответивших на терапию или с рецидивом заболевания, необходим поиск более эффективных схем лечения.

Цель. Оценить безопасность применения аутологичных дендритных клеток в комплексной терапии ХГС.

Материалы и методы. В исследование включено 6 больных ХГС, не ответивших на противовирусную терапию, и получающих повторный курс комбинированной терапии пегилированным интерфероном и рибавирином. Все пациенты получили 48-недельный курс введения аутологичных дендритных клеток, нагруженных фрагментами белка вируса гепатита С.

Результаты. На 48 неделе лечения у 4 из 6 больных выявлено снижение вирусной нагрузки до неопределяемого уровня. Один из испытуемых был на 36 неделе исключен из исследований ввиду развития нежелательных явлений.

Выводы. Предварительные результаты ограниченного клинического исследования показали относительную безопасность применения аутологичных дендритных клеток в комплексной терапии ХГС. В ходе проводимого лечения достигнут ранний вирусологический ответ у большинства больных, не ответивших на предыдущую противовирусную терапию. Оценка эффективности комплексной терапии ХГС с использованием дендритных клеток, нагруженных фрагментами белка вируса гепатита С, может быть рекомендована к изучению на более широкой выборке больных.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ИНФЕКЦИЯМИ, ПЕРЕНОСИМЫМИ КЛЕЩАМИ, НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Е.В. Веригина^{1,2}, Е.Г. Симонова^{2,3}

¹ ФБУЗ Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

² ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва

³ ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

В настоящее время инфекции, передаваемые клещами, представляют серьезную проблему для большинства территорий Российской Федерации. На фоне расширения природных и формирования антропогенных очагов ежегодно регистрируются случаи

заболеваний людей клещевым вирусным энцефалитом, иксодовым клещевым боррелиозом, клещевыми риккетсиозами, а также такими новыми инфекциями, как моноцитарный эрлихиоз и гранулоцитарный анаплазмоз человека. Для слежения за эпидемиологической ситуацией с целью принятия оперативных управленческих решений в стране с 2009 г. введен сезонный мониторинг клещевых инфекций, который осуществлялся в 70 субъектах на территориях Центрального, Северо-Западного, Приволжского, Уральского, Сибирского и Дальневосточного федеральных округов. С 2013 г. данный мониторинг осуществляется на всей территории страны.

Результаты мониторинга показали, что по поводу укусов клещами с момента начала мониторинга по настоящее время обратилось более 2,5 млн чел. Средний показатель обращаемости в 2010–2013 гг. составил 282,4 на 100 тыс. населения. В структуре обратившихся за медицинской помощью преобладало взрослое население, доля детей до 17 лет составила в среднем 22,1%, 65–70% обратившихся проживает на территориях Приволжского, Уральского и Сибирского федеральных округов. С апреля 2011 г. по июль 2013 г. в стране исследовано 829 124 клеща, из них 75–80% снято с людей. Среднее число положительных находок составило 4%. Максимальные уровни инфицирования клещей (до 30%) выявлены на территориях Сибирского и Приволжского регионов.

Данная система сбора информации, имеющая в своем составе элементы статистического, эпидемиологического и энтомологического мониторингов, является важной составляющей информационной базы для эпидемиологической диагностики, однако для наиболее полной картины необходимо проводить мониторинг клинических форм инфекций, переносимых клещами, что позволит выявить наиболее опасные территории, и провести расследование причин заболеваемости тяжелыми формами инфекций.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

В.В. Ветров

*Управление Роспотребнадзора по Ленинградской области,
Санкт-Петербург*

Туберкулез остается социально значимой проблемой для большинства регионов Российской Федерации. Целью исследования явилось определение основных факторов риска формирования профессионального туберкулеза для обоснования совершенствования профилактических мероприятий.

Задачи исследования заключались в изучении уровня профессиональной заболеваемости туберкулезом и ее доли в структуре профессиональной патологии органов дыхания, определении профессиональных, половых и возрастных групп риска.

Материалы и методы. Изучены акты расследования 799 случаев профессиональных заболеваний органов дыхания в Ленинградской области, в том числе 57 случаев профессионального туберкулеза, в период 1996–2013 гг. В работе использованы гигиенические методы, ретроспективный эпидемиологический анализ и методы статистики.

В результате исследования установлено, что доля профессиональных заболеваний туберкулезом

в структуре профессиональной патологии органов дыхания в Ленинградской области за изученный период составила 6,5% (в РФ в 2011 г. — 1,7%). Имела место внелегочная локализация, доля которой составила 8,8% от всего профессионального туберкулеза региона.

Возраст больных варьировал от 32 до 74 лет и составил в среднем 51,6 лет. Женщины заболевали в среднем на 8 лет раньше и в 1,76 раз чаще мужчин.

Профессиональные заболевания туберкулезом наблюдались у двух групп работников: у медицинского персонала специализированных противотуберкулезных учреждений (в 63,2% случаях) и у работников предприятий горнодобывающей отрасли (в 36,8% случаях).

У первой группы вредным фактором трудового процесса являлся контакт с больными туберкулезом органов дыхания с активной формой, в том числе с бактериовыделением и множественной лекарственной устойчивостью. У второй группы возникало сочетанное поражение легких на фоне так называемых пылевых заболеваний легких, в частности силикотуберкулез — в условиях работы с превышением предельно допустимой концентрации кремнийсодержащей пыли в воздухе рабочей зоны.

Открытая форма туберкулеза наблюдалась в пять раз чаще у сотрудников медицинских организаций, чем у работников промышленных предприятий.

МЕТОДИКА ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ МУНИЦИПАЛЬНЫХ РАЙОНОВ СУБЪЕКТА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИМ РИСКАМ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ В ОБЛАСТИ ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ЕЕ АПРОБАЦИЯ В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

В.А. Вишняков

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора

В Российской Федерации все большую актуальность приобретают вопросы реагирования системы общественного здравоохранения на потенциальные и фактические риски эпидемического проявления инфекционных болезней, представляющих опасность для населения. В ряде случаев эти заболевания (чума, холера, лихорадка Западного Нила, сибирская язва, туляремия, лептоспироз, инфекции, передаваемые клещами и др.) способны формировать чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения.

Спектр эпидемиологических рисков, создаваемых инфекционными болезнями, представляющими опасность для населения, отличается в разных субъектах Российской Федерации. Поэтому для каждой территории необходимо определять приоритеты профилактических (противоэпидемических) мероприятий, направленных на наиболее актуальные нозологические формы (а также факторы и условия их распространения).

Для решения этой задачи разработана методика дифференциации субъекта РФ на муниципальном уровне, основанная на объективной (балльной) оценке эпидемиологических рисков. Основным результатом дифференциации является выявление в каждом субъекте РФ доминирующих эпидемиологических рисков, то есть наиболее актуальных нозо-

логических форм, а также иных факторов и условий, способных формировать чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения.

Апробация методики дифференциации в Забайкальском крае позволила выявить доминирующие в этом субъекте РФ эпидемиологические риски.

Доминирующие внешние риски обусловлены наличием международных грузопассажирских автомобильных пунктов пропуска в 3 районах, железнодорожных — в 2, автодорог федерального значения — в 9, международного железнодорожного сообщения — в 7 районах и складов временного хранения товаров и грузов — в одном.

Доминирующие внутренние риски определены напряженной эпидемиологической обстановкой по бруцеллезу (6 районов), сибирской язве (1), лептоспирозу (12), клещевому вирусному энцефалиту (24), иксодовым клещевым боррелиозам (20), клещевому риккетсиозу (2) и наличием биологически опасных объектов в Борзинском и Забайкальском районах.

Полученные результаты позволяют научно обосновать приоритетные направления профилактических (противоэпидемических) мероприятий в Забайкальском крае.

ВЛИЯНИЕ СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЙ ЧУМНОГО МИКРОБА В СОЧЕТАНИИ С АДЬОВАНТАМИ НА ЭКСПРЕССИЮ CD25 КЛЕТКАМИ КРОВИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ

В.В. Войткова, В.С. Половинкина, С.А. Витязева, К.М. Корытов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора

Известно, что бактериальная ДНК и мурамилдипептид (МДП) входят в число патоген-ассоциированных молекулярных структур (РАМПС), способных активировать механизмы иммунологической защиты организма, в связи с чем изучение антигенов *Yersinia pestis* в сочетании с адьювантами с целью получения высокоиммуногенных препаратов, обеспечивающих адекватное целенаправленное действие на иммунную систему макроорганизма, является актуальным направлением.

Цель исследования — изучить влияние субклеточных фракций чумного микроба на активацию клеток крови белых мышей.

В качестве объекта исследования служил препарат F1-антиген и клеточные оболочки *Y. pestis* EV НИИЭГ (F1+КО) в дозе 12,5 мкг/0,2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР). В качестве адьювантов использовали синтетический МДП и суммарную ДНК *Y. pestis* EV НИИЭГ (по 10 мкг/0,2 мл ЗФР). Материалом для исследования служила кровь, 150 иммунизированных F1+КО, F1+КО+ДНК и F1+КО+МДП беспородных (18–20 г) белых мышей. Контролем служили белые мыши, получившие ЗФР в объеме 0,2 мл. Учет результатов проводили на 3, 7, 14 и 21 сутки. Субпопуляционный состав клеток крови мышей определяли с использованием моноклональных антител (BD, США) против маркеров CD45, CD3, CD4, CD25. Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II.

Показано, что F1+КО, F1+КО+МДП и F1+КО+ДНК стимулируют экспрессию раннего маркера активации (CD25) моноцитами и лимфоцитами

($p < 0,01$). Увеличение активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺) в большей степени отмечалось у мышей, иммунизированных F1+КО+ДНК и F1+КО. Обращает на себя внимание, что F1+КО и F1+КО+ДНК активируют Т- и В-лимфоциты к 3 суткам ($p < 0,05$). В случае препарата F1+КО+МДП достоверное повышение количества CD3⁺CD25⁺ клеток зарегистрировано на 14 сутки.

Таким образом, препараты F1+КО, F1+КО+МДП и F1+КО+ДНК обладают выраженной иммуногенной активностью. Повышение содержания CD3⁺CD25⁺ лимфоцитов в ходе антигенной стимуляции свидетельствует о включении клеточного иммунного ответа и подтверждает способность субклеточных фракций чумного микроба как *per se*, так и в сочетании с МДП и ДНК активировать врожденный иммунитет и стимулировать формирование адаптивного иммунного ответа организма.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РОТАВИРУСНОЙ, НОРОВИРУСНОЙ И АСТРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЙ НА ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

В.А. Глушкевич¹, А.Н. Афанасьева², Л.В. Лялина³

¹ Управление Роспотребнадзора по Новгородской области, г. Великий Новгород

² Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург

³ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В последние годы отмечается значительный рост заболеваемости гастроэнтеритами вирусной этиологии. Актуальность проблемы острых кишечных инфекций (ОКИ), обусловленных вирусами, определяется их широким распространением, высокой заболеваемостью и значительным социально-экономическим ущербом.

На территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО) уровень заболеваемости ротавирусной инфекцией (РВИ) в 2001–2012 гг. увеличился в 3,5 раза среди всего населения и 3,8 раза среди детей до 17 лет, что в первую очередь связано с улучшением лабораторной диагностики ОКИ. В 2012 г. показатели заболеваемости в СЗФО, Санкт-Петербурге и Новгородской области составили 105,7, 102,0 и 106,9 на 100 тыс. населения соответственно. Возрастными группами риска являются дети раннего возраста, в Новгородской области в структуре заболеваемости РВИ доля детей до 2-х лет в 2012 г. достигла 67,4%. Показатель заболеваемости детей в возрасте до 1 года в Санкт-Петербурге составил 2073,9 на 100 тыс.

Ежегодно отмечается увеличение числа зарегистрированных случаев норовирусной инфекции: в 2009 г. в СЗФО показатель заболеваемости был 3,6 на 100 тысяч населения, в 2012 г. — 15,2. В Санкт-Петербурге регистрируются в основном спорадические случаи заболевания инфекцией, вызванной вирусом Норволк, показатель в 2012 г. — 18,2 на 100 тыс. В Новгородской области заболеваемость преимущественно связана с формированием эпидемических очагов. В 2010–2013 гг. в области зарегистрировано 199 случаев этой инфекции, из них 61,8% связаны с групповыми заболеваниями. На территориях СЗФО для ротавирусной и норовирусной инфекций характерна зимне-весенняя сезонность.

В последние годы на ряде территорий СЗФО осуществляется диагностика астровирусной инфекции. В Новгородской области в 2011–2013 гг. выявлено 34 случая этой инфекции. Доля детей в возрасте до 1 года составила 29,4%, детей более старшего возраста — 47,1% и 23,5% — взрослые в возрасте от 20 до 90 лет. Актуальными задачами в отношении трех инфекций являются изучение причин заболеваемости населения и развитие системы эпидемиологического надзора за астровирусной инфекцией.

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ШТАММОВ ВИРУСА ВОЗБУДИТЕЛЯ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА С ЦЕЛЬЮ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.В. Глущенко^{1,2}, К.А. Юрченко^{1,2}, Н.В. Губанова², А.М. Шестопапов¹

¹ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, г. Новосибирск

² Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН) вызывает одно из самых опасных заболеваний птиц. Естественным резервуаром болезни Ньюкасла являются дикие перелетные птицы, распространяющие вирус болезни Ньюкасла на значительные расстояния. ВБН считается условно патогенным для человека, так как может вызвать конъюнктивит, в редких случаях — легкую форму лихорадки. При этом показано, что некоторые штаммы ВБН способны проявлять выраженный онколитический потенциал в отношении опухолевых клеток человека на моделях *in vitro* и *in vivo*. На сегодняшний день разработаны разные схемы использования ВБН для лечения опухолей, в которых вирус выступает в качестве индуктора иммунного ответа или агента, вызывающего вирусный онколизис. Для этой цели в основном используют вакцинные штаммы ВБН: Ла-Сота, МТН-68 и др., которые обладают слабыми онколитическими свойствами.

В настоящее время для изучения онколитических свойств и разработки противоопухолевых препаратов все больше используются изоляты вируса болезни Ньюкасла выделенные от диких и домашних птиц.

Целью нашей работы явилось создание коллекции вирусов болезни Ньюкасла, выделенных от диких птиц, и изучение их онколитического потенциала. В ходе нашей работы было собрано 4678 образцов от 16 видов диких птиц. Из образцов было выделено 65 штаммов ВБН и изучены их основные вирусологические и молекулярно-биологические свойства. Результаты исследования показали, что на территории Западной Сибири и Дальнего Востока у диких птиц циркулирует генотип 7 генетического класса 2 вируса болезни Ньюкасла. Данный генотип является эндемичным для юго-восточной Азии и южной Африки, наиболее близкие штаммы были ранее выделены на территории юго-восточной Азии.

Изучение онколитических свойств выделенных вирусов болезни Ньюкасла показали что вирусы, задепонированные нами как штаммы NDV/Yakutia/mallard/852/2011 и NDV/Altai/pigeon/770/2011, способны лизировать опухолевые линии клеток человека различного гистогенеза. Таким образом, нами создана коллекция вирусов болезни Ньюкасла ис-

пользование которой позволит разработать препараты для лечения онкологических заболеваний.

Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ 14-04-01196.

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ

Е.М. Гордина

ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам является одним из важнейшим фенотипических критериев оценки близости различных штаммов одного вида. Проведено сравнение чувствительности стафилококков, выделенных из различных источников (от сотрудников птицефабрики и птиц), к основным антибактериальным препаратам в соответствии с МУК (2004). В результате бактериологического обследования 47 сотрудников (смывов с рук, слизистых носа и зева) и более 220 проб патологического материала птиц изолировано 103 культуры бактерий рода *Staphylococcus*. Выделенные культуры характеризовались значительным видовым разнообразием. 28 видов было выделено от птиц и 13 от сотрудников. *S. aureus* и *S. gallinarum* преобладали в том и другом случае. Носительство *S. aureus* среди сотрудников составило $4,7 \pm 0,69\%$.

Методом стандартных дисков изучена чувствительность к антибиотикам 27 культур *S. aureus* и 29 культур *S. gallinarum*. Независимо от источника выделения все культуры *S. aureus* обладали чувствительностью к оксациллину, ампициллину и амикацину. В то же время, если все штаммы *S. aureus*, изолированные от сотрудников, были чувствительны к левофлоксацину, то $10 \pm 0,54\%$ штаммов птиц были к нему резистентны. Аналогичная закономерность была выявлена в отношении чувствительности и к доксициклину. Отмечена высокая резистентность изучаемых штаммов стафилококков к линкомицину ($90 \pm 4,87$ и $40 \pm 3,27\%$ штаммов, выделенных от птиц и сотрудников соответственно). Что касается штаммов *S. gallinarum*, то все они были чувствительны к амикацину и ампициллину. Изучаемые культуры, также как и штаммы *S. aureus*, в значительном проценте случаев были устойчивы к линкомицину ($90 \pm 4,87\%$ штаммов, выделенных от птиц и $86 \pm 7,02$ — от сотрудников). Обращает на себя внимание высокая резистентность штаммов *S. gallinarum* к оксациллину — $60 \pm 5,4\%$ штаммов, выделенных от птиц и $40 \pm 3,27\%$ — от сотрудников.

При суммировании полученных результатов выявлены различия в антибиотикочувствительности изучаемых штаммов, изолированных из различных источников. В то же время при анализе и сопоставлении антибиотикочувствительности отдельных штаммов, изолированных от птиц и людей, выявлено в значительной степени их сходство. Так, почти 70% штаммов *S. aureus* от сотрудников по своей антибиотикограмме соответствовали штаммам птиц. Аналогичные данные получены при сравнении штаммов *S. gallinarum*. Следовательно, наряду с «собственными» штаммами стафилококков, происходит и обмен микроорганизмами между птицами и сотрудниками птицефабрик.

О ЗАДАЧНИКЕ ПО РАЗВИТИЮ СИСТЕМЫ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ПОДДЕРЖКИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Е.М. Грицюк¹, С.Л. Гольдштейн²

¹ ГБУЗ СО ДКБВЛ НПЦ «Бонум», г. Екатеринбург

² ФАГОУ ВПО Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург

Система противоэпидемической поддержки деятельности медицинской организации нуждается в перманентном развитии в связи с усложнением ситуации из-за отставания нормативной базы, непрерывного реинжиниринга, слабой компьютеризации и отсутствия системно-интеграционного подхода для когнитивной поддержки работы клинического эпидемиолога.

Такого рода проблемы и запросы порождают рыхлый и несистемный «поток» лозунгов, призывов, пожеланий, требований и т.п. Необходимо применение метода системного целеполагания, реализуемого по цепочке: лозунги — проблематика — проблемы — глобальная цель — локальные цели — задачи. Решение сложных задач требует нестандартного мышления, поскольку касается сложных объектов системы противоэпидемической поддержки. Поэтому актуален вопрос о создании генератора задач, для формулировки и систематизации этого «потока», а также соответствующего «задачника» для их сбора, хранения, ранжирования по важности и срочности, с целью последующего решения в плане парирования эпидемических рисков, нарастающих при усложнении ситуации.

Структура задачника представляет собой информационный гиперкуб с тремя осями: объекты системы противоэпидемической поддержки, их состояние и позиция на рынке. Под объектами предлагается понимать собственно технологии противоэпидемической поддержки, их логистику, управление, информационные технологии и системную интеграцию по основным этапам жизненного цикла (создание, функционирование, поддержка функционирования, развитие, замена).

Для этих объектов предлагается оценить их состояние и позицию в средах: макро — внешний мир, мезо — ближайшее окружение, мини — медицинская организация, микро — система противоэпидемической поддержки. Главная цель задачника — служить интеллектуально-информационным компьютерным хранилищем и источником актуальных и системно сформулированных задач, ориентированных на улучшение состояния системы противоэпидемической поддержки.

При компьютерной реализации задачника пользователями могут быть специалисты эпидемиологического профиля (заместитель руководителя по эпидемиологическим вопросам, заведующий эпидемиологическим отделом, врач-эпидемиолог, помощник эпидемиолога). Воспользовавшись системой поиска по ключевым словам, либо следуя интерфейсу программного средства, они найдут четко сформулированную задачу для последующего ее разрешения.

О «РЕШАТЕЛЕ» СЛОЖНЫХ ЗАДАЧ КЛИНИЧЕСКОГО ЭПИДЕМИОЛОГА

Е.М. Грицюк¹, С.Л. Гольдштейн²

¹ ГБУЗ СО ДКБВЛ НПЦ «Бонум», г. Екатеринбург

² ФАГОУ ВПО Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург

Одной из важных проблем развития службы противоэпидемической поддержки деятельности медицинской организации можно считать постоянную

потребность клинического эпидемиолога в решении сложных организационных задач. От того, насколько правильно они сформулированы, напрямую зависит эффективность мероприятий, обеспечивающих инфекционную безопасность. Относительно службы противоэпидемической поддержки задачи можно разделить на три основных направления: совершенствование нормативно-методической базы, парирование роста рисков при реинжиниринге, ускорение и качественное улучшение процесса компьютеризации деятельности клинического эпидемиолога. Сложность задач повышается при сочетании этих проблем, количественной или качественной недостаточности ресурсов, в том числе времени, и при ухудшении общей эпидемической обстановки в регионе, стране, мире.

Однако только одни задачи не дают ответ на вопросы зачем, что и как надо делать. Для этого предлагается механизм, помогающий составить четкие и ясные алгоритмы по их решению. Работа с таким «решателем» осуществляется следующим образом: при использовании блока целеполагания собирают информацию о проблемной ситуации и проводят литературно-аналитический обзор, блок прототипирования нужен для формирования и хранения научных и корпоративных прототипов, следующий блок помогает выдвинуть гипотезы о их развитии, затем последовательно подключают блоки моделирования, проектирования, реализации проекта и оценки результатов. Таким образом на выходе можно получить пакет алгоритмов решения сложной задачи и оценок работы «решателя».

Структура «решателя» представляет собой информационный гиперкуб с осями: x — средства для решения, y — состояние этих средств (когнитивных и материальных: помещения, оборудование, сотрудники и др.), z — уровень охвата среды воплощения решений: макро — внешний мир, мезо — ближайшее окружение, мини — медицинская организация, микро — система противоэпидемической поддержки, задействованной в данной проблеме.

Так же как и в случае с задачником целесообразна компьютерная реализация «решателя» для использования с целью разрешения сложных задач в плане противоэпидемической поддержки деятельности медицинской организации.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК ВИРУСА БЕШЕНСТВА (RABIES VIRUS) МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР) В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ «АМПЛИСЕНС® RABV-FL»

А.А. Девяткин¹, М.В. Бекова¹, В.Г. Дедков¹, Е.М. Полещук², Г.А. Шипулин¹

¹ ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

² ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора

Бешенство — особо опасная вирусная природно-очаговая инфекция из группы зоонозов. Болезнь протекает в форме энцефаломиелита и при отсутствии специфической вакцинопрофилактики всегда заканчивается летальным исходом.

Для повышения эффективности надзорных мероприятий и совершенствования подходов к выявлению бешенства целесообразно применять метод ПЦР в реальном времени. Благодаря высокой чув-

ствительности, специфичности, малым временным затратам этот подход со временем приобретает приоритетный статус в молекулярной диагностике.

Цель работы: разработка набора реагентов для выявления РНК вируса бешенства методом ПЦР в режиме реального времени.

В качестве целевой последовательности при разработке набора реагентов выбрали фрагмент консервативного N-гена, кодирующего нуклеопротеин и являющегося наиболее активно продуцируемым во время инфекционного процесса транскриптом. Дизайн праймеров и зонда проводили на основании выравнивания нуклеотидных последовательностей вирусов бешенства классического вида, выявленных на территории РФ.

Для валидации результатов в комплектацию набора входят постадийные рекомбинантные положительные контрольные образцы.

Аналитическая чувствительность набора реагентов «АмплиСенс® RABV-FL» составила 5×10^3 копий/мл. Оценку аналитической специфичности набора реагентов проводили на разных семействах вирусов (*Bunyaviridae*, *Reoviridae*, *Togaviridae*, *Picornaviridae* и др.), мозговой ткани мыши, кошки, собаки, человека. Аналитическая специфичность составила 100%.

Диагностическая чувствительность набора реагентов «АмплиСенс® RABV-FL» составляет 100%; пороговое значение — $0,1 LD_{50}$, что в 10 раз ниже порога диагностической чувствительности метода биопробы на мышах при интрацеребральном заражении с последующим подтверждением МФА.

Данный диагностический набор можно применять на наиболее распространенных в России детектирующих амплификаторах.

Разработанный нами набор реагентов «АмплиСенс® RABV-FL» для выявления РНК вируса бешенства в биологическом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени пригоден для использования в клинической лабораторной диагностике.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕРОЗНЫХ МЕНИНГИТОВ В г. НОВОСИБИРСКЕ

А.В. Демина¹, Т.Г. Бурмистрова², А.А. Мечетина², В.А. Терновой¹

¹ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» МЗ РФ, п. Кальцово, Новосибирская область

²МБУЗ Городская инфекционная клиническая больница № 1, г. Новосибирск

Ежегодно в МБУЗ г. Новосибирска ГИКБ № 1 поступает значительное число больных с различными нейроинфекциями. Доминирующей клинической формой заболевания у данных пациентов является серозный менингит (СМ). Для назначения адекватного этиотропного лечения и противоэпидемических мероприятий требуется проведение дифференциальной диагностики возбудителей СМ.

Цель работы: молекулярно-эпидемиологическое исследование возбудителей заболевания у пациентов с диагнозом «серозный менингит» в г. Новосибирске.

Материалы и методы. Исследованы образцы спинномозговой жидкости от 199 пациентов с диагнозом СМ, основанным на клинической картине заболевания, а также лабораторном исследовании

спинномозговой жидкости. Клинический материал был собран в ГИКБ № 1 с мая 2011 г. по сентябрь 2012 г. Возраст пациентов был от 14 до 60 лет. Все образцы были исследованы на наличие *Enterovirus*, *Flavivirus*, *M. tuberculosis*, *Borrelia* spp., *Neisseria* spp. наборами «Ампли-Сенс» (ЦНИИЭ, Россия). Дополнительно образцы были исследованы на *Enterovirus* методом ПЦР с праймерами для генотипирования на 5'UTR и VP1 регионы (Демина А.В., 2012).

Результаты. По данным проведенного исследования подъем заболеваемости СМ наблюдался с мая по ноябрь ежегодно с пиками в июне и сентябре. Болели в основном лица до 50 лет, независимо от пола. Было показано, что в клинических образцах генетический материал *M. tuberculosis*, *Neisseria* spp. отсутствует. В 46% исследованных образцов выявлено РНК Tick-borne encephalitis, в 4,3% образцов — ДНК *Borrelia* spp., в 4,3% — микст-инфекция Tick-borne encephalitis и *Enterovirus*. В 26% образцов была обнаружена РНК *Enterovirus*. В положительных образцах по нуклеотидным последовательностям были идентифицированы ЕСНО 30 (62%); а также Cox A2 (8%), Cox A4 (5%), Cox A14 (3%), Cox A16 (5%), Cox B5 (8%), ЕСНО 6 (3%), ЕСНО 9 (3%), ЕСНО 25 (3%). Тем не менее, в 19,4% случаев этиология СМ осталась неуточненной.

Заключение. Таким образом, г. Новосибирск находится в эндемичном районе по заболеваемости клещевыми инфекциями, что подтверждено данным исследованием. В то же время установлено, что эпидемические сезоны клещевых и энтеровирусной инфекций в г. Новосибирске совпадают.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ MALDI-BIOTYPER В КОЛЛЕКЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФБУН ГНЦ ПМБ

К.В. Детушев, Л.А. Кадникова, Т.Н. Мухина, А.Г. Богун
ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Ростребнадзора, п. Оболensk, Московская область

Масс-спектрометрический анализ (МС-анализ) является аналитической процедурой, физическим методом исследования, в процессе которого осуществляется измерение отношения массы заряженных частиц материи (ионов) к их заряду. Полученный результат — спектральный сигнал — представляет собой рассортировку заряженных частиц по значению отношения молекулярной массы иона к его заряду.

Использование в качестве исследуемого образца чистой культуры микроорганизма или его белкового экстракта позволяет получить спектр, характеризующий качественный молекулярный состав исследуемого объекта, что в свою очередь позволяет идентифицировать микроорганизм до вида, а в некоторых случаях возможно осуществить и внутривидовую дифференциацию или определить дополнительные свойства микроорганизма, в том числе и клинически значимые.

В ГНЦ ПМБ используется система MALDI-Biotyper, построенная на базе времяпролетного масс-спектрометра Microflex™, позволяющая определить видовую принадлежность микроорганизмов. В коллекционном фонде ГКПМ-Оболensk депонировано более 10 000 штаммов, принадлежащих к возбудителям бактериальных инфекций I–IV групп патогенности. Однако в базе данных, предоставляемой с системой MALDI-Biotyper информация о белковых

масс-спектрах возбудителей инфекционных заболеваний I–II групп патогенности отсутствует. В связи с этим, нами была поставлена задача дополнить существующую базу информацией о масс-спектрах *Yersinia pestis*, *Bacillus anthracis*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Brucella* spp., *Vibrio cholerae* и *Francisella tularensis*.

В процессе работы база масс-спектров MALDI-Biotyper была дополнена референсными спектрами микроорганизмов, являющихся возбудителями особо опасных инфекций бактериальной природы. За период использования система MALDI-Biotyper было исследовано более 50 000 проб. Результаты исследований внесены в паспорта штаммов микроорганизмов, хранящихся в ГКПМ-Оболенск.

ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ У ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* РЕЗИСТЕНТНЫХ К ТРИКЛОЗАНУ

Е.В. Дегушева, В.В. Родин, П.В. Слуккин, В.А. Чугунов,
Е.Н. Кобзев

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Ростребнадзора, п. Оболенск, Московская область

В настоящее время серьезную обеспокоенность вызывает рост множественной лекарственной устойчивости патогенных микроорганизмов, который по признанию специалистов, фактически приводит к несостоятельности попыток лечения инфекционных болезней. Также все большее количество публикаций указывают, что использование в быту и медицинской практике биоцидов (антисептиков, консервантов и дезинфектантов) может способствовать появлению резистентных к биоцидам микроорганизмов, которые при этом могут приобретать повышенную устойчивость и к антибиотикам.

Антисептическое средство триклозан (ТР) широко используется в качестве антимикробного ингредиента при изготовлении зубных паст, мыла, шампуней, косметики и дезинфицирующих растворов. Однако установлено, что у ряда грамотрицательных бактерий, очень быстро формируется высокий уровень устойчивости к ТР, при этом микроорганизмы, ставшие устойчивыми к ТР, одновременно становятся более устойчивыми к антибиотикам.

Целью данной работы являлось изучение процесса формирования устойчивости к триклозану у *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Адаптацию *S. aureus* к ТР проводили в двух повторностях (СК1 и СК2) путем пересева исходных тест-культур в бульоне по возрастающему градиенту концентраций ТР в течение 40 суток. В результате обе тест-культуры сформировали чрезвычайно высокую устойчивость к ТР. Так устойчивость к ТР у СК1 возросла в 128 и у СК2 — в 493 раза.

Проверку устойчивости к антибиотикам резистентных к ТР штаммов проводили дискосифтронным методом. Вопреки нашим ожиданиям она показала, что субкультуры СК1 и СК2 стали не устойчивее, а значительно более чувствительны к антибиотикам. При этом уровень чувствительности у субкультур несколько различался:

- чувствительность СК1 к амикацину увеличилась на 83%, в то время как у СК2 лишь на 35%;
- чувствительность СК1 к миноциклину увеличилась на 27%, в то время как у СК2 она достигла 70%;

- чувствительность к ампициллину и нетиллину у обеих тест-культур увеличилась более чем на 70%;

- чувствительность субкультур к ломефлоксацину, хлорамфениколу и цефтазидиму осталась на уровне контроля;

- чувствительность к меропенему у СК1 не изменилась, однако у СК2 она увеличилась на 35%.

Таким образом, проведенные исследования показали, что *S. aureus* способен достаточно быстро и эффективно адаптироваться к ТР. При этом, в отличие от грамотрицательных бактерий, данный микроорганизм становится более чувствителен к антибиотикам. Это, на наш взгляд, позволяет предложить использование ТР не только для непосредственной антисептической обработки, но и для повышения эффективности антибиотикотерапии.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА МЕЖДУ ШТАММАМИ, ЦИРКУЛИРУЮЩИМИ В УРОЛОГИЧЕСКИХ СТАЦИОНАРАХ, С УЧАСТИЕМ БАКТЕРИОФАГОВ

А.А. Долгий, Л.П. Зуева, Б.И. Асланов

Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Как показали наши наблюдения, в урологических стационарах, наряду с циркуляцией госпитальных штаммов возбудителей инфекций мочевыводящих путей (ИМП), происходит довольно интенсивная циркуляция их видовых бактериофагов. При этом среди обнаруженных в урологическом стационаре бактериофагов значительно чаще встречались умеренные, способные к осуществлению горизонтального генетического обмена между возбудителями ИМП. Известно, что приобретение штаммами возбудителей инфекционных заболеваний фагоопосредованных генов может способствовать формированию их патогенных свойств.

Среди штаммов *E. coli* и энтерококков, выделенных от пациентов урологических стационаров в динамике, в нескольких случаях был выявлен генетический обмен небольшими участками генома (без изменения RAPD-генотипа), содержащими профаговые гены вирулентности *c2418*, *yopX*, *gp2*.

Для оценки возможности передачи фагоопосредованных генов вирулентности бактериофагами был проведен лизогенный эксперимент *in vitro*. В качестве фактора индукции лизогенных штаммов применялись сублетальные дозы ципрофлоксацина. В качестве элективного фактора, исключающего влияние на генетический обмен других мобильных генетических элементов, использовались ДНКазы и РНКазы.

Всего тестировались 30 штаммов доноров *E. coli* для индикаторных культур реципиентов. Среди исследованных культур реципиентов *E. coli* передачу гена *c2418* от доноров удалось осуществить в 23 (76,7%) случаях, только передачу гена *cdt1* не удалось осуществить.

Всего тестировались 36 штаммов доноров энтерококков для индикаторных культур реципиентов. Среди исследованных культур реципиентов энтерококков передачу гена *gp2* от доноров удалось осуществить в 5 (13,9%) случаях. Передачу генов *yopX*, *pblA* и *pblB* осуществить не удалось.

Таким образом, в ходе постановки лизогенного эксперимента были выявлены высокая способность к распространению в популяции *E. coli* гена *c2418* и умеренная способность к распространению генов *uorX* и *gp2* у энтерококков при помощи бактериофагов. Этот процесс способствует формированию госпитальных штаммов в условиях урологического стационара.

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТАЦЕРКАРИЙ *NANOPHYETUS SALMINCOLA SCHIKHOBALOWI* У ЛОСОСЕОБРАЗНЫХ РЫБ ИЗ ВОДОЕМОВ ХАБАРОВСКОГО КРАЯ

А.Г. Драгомерецкая

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии
Роспотребнадзора

На территории Хабаровского края функционируют очаги нанофиедоза — эндемичного для Приамурья кишечного трематодоза человека и животных. Фактором передачи возбудителя нанофиедоза (*Nanophyetus salmincola schikhobalowi*) окончательным хозяевам являются лососеобразные рыбы.

В связи с тем, что использование существующих общепринятых методик не позволяет получить достоверные данные об интенсивности инвазии метацеркариями нанофиедоза ввиду особенностей локализации личинок в теле лососеобразных рыб, становится актуальным вопрос о разработке нового метода определения интенсивности инвазии.

Материалы и методы. Отлов рыбы производился в горных притоках реки Амур — реках Хор, Анюй и Маном. Всего было исследовано 494 особи рыб 4 видов (хариус нижеамурский, таймень сибирский, ленок тупорылый, ленок острорылый).

Компрессорным методом и методом переваривания в искусственном желудочном соке исследовали мышечную ткань, почки, печень и жабры. В каждой пробе производили подсчет обнаруженных метацеркарий, затем определяли интенсивность инвазии (ИИ) исследуемой особи, после чего определяли процентное соотношение распределения метацеркарий в пробе к общему количеству личинок в рыбе.

Результаты и обсуждение. У особей промыслового размера более 80% личинок содержалось в почках и мышцах плавников. Такое распределение метацеркарий не позволяет пользоваться общепринятой методикой (подсчет личинок в вырезке из средней трети спины рыбы) для определения ИИ лососеобразных рыб метацеркариями нанофиедоза.

В среднем, 51% от всех метацеркарий, обнаруженных в рыбе, содержался в почках. Поэтому считаем возможным для приблизительного определения интенсивности инвазии у лососеобразных рыб промыслового размера использовать формулу:

$$ИИ = 2n,$$

где ИИ — интенсивность инвазии, n — число метацеркарий, обнаруженных в почках.

Использование данного метода позволит уменьшить трудоемкость и сократить время исследования.

Таким образом, локализация 51% метацеркарий паразита в почках делает возможным использование упрощенного метода определения интенсивности инвазии, который позволяет получить достоверные показатели и значительно упрощает процесс определения.

ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Т.С. Дрозденко^{1,2}, С.М. Харит¹, И.Ф. Довгалюк²

¹ФГБУ НИИ детских инфекций, Санкт-Петербург

²ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ

Введение. Сопутствующая инфекционная патология способствует снижению неспецифической реактивности организма и влияет на уровень специфической, создавая неблагоприятный фон в преодолении туберкулезной инфекции. Создание специфического иммунитета против часто встречающихся в детском возрасте инфекционных заболеваний может быть методом лечения не только у детей с латентной туберкулезной инфекцией, но и у пациентов с туберкулезом органов дыхания.

Цель исследования — оценить клинико-иммунологическую безопасность вакцинации Пневмо23 у детей с туберкулезом органов дыхания.

Материалы и методы. Перед иммунизацией все дети были разделены на группы: 1 группа ($n = 24$) — инфицированные МБТ, 2 группа ($n = 11$) — пациенты с туберкулезом органов дыхания. Прививку проводили при положительной динамике туберкулезной инфекции на фоне специфического лечения (не ранее 4-х месяцев от начала лечения). До прививки, на 14-й и 45-й дни после определяли субпопуляции лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD25^+$, $CD95^+$) в реакции микролимфоцитотоксичности, реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) с фитогемагглютинином, спонтанную РБТЛ, общий пул ЦИК, уровень цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-6, IFN γ , TNF α в сыворотке крови методом ИФА; содержание IgA, IgM, IgG турбодиметрическим методом, IgE методом твердофазного ИФА.

Результаты. Частота развития вакцинальных реакций в обеих группах не отличалась и не превышала указанной в инструкциях к вакцинам. Ни у одного ребенка не было отмечено ухудшения течения туберкулезной инфекции. В поствакцинальном периоде статистически значимых изменений в субпопуляции лимфоцитов не наблюдалось в обеих группах. Отмечалось увеличение уровня IgG к 14 дню. Выявлено снижение исходно высокого уровня IL-1 и IFN γ к 14–45 дню. В 1 группе уровень IFN γ снизился с 125,3 до 20,0 пг/мл, во 2 группе — с 65,7 до 3,7 пг/мл. Уровень IL-1 в сыворотке изменялся только во 2 группе с 282 до 27 пг/мл. Изменение концентрации цитокинов в сыворотке крови в поствакцинальном периоде закономерно и является индикатором функциональной активности гуморального звена.

Выводы. Полученные данные подтверждают безопасность иммунизации полисахаридной пневмококковой вакциной детей как инфицированных МБТ, так и с туберкулезом органов дыхания.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХОЛЕРЫ

В.В. Евдокимова, О.Ф. Кретенчук, Л.П. Алексеева

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт
Роспотребнадзора

В лабораторной диагностике холеры широко используются экспресс-методы — слайд-агглютинация и иммунофлуоресценция, для постановки которых применяются коммерческие лошадиные сыворотки,

отличающиеся невысоким содержанием специфических иммуноглобулинов и наличием перекрестной активности.

В настоящее время в лаборатории гибридом института сконструированы и широко апробированы диагностические препараты на основе видоспецифических моноклональных антител (МКА), которые позволяют выявлять холерные вибрионы O1 и O139 серогрупп в реакциях слайд-агглютинации и прямой иммунофлуоресценции. Сравнительные исследования с аналогичными поликлональными препаратами показали, что моноклональные диагностикумы не уступают им по чувствительности, но превосходят по специфичности, и подтверждение тому — отсутствие перекрестных реакций с близкородственными и гетерологичными микробами.

В настоящее время в России не существует коммерчески доступных иммуноферментных микропланшетных наборов для выявления холерного вибриона. Нами проведены работы по конструированию моноклональных пероксидазных конъюгатов для детекции *V. cholerae* O1 и O139 (при наличии в пробе 10^5 – 10^6 м.к.) в прямом варианте планшетного ИФА и ДИА (дот-иммуноанализе), постановка которых занимает 1,5–2 ч. Высокая специфичность конъюгатов подтверждена при испытании их на наборе штаммов холерных вибрионов O1, O139 серогрупп и представителях близкородственных и гетерологичных микроорганизмов. Совместно с ГНЦ ПМБ (г. Оболensk) разработана моноклональная иммунохроматографическая тест-система (чувствительность — 108 м.к.) для выявления в течение 15 мин *V. cholerae* O1, при лабораторных испытаниях которой установлена строгая специфичность в отношении вибрионов O1 серогруппы. Набор высокоспецифичных препаратов будет расширен за счет Инаба- и Огава-специфических МКА, получение которых осуществляется в настоящее время для конструирования серовароспецифических диагностикумов.

Таким образом, на сегодняшний день Ростовский противочумный институт подготовил набор высокоспецифичных препаратов, которые проходят государственную регистрацию для последующего внедрения их в практику здравоохранения с целью совершенствования лабораторной диагностики холеры и повышения достоверности серологического анализа.

ПОПУЛЯЦИИ В-КЛЕТОК ПАМЯТИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С

Д.С. Елезов¹, Н.А. Арсентьева¹, И.В. Кудрявцев², А.В. Семенов¹, Арег А. Тоголян¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

²ФГУН НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

В-клетки могут быть разделены на 5 субпопуляций на основании экспрессии молекул CD38 и CD27: транзиторные клетки (CD38^{bright}CD27⁻), наивные зрелые клетки (CD38⁺CD27⁻), покоящиеся клетки памяти (CD38⁻CD27⁺), активированные зрелые клетки (CD27⁺CD38⁺) и дубль-негативные клетки (CD38⁻CD27⁻). Исследование данных субпопуляций может помочь в понимании иммунопатогенеза и формирования иммунологической памяти при хроническом вирусном гепатите С.

Цель работы. Оценка количественного изменения субпопуляций В-клеток периферической крови больных хроническим вирусным гепатитом С.

Материалы и методы. Объектом исследования служила венозная кровь 29 больных хроническим вирусным гепатитом С, ранее не проходивших лечение, и 27 практически здоровых лиц. Измерение количества клеток в популяциях проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием прибора Navios (Beckman Coulter, США). Для окрашивания лимфоцитов использовали следующие меченные флюорохромами моноклональные антитела: CD38-PE, CD27-PC7, CXCR3-APC, CD19-AF700, CD45-AF750. Переменные сравнивали, используя непараметрический тест Манна–Уитни.

Результаты. Относительное количество транзиторных В-клеток было снижено в 2 раза по медиане ($p < 0,001$) в сравнении с группой контроля и составило 2,7% от CD19⁺ клеток, а относительное количество наивных зрелых клеток — в 1,1 раза ($p = 0,025$) и составило 54,8%. Относительное количество дубль-негативных клеток было повышено в 1,3 раза ($p = 0,034$), медиана равнялась 10,4% от CD19⁺ клеток. Не было выявлено достоверных различий в количестве покоящихся В-клеток памяти и активированных зрелых В-клеток, медианы составили 13,2% и 14,1% соответственно.

Выводы. Выявлено относительное уменьшение менее дифференцированных субпопуляций В-клеток — транзиторных и наивных зрелых клеток с достоверным увеличением только дубль-негативной субпопуляции. Таким образом, полученные данные подтверждают, что при хроническом вирусном гепатите С не происходит значительной активации и дифференцировки В-клеток.

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВИРУСАМ СЕМЕЙСТВА *HERPESVIRIDAE*, ХЛАМИДИЯМ И ТОКСОПЛАЗМАМ У ДЕТЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2013 г.

К.Д. Ермоленко, Л.Б. Куляшова, А.В. Закревская
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

На сегодняшний день отмечается повсеместная значительная распространенность вирусов семейства *Herpesviridae* во всех возрастных группах населения. На стабильно высоком уровне находится инфицированность хламидиями и токсоплазмами. Отсутствие точной информации о серопозитивности к данным возбудителям среди детей затрудняет точное прогнозирование развития эпидемического процесса, а также возможное установление наиболее актуальных путей передачи этих заболеваний.

Целью работы явилось изучение частоты выявления антител ко всем вирусам семейства *Herpesviridae* кроме вируса герпеса 7 типа, а также хламидиям и токсоплазмам среди детей в Санкт-Петербурге.

В период с марта по сентябрь 2013 г. было проведено исследование крови 102 детей. Всего было обследовано 63 ребенка мужского и 49 детей женского пола. В исследование включались дети в возрасте от 2 месяцев до 17 лет, не имевшие клинических проявлений герпетических инфекций.

Методом иммуноферментного анализа у всех детей определялись противовирусные IgG к ВПГ 1/2 типа, а также типоспецифические IgG к ВПГ 1 и ВПГ 2 от-

дельно. Помимо этого, выявлялись антитела к ВГЧ 3, ЦМВ, ЭБВ, ВГЧ 6 и ВГЧ 8, а также хламидиям и токсоплазмам.

Наиболее высокий средний уровень серопозитивности среди детей отмечался по отношению к ВГЧ 6 (79%), ЦМВ (56%), ЭБВ (55%) и ВГЧ 3 (44%). Антитела к ВГ 8 типа не были выявлены ни у одного ребенка. Антитела к токсоплазмам и хламидиям определились у 8,8 и 7,8% детей соответственно. IgG к ВПГ 1/2 обнаруживались в 29,4% случаев. В подавляющем количестве случаев выявлялись антитела к ВПГ 1 (28,4%). Серопозитивными к ВПГ 2 были только 1,96% детей, причем у этих лиц одновременно выявлялись и антитела ВПГ 1.

Стоит также отметить, что по сравнению с данными, полученными в предшествующих исследованиях за период с 2006 по 2012 гг., отмечается резкий рост серопозитивности по отношению к ВГЧ 6 (на 31,6%) и ЦМВ (11,3%), в то время как частота выявления антител к ВПГ 1/2 снизилась на 8,7%.

Таким образом, на настоящий момент отмечается высокая частота выявления антител к герпесвирусам хламидиям и токсоплазмам. Отмечается повышение серопозитивности по отношению к ЦМВ и ВГЧ 6. Все это требует пристального внимания врачей по отношению к проблеме диагностики и лечения ГВИ.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

А.В. Ершова, О.В. Бердюгина

*ФГБУ Уральский НИИ физиопульмонологии МЗ РФ,
г. Екатеринбург*

Поиск способа совершенствования диагностики и повышения эффективности лечения больных туберкулезом сохраняет свою актуальность. В формировании и течении туберкулезного процесса важную роль играет и наличие патогенного штамма микобактерий, и иммунологическая реактивность организма.

Нами оценена фагоцитарная активность лейкоцитов крови у 93 больных различными формами туберкулеза легких, а именно: у больных с туберкулемами ($n = 25$), инфильтративным туберкулезом ($n = 23$), инфильтративным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью, МЛУ ($n = 26$), фиброзно-кавернозным туберкулезом, ФКТ ($n = 19$). Контрольная группа — 25 здоровых человек. Для исследования использованы наборы PHAGOTEST и BURSTTEST (GLYCOTOPE Biotechnology, Германия).

Абсолютное число моноцитов, способных к фагоцитозу, достоверно не отличалось во всех пяти исследуемых группах, относительное их число было снижено. Относительное количество фагоцитирующих моноцитов в группе контроля составило в среднем 74%, у больных этот показатель был снижен и составил в среднем 59% при туберкулемах и 47% — при инфильтративном туберкулезе с МЛУ. Та же закономерность наблюдалась при оценке способности этих клеток к окислительному взрыву.

Общее число гранулоцитов возрастало по мере утяжеления процесса. Этот показатель был значительно повышен при туберкулемах и инфильтративном туберкулезе — на 6 и 5%, при инфильтративном туберкулезе с МЛУ и ФКТ возрастал уже на 25 и 34% в сравнении с контролем. Число фагоцитирующих гранулоцитов было снижено при инфильтративном туберкулезе на 7%, повышено при ФКТ на 10%. Относительное содержание гранулоцитов способных к фагоцитозу снижалось во всех группах больных по сравнению с контрольной группой. Абсолютное число гранулоцитов, способных к окислительному взрыву снижалось при туберкулемах, но повышалось в трех других группах больных (при ФКТ на 32%).

Выводы:

- проточная цитофлюориметрия позволяет оценить степень изменения функционально-метаболической активности фагоцитов у больных туберкулезом легких;
- изменение количества клеток, способных к фагоцитозу и окислительному взрыву, связано с тяжестью процесса. Наибольшей величины эти изменения достигают при ФКТ и инфильтративном туберкулезе с МЛУ.

Выводы:

- проточная цитофлюориметрия позволяет оценить степень изменения функционально-метаболической активности фагоцитов у больных туберкулезом легких;
- изменение количества клеток, способных к фагоцитозу и окислительному взрыву, связано с тяжестью процесса. Наибольшей величины эти изменения достигают при ФКТ и инфильтративном туберкулезе с МЛУ.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТИТА А В НИЖНЕМ НОВГОРОДЕ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД

А.А. Залесских

*ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора*

В крупном городе европейской части России установлены особенности эпидемического процесса гепатит А-инфекции (ГА), проявившиеся в изменении интенсивности манифестного и латентного компонентов эпидемического процесса (ЭП). Выявлены изменения иммуноструктуры населения к вирусу гепатита А (ВГА). По сравнению с предыдущим годом увеличилась доля серопозитивных лиц с 5 до 24% в индикаторных группах детей 1–4 и 5–9 лет. Рост иммунной прослойки в этих возрастных группах свидетельствует об активизации циркуляции ВГА среди населения Нижнего Новгорода и является неблагоприятным фактором-предвестником периодического подъема.

Изучена информативность определения РНК ВГА в эпидемиологическом надзоре за инфекцией. Установлена целесообразность применения метода ОТ-ПЦР для выявления ВГА при мониторинге водных объектов хозяйственно-бытового назначения. Усовершенствована методика концентрирования ВГА в воде. Показано, что оптимальным является метод фильтрации с применением мембран с положительным зарядом (ММПА+). Генотипирование ВГА, выделенного у больных ГА в 2004–2009 гг., проведено методом прямого секвенирования, для чего подобраны праймеры к вариабельному участку VP1–2А генома ВГА, условия полимеразной цепной реакции (концентрации праймеров, матрицы, смеси нуклеотидов, полимеразы) и программа термоциклирования. Очистку ПЦР продуктов проводили с коммерческим набором реагентов «Ахуген», секвенирование — на капиллярном секвенаторе ABI PRIZM.

Выявлена преимущественная (более 90%) циркуляция субтипа IA с единичными определениями субтипов IB (со степенью гомологии 92% к ближайшим депонированным вариантам GenBank) и IIIA.

Полученные результаты соответствуют данным литературы о преобладании в циркуляции у населения европейской части России субгенотипа 1А ВГА. Метод секвенирования дает представление о генотипе и о гомологии изучаемых штаммов.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ МОНОКЛОНАЛЬНОЙ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТ АФФИННОСТИ АНТИТЕЛ

Т.В. Замарина

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Одно из перспективных направлений современной иммунодиагностики мелиоидоза — это разработка препаратов и тест-систем на основе моноклональных антител (МКА) к антигену 200 kDa *Burkholderia pseudomallei*, предназначенных для обнаружения и идентификации вирулентных штаммов данного микроорганизма.

Для изготовления высокочувствительной тест-системы необходимо подбирать такие компоненты, которые бы проявляли высокую активность, не обладали кросс-реактивностью и были при этом высокоаффинными. Поэтому при выборе компонентов тест-систем (МКА первого и второго порядка) необходимо тщательно изучить их свойства.

Аффинность МКА характеризует прочность связывания активных центров молекулы антитела (АТ) с определенным участком (эпитопом) антигена (АГ). Этот параметр необходимо учитывать при подборе компонентов иммуноферментных тест-систем, так как технология постановки твердофазного иммуноферментного метода (ТИФМ) предусматривает этапы отмывки, во время которых возможно разрушение комплекса антиген—антитело.

Целью данной работы являлся подбор высокоаффинных МКА для экспериментальной тест-системы иммуноферментной, предназначенной для поиска *B. pseudomallei* и антигенов этой патогенной буркхольдерии.

Аффинность количественно измеряли с помощью определения константы связывания по J.D. Beatty в процессе выполнения непрямого варианта ТИФМ. Для этого производили двукратное титрование образцов МКА в лунках планшетов с предварительно сорбированным антигеном 200 kDa *B. pseudomallei* 100 (контрольная серия) и строили графики зависимости величины оптической плотности от логарифма разведения и вычисляли разведение МКА, которое соответствовало двукратному уменьшению количества связавшихся с носителем антител.

Величины констант аффинности (K_{aff}) для МКА, взаимодействующих с антигеном 200 kDa *B. pseudomallei* 100, варьировали от 9×10^5 до $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$, что свидетельствовало о разной степени связывания МКА с гомологичными им участками контрольного АГ.

В результате проведенного исследования были определены МКА в качестве компонентов экспериментальной тест-системы: смесь МКА ($3C_6 + 5C_2 + 2A_6$) на твердой фазе и МКА $5C_2$, для изготовления ИПК. K_{aff} МКА $3C_6$, $5C_2$, $2A_6$ были равны $9 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ и $8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ соответственно.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МИКОПЛАЗМ *Mycoplasma hominis* И *Ureaplasma spp.* К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

О.В. Заручейнова¹, В.Н. Вербов¹, Н.В. Семенов²

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

²ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург

Урогенитальные микоплазмы *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* вызывают такие распространенные заболевания, как эндометриты, негонекокковые уретриты и бактериальные вагинозы. Они могут быть причиной преждевременных родов, рождения детей с малым весом и заражения крови. В настоящее время актуальной остается проблема повышения эффективности лабораторной диагностики этих инфекций. В большинстве случаев диагностика и лечение основываются на выявлении основного возбудителя без учета количественных критериев. Существует множество антимикробных препаратов, используемых при лечении микоплазменных и уреаплазменных инфекций, но не проводится микробиологический контроль их эффективности (изучение антибиотикочувствительности), предварительное определение которого при назначении лечения позволяет снизить удельный вес положительных результатов при повторном обследовании после курса антибиотикотерапии.

Целью данного исследования являлась оценка чувствительности *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* к антибиотикам разных групп, наиболее часто назначаемых при лечении урогенитальных микоплазмозов, методом серийных разведений в жидких питательных средах с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК). На клинических изолятах *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* проводилось исследование их чувствительности к следующим антибиотикам: тетрациклинам (доксциклин, тетрациклин), макролидам (джозамицин, мидекамицин, эритромицин, кларитромицин, азитромицин, рокситромицин, спирамицин), фторхинолонам (офлоксацин, ципрофлоксацин, спарфлоксацин, левофлоксацин, пефлоксацин, моксифлоксацин, ломефлоксацин), линкозамидам (клиндамицин, линкомицин) и аминогликозиду (гентамицин).

Результаты исследования показали, что группа тетрациклинов показала высокую активность к урогенитальным микоплазмам, только активность тетрациклина к *Ureaplasma spp.* оказалась умеренной. Также к *Ureaplasma spp.* практически все фторхинолоны показали достаточно высокую активность, как и макролиды, кроме спирамицина и мидекамицина. Для *M. hominis* из макролидов наиболее активным был джозамицин. Из фторхинолонов наибольшую активность к *M. hominis* проявили спарфлоксацин и моксифлоксацин. В отношении к *M. hominis* умеренную активность проявили линкозамиды и гентамицин, к *Ureaplasma spp.* — только гентамицин.

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ С ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПО ДАННЫМ КИБ им. С.П. БОТКИНА

Н.К. Зенкина¹, Н.С. Жевнерова¹, Ю.А. Васильева²

¹ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

² ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина,
Санкт-Петербург

Северо-Западный регион Российской Федерации является активным природным очагом клещевых инфекций. Известно, что при клещевом энцефалите (КЭ) и клещевом боррелиозе (КБ) степень и выраженность неврологической симптоматики нередко определяют прогноз и исход заболевания.

Цель исследования: оценить клинико-эпидемиологические характеристики КЭ и КБ по материалам отделения нейроинфекций КИБ им. С.П. Боткина (СПб) за 2012–2013 гг.

Методы. Проанализировали 35 историй болезни пациентов, у 27 из них установлен диагноз КЭ, у 8 — КБ. Диагноз во всех случаях был установлен на основании клинико-эпидемиологических данных и подтвержден обнаружением IgM к возбудителям КЭ и КБ в сыворотке крови.

Результаты. Возраст больных был от 18 до 75 лет, преобладали мужчины (20 человек). Во всех случаях наблюдалась трансмиссивная передача инфекции. Пациенты подвергались нападению клещей чаще в Гатчинском (6 случаев) и Всеволожском районах (3 случая) Ленинградской области и в Псковской области (4 случая). В 5 случаях инфицирование произошло в Финляндии, Архангельской области, Тверской области, Украине; все они сопровождались клиническими признаками поражения нервной системы. У 17 больных КЭ наблюдалась менингеальная форма, у 4 — менингоэнцефалитическая, у 5 — лихорадочная. У одного больного (инфицированного в Архангельской области) зарегистрирована менингоэнцефалополиомиелитическая форма КЭ с развитием очаговой симптоматики (тетрапареза). Среди больных КБ выявлено по одному случаю менингеальной и менингоградикулоневритической формы. Микст-инфекция была установлена в 5 случаях, из них КЭ протекал с поражением нервной системы у 3 больных. Во всех случаях микст-инфекции КБ протекал в безэритемной форме.

Заключение. В условиях отделения нейроинфекций в КИБ им. С.П. Боткина в 2012–2013 гг. преобладающей была менингеальная форма КЭ; случай тяжелой менингоэнцефалополиомиелитической формы был связан с инфицированием в Архангельской области. При микст-инфекции КЭ+КБ неврологическая симптоматика обусловлена клещевым энцефалитом.

ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ЦЕРВИКАЛЬНОГО СЕКРЕТА ВПЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЖЕНЩИН С ЭКТОПИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ

М.А. Зотова, Л.Ф. Телешева, О.С. Абрамовских,
И.Л. Батурина, И.Ю. Орнер, К.В. Никушкина,
Е.А. Мезенцева

ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский
университет МЗ РФ, г. Челябинск

Распространенным видом гинекологической патологии является эктопия шейки матки. Особое внимание уделяется случаям эктопии, ассоциированной

с инфицированием вирусом папилломы человека (ВПЧ), в связи с повышенным риском малигнизации. Немаловажную роль в течении и исходе заболевания играют эндогенные факторы, среди которых большое значение имеет состояние иммунной системы. Одной из главных составляющих местного противовирусного и противоопухолевого иммунитета является система цитокинов.

Материалы и методы. Обследовано 38 женщин с диагнозом эктопия шейки матки, ассоциированная с папилломавирусной инфекцией (ПВИ), 20 практически здоровых женщин (без наличия онкогенных типов ВПЧ, клинических, цитологических и кольпоскопических изменений на шейке матки). В цервикальном секрете определяли уровни цитокинов (IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, ФНО α , IFN α , IFN γ) методом ИФА (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург). Полученные результаты обработаны в «Statistica 6.0».

Результаты. Достоверные изменения установлены только IL-2 и IFN α . В контрольной группе зарегистрированы концентрации IL-2 = 59,92 \pm 4,69 (пг/мл) IFN α = 192,21 \pm 36,55 (пг/мл). У пациенток с ВПЧ-ассоциированной эктопией шейки матки отмечалось достоверное увеличение этих показателей (p < 0,05), значения которых составили: IL-2 = 118,19 \pm 17,52 (пг/мл) и IFN α = 1631,75 \pm 311,71 (пг/мл).

Заключение. Цитокиновый статус цервикального секрета при эктопии шейки матки, ассоциированной с ВПЧ, характеризуется высокой концентрацией IL-2, который является активатором Т-хелперов 1 типа, и увеличением содержания IFN α , оказывающего противовирусное действие. Работа противовирусных факторов врожденного иммунитета в условиях низкой репликативной активности ВПЧ может способствовать элиминации вируса. В случае проявления высокоагрессивных свойств ВПЧ, который способен нарушать работу интерферонсигнальных путей, существует риск прогрессии ПВИ. Необходимо наблюдение за пациентками с эктопией шейки матки, ассоциированной с ПВИ, с определением иммунологических и вирусологических показателей для формирования групп повышенного риска развития неопластической патологии.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ ПАТОГЕННОСТИ У ГЕМОЛИЗИРУЮЩИХ ESCHERICHIA COLI

Е.И. Иванова, С.М. Попкова, Ю.П. Джигоев, Е.Б. Ракова
ФГБУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции
человека СО РАМН, г. Иркутск

Escherichia coli, являясь постоянным обитателем кишечника человека, выполняя ряд полезных для хозяина функций, между тем ответственна за самый широкий спектр патологических процессов у человека. Полиморфизм клинической картины, патогенез и особенности эпидемиологии обусловлены наличием комплекса разнообразных факторов вирулентности (адгезинов, инвазинов, токсинов). В связи с этим, цель исследования — выявление генов патогенности у *E. coli* с гемолитической активностью, выделенной из кишечника детей.

Для выявления генов патогенности использовали выборку из 33 образцов *E. coli* с гемолитической активностью (ГА). Культуры выделены у детей (33 человека) в возрасте от рождения до 5 лет.

По культурально-ферментативным свойствам и антигенным характеристикам исследуемые штаммы *E. coli* являлись типичными представителями индигенной микробиоты рода *Escherichia*. Гемолитическую активность определяли на чашках с питательным агаром, содержащим эритроциты человека. Зоны лизиса эритроцитов учитывали после инкубации посевов при 37°C через 24 ч. Маркеры вирулентности выявляли в ПЦР с праймерами к генам патогенности: *bfp*, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ipaH*, *pCVD432*, *eltA* последующей электрофоретической детекцией продуктов амплификации в 1% агарозном геле. Из 33 образцов культур *E. coli* ГА оказались положительными на наличие гена *bfp* — 97%, *pCVD432* — 21,2%, *stx1* и *stx2* — 6,1 и 6,1% соответственно, *eae* и *eltA* — 3% и 3% соответственно. В данной фенотипической группе не были выявлены ампликоны, специфичные *ipaH* генам. Гены, детерминирующие патогенность были обнаружены в 32 образцах. В 62,5% обнаружены одиночные гены (*bfp*), 34,4% — в сочетании по два (*bfp+pCVD432* — 22%, *bfp+stx1* — 3,1%, *bfp+stx2* — 3,1%, *bfp+eltA* — 3,1%, *bfp+eae* — 3,1%) и 3,1% — в сочетании по три (*bfp+stx1+stx2*). Наличие генов патогенности у *E. coli* ГА, выделенной от детей до года определялось в 94,4% случаев, у детей старшей возрастной группы в 100%. Практически все бактерии имели ген, отвечающий за формирование связывания пилей (*bfp*), что свидетельствует о высокой степени контакта бактерий с клетками эпителия. Таким образом, полученные нами фактические данные обнаружения популяций гемолитических эшерихий с наличием комплекса генов патогенности могут служить теоретическим обоснованием для отнесения таких штаммов к патобионтам.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГИДРОФОБНЫХ И АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ЧУМНОГО МИКРОБА НА МОДЕЛИ ВАКЦИННОГО ШТАММА *Y. PESTIS EV* НИИЭГ

А.Г. Ивонин^{1,2}, Е.В. Пименов^{1,2}, В.А. Оборин³

¹Лаборатория сравнительной кардиологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

²ФГБОУ ВПО Вятская государственная сельскохозяйственная академия, г. Киров

³ФГБОУ ВПО Вятский государственный гуманитарный университет, г. Киров

Адгезия возбудителя к клеткам-мишеням играет ключевую роль в развитии инфекционного процесса, во многом определяя его начало, характер и течение. По современным представлениям прикрепление инфекционного агента бактериальной природы к клеткам макроорганизма происходит в результате формирования нескольких типов связей, различных по природе и специфичности. Выделяют неспецифические физико-химические связи, обусловленные, в основном, гидрофобными свойствами контактирующих поверхностей, а также специфические лиганд-рецепторные взаимодействия между поверхностными структурами бактерий (адгезинами) и рецепторами клеточ-мишеней.

Цель исследования заключалась в установлении роли гидрофобных взаимодействий в реализации адгезивной функции клетками вакцинного штамма *Y. pestis EV* линии НИИЭГ.

Гидрофобность бактерий определяли по степени адсорбции на поверхности капель хлороформа,

адгезивную активность — по способности прикрепляться к поверхности эритроцитов человека 0 (I) Rh+ группы крови. Уровень адгезии оценивали спектрофотометрически после совместной инкубации микробных клеток с эритроцитами и последующего осаждения эритроцитов центрифугированием. В работе использовали 48-часовые культуры *Y. pestis EV* НИИЭГ, выращиваемые на ГРМ-агаре и агаре Хоттингера при температуре 28 и 37°C.

В проведенных экспериментах установлено, что гидрофобность и адгезивные свойства микробных культур зависят как от состава питательной среды, так и от температуры выращивания. Между показателями гидрофобности и адгезии культур выявлена высокая степень корреляции ($r = 0,82$). Полученные результаты позволили предположить, что уровень гидратации внешней мембраны клеточной стенки играет немаловажную роль во взаимодействии чумного микроба с клетками макроорганизма на их начальном этапе. По-видимому, благодаря гидрофобности поверхностных структур чумных бактерий преодолевается электростатический барьер, существующий за счет отрицательного заряда микробной и эукариотической клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-00426-а) и программы фундаментальных исследований УрО РАН (проект № 12-П-4-1069).

ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОВИРУСОВ ОТ ДЕТЕЙ ИЗ ГРУПП РИСКА, ПРИБЫВАЮЩИХ ИЛИ ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

О.И. Канаева, Н.Р. Розаева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Эпидемиологический надзор за энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) является одним из важных видов дополнительного надзора в рамках Программы глобальной ликвидации полиомиелита. В научной литературе существует мало данных о выделении отдельных серотипов энтеровирусов (ЭВ) от здоровых детей из групп риска (проживающих в закрытых детских коллективах, детей мигрантов, прибывших из неблагополучных территорий и детей из кочующих групп населения). Между тем среди детей мигрантов и детей из кочующих групп населения могут встречаться носители ЭВ, не эндемичных для территории Северо-Запада России, что может явиться причиной возникновения очагов и эпидемических вспышек ЭВИ.

В 2013 г. в вирусологической лаборатории Регионального центра по надзору за полиомиелитом и острыми вялыми параличами были исследованы 104 пробы фекалий от детей мигрантов, прибывших из неблагополучных территорий, и детей из кочующих групп населения, а также 264 пробы от детей, проживающих в закрытых детских коллективах на 4-х территориях СЗФО. Из материала от детей из семей мигрантов было выделено 11 ЭВ, что составило 10,6% от общего числа обследованных. Среди них были обнаружены три вакцинных полиовируса, а также 8 непوليوмиелитных энтеровирусов (НПЭВ): Коксаки А4, А17, А24 и ЕСНО 11, 13, 30. Из материала от детей, проживающих в детских домах на трех территориях, было выделено 8 вакцинных полиовирусов (4,9%) и 6 НПЭВ (3,6%), среди которых были Коксаки

A10, A14 и A24. Из материала от детей, посещающих детские дошкольные учреждения четвертой территории, было выделено 23 ЭВ (23%). Наибольшее число выделенных вирусов принадлежали к ЭВ Коксаки В1–6, в одном случае был выделен полиовирус серотипа 2, в единичных случаях встречались НПЭВ ЕСНО 6, 25 и 33.

При изучении спектра НПЭВ, циркулирующих на территориях СЗФО в 2010–2013 гг. и выделенных от детей из групп риска, были выявлены различия. Так, только от детей-мигрантов выделялись энтеровирусы ЕСНО 18 и 29, Коксаки А4, А13, А17 и ЭВ-99, ранее не встречавшиеся на территории региона. Напротив, энтеровирусы ЕСНО 6 и 9 выделялись только от детей, проживающих в СЗФО, и не обнаруживались в материале, взятом от детей-мигрантов.

Таким образом, исследование подтвердило необходимость дальнейшего вирусологического обследования детей из групп риска.

ГРУППОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ

О.И. Канаева¹, М.А. Бичурина¹, Н.И. Романенкова¹, Л.А. Шишко²

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

²ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области, г. Архангельск

Необходимость эпидемиологического и вирусологического надзора за энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) выявилась в процессе реализации Программы глобальной ликвидации полиомиелита, и в настоящее время этот вид надзора рассматривается как составляющая часть надзора за полиомиелитом.

Официальная регистрация ЭВИ, в том числе энтеровирусного менингита (ЭВМ), в статистических отчетных формах РФ введена с 2006 г. Периодические подъемы заболеваемости ЭВИ на Северо-Западе России отмечались регулярно.

В 2008 г. в Архангельской области был зафиксирован высокий показатель заболеваемости ЭВИ, составивший 21,63 на 100 тыс. населения. В сентябре-октябре было зарегистрировано 266 случаев ЭВИ, в том числе 252 случая ЭВМ (94,7%). Возрастная структура заболевших ЭВИ характеризовалась преобладанием детей (83,5%). В эпидемический процесс были вовлечены организованные дети до 14 лет (95%).

В этом же году в Новгородской области было зарегистрировано 105 случаев ЭВИ, в том числе 73 случая лабораторно подтвержденного ЭВМ. Сезонный подъем ЭВМ зарегистрирован с конца сентября до середины ноября, показатель заболеваемости составил 10,5 на 100 тыс. населения. Самый высокий показатель заболеваемости был у детей в возрастной группе 3–6 лет. На обеих территориях этиологическим агентом групповых заболеваний ЭВИ был энтеровирус ЕСНО 30, что доказано вирусологическим и молекулярно-генетическим методами.

Крупная вспышка энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей была зафиксирована в 2009–2010 гг. в Ковдорском районе Мурманской области. Среди заболевших преимущественно были поражены дети в возрасте до 3 лет, 94% заболевших были дети из организованных коллективов. При идентификации ЭВ установлено, что они относились к ЭВ Коксаки А16. Этот же энтеровирус обусловил в 2012 г.

групповые заболевания энтеровирусной экзантемой полости рта и конечностей в двух детских дошкольных учреждениях Ленинградской области.

Представленные материалы свидетельствуют о смене доминирующих в циркуляции на территориях Северо-Запада России серотипов энтеровирусов. Важность данной проблемы требует постоянного контроля энтеровирусной инфекции с обязательным установлением этиологического фактора как групповых, так и спорадических случаев заболевания.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РИККЕТСИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ

М.Ю. Карташов¹, Т.П. Микрюкова¹, Н.Л. Тупота¹, В.А. Терновой¹, Е.В. Протопопова¹, Н.С. Москвитина², И.В. Корабельников³, В.Б. Локтев¹

¹ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» МЗ РФ, п. Кольцово, Новосибирская область

²Томский государственный университет

³ФГУП «Дезинфекция», г. Сыктывкар

Актуальность проблемы изучения риккетсиозов обусловлена обнаружением в последнее время целого ряда новых вариантов риккетсий, а также резким ростом заболеваемости клещевым риккетсиозом в РФ. Данные о границах природных очагов и биологических особенностях циркулирующих в них риккетсий имеет огромное значение для совершенствования диагностики риккетсиозов и дальнейшей разработки средств их специфической профилактики.

Целью исследования являлось определение генетического разнообразия риккетсий, циркулирующих в выбранных для исследования природных очагах.

Материал и методы. В исследование взят 3721 клещ видов *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, собранных в городских и пригородных биотопах г. Томска; 1137 клещей *I. persulcatus*, отловленных в Республике Коми; 305 клещей (роды *Ixodes*, *Dermacentor*) из Новосибирской области; 189 клещей (*Ixodes*, *Dermacentor* и *Haemaphysalis*) из Республики Молдова. Первичный скрининг на наличие ДНК риккетсий проводили с помощью *real-time* ПЦР. Положительные образцы использовали для генетического типирования по фрагментам генов *gltA* (760 п.н.) и *ompA* (470 п.н.). Нуклеотидные последовательности полученных ПЦР-фрагментов определяли секвенированием и использовали для проведения филогенетического анализа.

Результаты. По результатам исследования методом ПЦР уровень зараженности риккетсиями клещей видов *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* в Томской области составил, соответственно, $13,3 \pm 1,4$ и $12,1 \pm 1,7\%$. ДНК риккетсий обнаружена в $14,4 \pm 1,6\%$ образцах клещей, отловленных в Республике Коми. Обнаружено, что на территории Томской области циркулирует *R. tarasevichiae*, патогенность которой была описана в 2013 г. Доминирующим видом риккетсий на территории Республики Коми является *R. helvetica* (65%), менее распространена *R. tarasevichiae* (35%). Зараженность клещей рода *Dermacentor* из Новосибирской области *R. raoultii* составила до 34%. В клещах из Молдовы обнаружена ДНК *R. slovaca* и *R. raoultii*.

Результаты исследований подтверждают широкое распространение риккетсий на изучаемых территориях и их разнообразный видовой состав.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ РЕПРЕССИИ *OmpT* МАЛОЙ РНК *VrrA* У РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE*

А.В. Керманов^{1,2}, Т.В. Шамова³, А.Б. Мазрухо¹, Р.В. Писанов¹

¹ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора

² Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону

³ Волгоградский государственный аграрный университет

У *V. cholerae* лабораторными методами обнаружены десятки типов молекул, относящихся к группе малых РНК-регуляторов. Неоднократно показано их участие в эффективном управлении экспрессией генов. Для малой РНК *VrrA* получены убедительные молекулярно-генетические доказательства подавления синтеза мембранных белков *OmpA* и *OmpT*.

Целью нашего исследования было выявление особенностей взаимодействия малой РНК *VrrA* и мишени — матричной РНК *ompT* штаммов *V. cholerae* с доступной геномной информацией. Эксперимент проводили *in silico* на 210 штаммах (N16961 рассматривали в качестве референтного), при этом оценивали свободную энергию гибридизации мишени с последовательностью малой РНК и участвующие в связывании позиции в последовательностях. Степень репрессии белка *OmpT* малой РНК *VrrA* принималась пропорциональной увеличению энергии гибридизации.

Результаты демонстрируют ожидаемое преобладание «референтной» или крайне близкой к ней энергии гибридизации *VrrA* с *ompT*. Тем не менее, у некоторых штаммов подавление *ompT* малой РНК *VrrA* усилено (штаммы RC385, CP1035 (8), LMA3984-4) или же ослаблено (штамм 1587). Усиление репрессии *ompT* при экспрессированной *VrrA* обеспечивается увеличением (по модулю) энергии образования дуплекса «малая РНК–мРНК» на 27%, а общей свободной энергии связывания — на 11%. Для штамма 1587 наблюдается уменьшение энергии связывания на 8%, причем участок связывания на мРНК расширен по направлению к 5'-концу, что, вероятно, еще более ослабляет удельную гибридизационную энергию для стандартного региона связывания. Недостаток сопроводительной информации затрудняет выявление функциональной связи между полученными результатами и другими биологическими особенностями штаммов. Дополнительные сведения о молекулярных механизмах, вовлеченных в регуляцию экспрессии мембранных белков, могут пролить свет на значение полученных отличий в гибридизационных энергиях *ompT* и *VrrA* для адаптивности штаммов холерного вибриона.

ИЗУЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ, ПРИГОТОВЛЕННЫХ НА ОСНОВЕ МКА К АНТИГЕНУ 200 kDa *B. PSEUDOMALLEI* 100

Е.Э. Ким, Т.В. Замарина

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

На основе высокоактивных моноклональных иммуноглобулинов различной эпитопной направленности, взаимодействующих с гликопротеином капсулы возбудителя мелиоидоза с м.м. 200 kDa, были

получены экспериментальные образцы высокоактивных и специфичных диагностических препаратов для метода флуоресцирующих антител (МФА).

Для оценки спектра их специфической активности использовали мазки-препараты из взвесей 31 музейного штамма *B. pseudomallei*.

Установлено, что наибольшей активностью в отношении возбудителя мелиоидоза, сопоставимой с активностью моноклонального препарата сравнения, обладают иммуноглобулины флуоресцирующие моноклональные 5H₁₁.

Специфичность всех экспериментальных образцов иммуноглобулинов флуоресцирующих моноклональных оценивали по результатам окрашивания мазков-препаратов, приготовленных из взвесей гетерологичных микроорганизмов III–IV групп патогенности: *B. thailandensis* (5 штаммов), *B. cepacia* (5 штаммов), *B. allicola*, *B. gladioli*, *B. marginata*, *P. putida* (по одному штамму). Специфичность образцов была различной.

Оба препарата сравнения, приготовленные на основе поли- и моноклональных иммуноглобулинов, «узнавали» все штаммы *B. thailandensis*. В то время, как три из четырех вновь приготовленных препаратов (3С₆, 5H₁₁ и 6А₁₁) проявили себя как специфичные диагностические средства, не взаимодействующие ни с одним из штаммов взятых в работу видов гетерологичных микроорганизмов. Только конъюгат 5С₂ обладал перекрестной активностью в отношении одного штамма *B. thailandensis* и одного штамма *B. cepacia*. Наибольший интерес представляют данные об отсутствии кросс-реактивности МКА 3С₆, 5H₁₁, 6А₁₁ в отношении *B. thailandensis* — буркхольдерии, наиболее близкой в антигенном отношении *B. pseudomallei*. Этот факт заслуживает внимания, так как по данным литературы подавляющее большинство экспериментальных препаратов и тест-систем, предназначенных для обнаружения возбудителя мелиоидоза, не позволяют дифференцировать эти два вида буркхольдерий.

Таким образом, получены доказательства того, что экспериментальные образцы конъюгатов мелиоидозных моноклональных 3С₆, 5H₁₁ и 6А₁₁ по параметру специфичности превосходят применявшиеся в работе аналоги.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ ДЛЯ ВИДОВОЙ РАСШИФРОВКИ *CANDIDA* SPP. У ПАЦИЕНТОВ С ДИАРЕЙНЫМ СИНДРОМОМ И КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА

Н.С. Климович¹, Е.А. Оришак²

¹ ЗАО «Ситилаб», Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Известно, что грибы рода *Candida* могут транслоцироваться из кишечника и вследствие гематогенной диссеминации поражать различные органы, без специфической симптоматики, а иногда и без явной клинической картины, что приводит к несвоевременной постановке диагноза «кандидоз». Возрастает число случаев кандидозов, вызываемых не *C. albicans*. Многие виды не *C. albicans* обладают устойчивостью к антифунгальным препаратам или имеют тенденцию к быстрому формированию таковой в ходе лечения. Доказано, что данные виды способны вызывать инвазивный кандидоз у лиц,

перенесших абдоминальные операции, особенно повторные, у лиц с предрасполагающей патологией (сахарный диабет, ВИЧ, хронический гепатит В, онкологические заболевания), у пациентов, имеющих в анамнезе длительную антибиотикотерапию или терапию глюкокортикостероидами. Показано, что некоторые виды *Candida* могут вызывать диарею новорожденных и антибиотикоассоциированную диарею у взрослых. Однако факт выявления *Candida* в фекалиях пациента зачастую является лишь свидетельством кандидоносительства, но не кандидоза. Наиболее популярная трактовка находок *Candida* в фекалиях — дисбиоз кишечника с избыточным ростом *Candida* spp. При этом, как правило, не приводится видовая характеристика изолятов, что может повлечь за собой неудачные попытки элиминации не *C. albicans*. Нами обследовано 630 пациентов с диарейным синдромом и явлениями дисбиоза. У 99 пациентов выявлены грибы рода *Candida*. Видовое разнообразие изучали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Полученные штаммы *Candida* spp. распределились по видам следующим образом: *C. albicans* — 66 изолятов (65% от числа изолятов *Candida*), *C. lusitanae* — 9 (9%), *C. krusei* — 7 (7%), *C. parapsilosis* — 4 (4%), *C. guilliermondii* — 3 (3%), *C. lambica* — 2 (2%), *C. tropicalis* — 2 (2%), *C. glabrata* — 2 (2%), *C. kefyr* — 2 (2%), *C. inconspicua* — 2 (2%), *C. dubliniensis* — 1 (1%), *C. intermedia* — 1 (1%). Данные находки не позволяют дифференцировать кандидоносительство от кандидоза, однако установление вида *Candida* spp. с помощью масс-спектрометрии в ходе исследования на дисбиоз кишечника может послужить отправной точкой для дальнейшего обследования таких пациентов с целью своевременной терапии.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ С ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Н.В. Корнева, А.А. Старшинова, Ю.Э. Овчинникова, О.А. Якунова, И.Ф. Довгалюк

ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ

Введение. Широко применяемый в мире иммунологический тест для определения активности туберкулезной инфекции — QuantiFERON®-TB Gold (КФ) — основан на количественном определении *in vitro* интерферона гамма (IFN γ) методом иммуноферментного анализа в ответ на стимуляцию лимфоцитов антигенами ESAT-6, CFP-10 и TB7.7, специфичными для *M. tuberculosis*.

Цель: выявление особенностей иммунного ответа у детей с различными результатами КФ теста.

Материалы и методы. Группа включения: дети 3–14 лет, обследованные в отделении детской фтизиатрии в 2011–2013 гг. Всем был выполнен КФ, на основании результатов которого пациенты разделены на 2 группы: I группа (85) — с отрицательным результатом, II группа (155) — с положительным. Диагностический комплекс: клинические, иммунологические, бактериологические и лучевые методы (мультирезонансная компьютерная томография). Иммунологические методы: ДИАСКИНТЕСТ (ДСТ), оценка субпопуляционного состава лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺, CD25⁺, CD95⁺, HLAII), продукции индуцированных цитокинов (IL-2, IL-4, IFN γ , TNF α), фагоцитарной активности нейтрофилов (фагоцитарный индекс

(ФИ), фагоцитарное число Райта (ФЧ) и индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ). Обработка материала проводилась с использованием программ Microsoft Office Word Excel 2010 и GraphPad Prism 6. Применялся критерий хи-квадрат (χ^2). Количественные данные представлены в виде $M \pm SD$. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Результаты ДСТ и КФ были сопоставимы: отрицательные результаты ДСТ достоверно преобладали в I группе (76,8% (I) против 3,1% (II), $p < 0,001$), положительные — во II (96,9% (II) против 23,2% (I), $p < 0,001$). Специфические изменения во внутригрудных лимфатических узлах (ВГЛУ) по данным МСКТ достоверно чаще выявлялись во II группе (83,3% (II) против 40,2% (I), $p = 0,001$). Уровни цитокинов TNF α ($686,71 \pm 70,75$ (I) против $962,37 \pm 91,88$ (II), $p = 0,05$), IL-2 ($173,58 \pm 24,23$ (I) против $280,45 \pm 26,61$ (II), $p = 0,05$) и IFN γ ($18\,749,94 \pm 1566,68$ (I) против $20\,729,58 \pm 1396,93$ (II), $p = 0,05$) были достоверно выше во II группе. Также во II группе отмечено достоверное повышение CD3⁺ ($p = 0,04$), CD4⁺ ($p = 0,04$) и CD95⁺ ($p = 0,04$), в I — достоверно повышены CD25⁺ ($p = 0,03$). Повышение ФЧ выявлено во II группе (42,3% (I) против 65% (II) ($p < 0,01$), ИЗФ выше в I группе ($1,05 \pm 0,07$ (I) против $0,94 \pm 0,06$ (II)).

Выводы. Положительные результаты КФ и ДСТ сопоставимы и ассоциированы со специфическими изменениями во ВГЛУ, активацией нейтрофилов, ростом уровня цитокинов TNF α , IL-2, IFN γ и субпопуляций лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺ и CD95⁺.

КОРРЕЛЯЦИЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ МЕЛИОИДОЗА (*BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*) ДЛЯ КЛЕТОК *TETRAHYMENA PYRIFORMIS* С ИХ ВИРУЛЕНТНОСТЬЮ

Е.В. Король, Р.О. Абдрахманова, С.Н. Тихонов, Е.В. Шубникова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Инфузории вида *T. pyriformis* известны как модель для изучения вирулентности различных видов бактерий. Показано, что вирулентные микроорганизмы могут эффективно размножаться в клетках тетрахимен и вызывать их инцистирование, являющееся результатом цитотоксического действия бактерий на клетки инфузорий.

Цель настоящей работы состояла в сравнении цитотоксичности штаммов *B. pseudomallei* для клеток тетрахимен и установлении ее корреляции с показателями вирулентности для экспериментальных животных.

Использовали штаммы (*B. pseudomallei* 107, 99, 56770, С-141, 110), отличающиеся по вирулентности для моделей золотистых хомячков и белых мышей. Аксеническая культура *T. pyriformis* получена из Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Тетрахимены выращивали в L-бульоне «ХайМеди» при температуре 25°C. Изменения морфологии клеток наблюдали при световой и электронной микроскопии (увеличение 10 \times 90 и \times 5000 соответственно). Культуры простейших и микроорганизмов соединяли в количественном соотношении 1:100 в L-бульоне и инкубировали при температуре 28°C в течение 72 ч в климатической камере «Sanyo». Количество трофозоитов и цист подсчитывали в камере Горяева после обеззараживания сокультур 10% формалином.

Показано, что наиболее выраженным цитотоксическим действием обладает штамм *B. pseudomallei* 110, вызывающий полное инцистирование клеток тетрахимен через 72 ч. Динамика образования цист в сокультурах с другими штаммами соотносилась с их вирулентностью (в наименьшей степени она была выражена при взаимодействии с *B. pseudomallei* 107, авирулентным для экспериментальных животных).

Штамм *B. pseudomallei* 110 далее был трехкратно пассирован на золотистых хомячках. Культуры пассированного штамма вызывали гибель экспериментальных животных при введении единичных клеток. При этом уже после однократного пассажа их цитотоксичность для тетрахимен также значительно возрастала по сравнению с исходной, приводя к 100% инцистированию клеток в течение 24–48 ч совместного инкубирования.

Таким образом, *T. pyriformis* может рассматриваться в качестве эукариотической модели для оценки вирулентности штаммов возбудителя мелиоидоза по степени их цитотоксического действия на клетки простейших.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭПИТОПНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ИММУНОБЛОТТИНГЕ

И.И. Корсакова^{1,2}, Н.П. Храпова^{1,2}, Т.В. Замарина^{1,2},
Е.В. Пименова¹, Н.С. Макаров²

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора

²ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский
университет МЗ РФ

Эпитопная направленность — важная характеристика моноклональных антител (МКА), отражающая их индивидуальное свойство. Ее изучение важно для последующего использования МКА как основы диагностических тестов и для выбора метода очистки антигенов. Эпитоп является очень небольшим участком, встречающимся в составе антигенного комплекса с различной частотой. После электрофореза в денатурирующих условиях эти участки можно выявить в составе отдельных антигенных фракций.

Цель работы: определить эпитопную направленность ряда МКА к гликопротеину 200 kDa *B. pseudomallei* в иммуноблоттинге.

Электрофорез антигенов (водно-солевых (ВСЭ) и формамидных (ФЭ) экстрактов *B. pseudomallei*) в ПААГ-ДСН и последующий перенос осуществляли по методике Н. Towbin. Клетки 12 гибридом-продуцентов МКА к гликопротеину 200 kDa *B. pseudomallei* 100 тиражировали для получения препаративных количеств МКА. Из мышинной асцитической жидкости выделяли моноклональные иммуноглобулины, на их основе готовили иммунопероксидазные конъюгаты (ИПК) по методу Р.К. Nakane, А. Kawano, которые после проверки на специфичность использовали для визуализации полос на нитроцеллюлозных мембранах. Рабочее разведение ИПК составило 1:20. Полученные блоттограммы анализировали с помощью компьютерной программы «TotalLab TL120».

Анализ окрашенных различными способами электрофорезграмм позволил обнаружить 16–35 и 4–13 антигенных фракций в составе ВСЭ и ФЭ соответственно, а также установить гликопротеиновую природу изучаемых антигенов.

Число обнаруженных иммуноблоттингом эпитопов, гомологичных МКА 5С2, было наибольшим. Эпитопы выявлены в составе 17 фракций антигенов с молекулярной массой (м.м.) от 37 до 18,4 kDa.

У остальных ИПК картина эпитопного профиля была разнообразной и зависела от вида антигена и штамма, из которого его получали.

Ни одно из изученных МКА не реагировало с ФЭ серии 5 *B. pseudomallei* 100, имеющим низкое содержание гликопротеинов.

Таким образом, иммуноблоттинг с применением препаратов ВСЭ и ФЭ штаммов *B. pseudomallei* позволил установить картину специфического взаимодействия экспериментальных ИПК с биополимерами различной м.м., входящими в их антигенный спектр, а также получить представление об эпитопной направленности использованных в работе МКА.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИНАМИКИ КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ К ЦИТОКИНАМ В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ПРИМЕРЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА *B. ABORTUS* 19 ВА

М.В. Костюченко, Н.С. Саркисян, Т.В. Бердникова

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора

Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране, которые запускают каскадную реакцию межклеточных взаимодействий, ведущую к регуляции иммунного ответа.

Цель работы — изучить экспрессию рецепторов к цитокинам на субпопуляциях лейкоцитов в процессе формирования иммунного ответа при вакцинации белых мышей *B. abortus* 19 ВА.

Исследовали кровь 60 белых мышей иммунизированных подкожно вакцинным штаммом *B. abortus* 19 ВА в дозе 0,1 мл, содержащей 105 микробных клеток. Контролем служили 30 интактных животных, которым вводили стерильный физиологический раствор в том же объеме. Забор крови осуществляли на 3, 5, 7, 14 и 21 сутки иммунизации, по 6 животных опытной и контрольной группы в каждый период исследования. Методом проточной цитометрии на аппарате «FACSCalibur» с помощью моноклональных антител фирмы Invitrogen определяли рецепторы к интерлейкинам 2, 4 (IL-2, IL-4) и фактору некроза опухоли (TNF) на поверхности лимфоцитов, нейтрофилов и моноцитов. Так в процессе формирования иммунного ответа отмечалось повышение содержания моноцитов, экспрессирующих рецепторы к IL-2, на 5 сутки $18,67 \pm 2,25\%$, по сравнению с контролем $3,13 \pm 0,37\%$, нейтрофилов — на 5 и 14 сутки $15,81 \pm 1,19$ и $12,20 \pm 0,63\%$, контроль — $4,01 \pm 0,22\%$. Количество моноцитов и нейтрофилов, экспрессирующих рецепторы к IL-4 значительно повышалось на 5 сутки и достигало значений $25,88 \pm 3,63$ и $26,59 \pm 1,94\%$ по сравнению с контролем $4,18 \pm 0,39$ и $2,60 \pm 0,35\%$. Значение этих показателей оставалось высоким в течение всех сроков наблюдения. Повышение уровня моноцитов и нейтрофилов экспрессирующих рецепторы к TNF отмечалось на 3 сутки. Максимальных значений достигало на 7 сутки $22,39 \pm 1,87$ и $17,55 \pm 1,87\%$ по сравнению с этими показателями у интактных животных $5,03 \pm 0,45$ и $2,25 \pm 0,62\%$. К 21 суткам ис-

следуемые значения снижались. Определение рецепторов к IL-2 и IL-4 и TNF на мембране лимфоцитов во все сроки исследования были в пределах контрольных значений.

Таким образом, наибольшее повышение уровня моноцитов и нейтрофилов экспрессирующих рецепторы к IL-2, IL-4 и TNF наблюдалось на 5–14 сутки в процессе формирования иммунного ответа у белых мышей при вакцинации *B. abortus* 19 ВА.

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛПС В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ ПО ДАННЫМ СПб КИБ им. С.П. БОТКИНА ЗА 2011–2013 гг.

М.Е. Котов¹, Е.В. Куликова¹, А.Г. Шевалдин¹,
Л.Р. Городничева²

¹ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

² ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина,
Санкт-Петербург

Проанализированы 50 историй болезни пациентов с геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС), находившихся на стационарном лечении в КИБ им. С.П. Боткина в 2011–2013 гг. Возраст больных составил от 24–77 лет ($47,5 \pm 2,2$ года). Преобладали мужчины (70%) трудоспособного возраста 24–59 лет (76%). У всех больных диагноз был подтвержден с помощью МФА или ИФА. У 88% установлен диагноз среднетяжелой формы, у 8% — тяжелой формы ГЛПС. В пригородную зону выезжали 68% больных, из них 28% не исключали контакта с грызунами. Преимущественно ГЛПС регистрировали в осенний период (36% в октябре).

На догоспитальном этапе предварительный диагноз ГЛПС был установлен лишь в 4 случаях. Частым диагнозом при направлении в стационар были ОРВИ (54%), у 5 пациентов подозревали пневмонию, у двух — псевдотуберкулез. У 94% больных наблюдалась фебрильная лихорадка, интоксикационный синдром проявлялся общей слабостью (90%), головной болью (56%), миалгиями (54%). Частые жалобы на кашель (30%) и гиперемия зева (52%) по видимому определяли ошибочный диагноз ОРВИ. Вместе с тем, дискомфорт в пояснице и снижение остроты зрения, типичные для ГЛПС, отмечали соответственно 44 и 24% пациентов. Болезненность при поглаживании по пояснице выявили у 44% больных, снижение суточного диуреза — у 32%. У 6 больных обнаружена негеморрагическая сыпь и только у одного выявили петехии на переходной складке нижнего века. По данным УЗИ диффузные изменения интерстиция паренхимы почек обнаружены у 68%, увеличение печени — у 62% пациентов. Креатинин был повышен у 60% больных. Средний уровень креатинина сыворотки при поступлении составил $0,191 \pm 0,027$ ммоль/л. Число тромбоцитов в среднем составило $172,4 \pm 19,8 \times 10^9$ /л. При тяжелой форме ГЛПС отмечено более значимое снижение тромбоцитов ($143,2 \pm 52,2 \times 10^9$ /л), наиболее выраженная протеинурия и гематурия.

Таким образом, диагностика ГЛПС в эндемичном регионе с преобладанием среднетяжелых форм (отсутствие клинических проявлений геморрагического синдрома) представляет сложную задачу. Вместе с тем, очевидна недооценка данных эпидемиологического анамнеза, типичных признаков поражения почек и снижения остроты зрения при ГЛПС.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ВИДОВ *DIROFILARIA REPENS* И *DIROFILARIA IMMITIS* МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Е.Ю. Криворотова, С.А. Нагорный, А.В. Алешукина,
С.О. Коршунов

ФБУН Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии
Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону

Идентификация видовой принадлежности паразитов предопределяет успешную работу специалистов в диагностике и лечении пациентов. Определение микроорганизмов до вида с помощью масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) хорошо изучено и широко используется в практике. В меньшей степени протеомный анализ применяется как таксономический инструмент для идентификации многоклеточных организмов. Определение вида членистоногих с использованием MALDI-TOF MS исследовано для дрозophil, мокрецов, мухи цеце и других насекомых.

Цель исследования: проверка возможности дифференциации видов *Dirofilaria repens* и *D. immitis* методом масс-спектрометрии.

Гельминтов *D. repens* и *D. immitis* многократно отмывали в физрастворе, гомогенизировали механически и ультразвуком. Для улучшения качества спектра проводили экстракцию в 20 мкл 70% муравьиной кислоты. Затем в пробирку добавляли аналогичное количество (20 мкл) 50% ацетонитрила. Гомогенаты центрифугировали при 13 000 оборотах в минуту в течение 2 мин 1 мкл супернатанта наносили на стальную пластину (Bruker Daltonics) в 2-х последовательностях. Мишень сушили в течение нескольких минут при комнатной температуре. Затем на каждый образец наносили 1 мкл матрицы (CHCA), просушивали и помещали в прибор MALDI-TOF MS для анализа. В общей сложности 16 образцов были подвергнуты MALDI-TOF MS анализу.

Профили масс белков получены с использованием Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics) с программным обеспечением FlexControl (Bruker Daltonics). Профили полученного спектра визуализированы с помощью программного обеспечения Flex analysis 3.3 (Bruker Daltonics).

Качество спектров и интенсивность спектральных пиков согласуется у всех образцов одного вида. Профили спектров, полученные из белков диروفиларий, отличаются, что делает возможным дифференцировать по белковому профилю *D. repens* и *D. immitis*.

MALDI-TOF MS обладает рядом преимуществ по сравнению с другими методами определения видов: подготовка образца сравнительно проста; не требуются дорогостоящие расходные материалы и генетическая информация об организмах, рабочий процесс автоматизирован.

ИММУНОГЕННОСТЬ И КРОСС-РЕАКТИВНОСТЬ ВИРУСОВ ГРИППА С РАЗЛИЧНОЙ РЕЦЕПТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ НА МОДЕЛИ МЫШЕЙ

В.А. Кузнецова, С.А. Кузнецова, И.Н. Исакова-Сивак
ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

Известно, что вирусы гриппа птиц и человека имеют сродство к сиаловым рецепторам типа $\alpha 2$ -3 и $\alpha 2$ -6 соответственно. Возможность размножаться в клетках млекопитающих птицы вирусы получа-

ют главным образом за счет изменения рецепторной специфичности гемагглютинина (НА) с типа связи $\alpha 2$ -3 на $\alpha 2$ -6, чему способствует аминокислотные замены Q226L и G228S в НА1. Адаптацию вирусов гриппа к клеткам млекопитающих можно смоделировать в лабораторных условиях, например, при смене системы культивирования с куриных эмбрионов на культуру клеток. В работе были изучены два варианта вируса А/Сингапур/1/1957 (H2N2), имеющих разную рецепторную специфичность. Секвенирование их геномов показало наличие аминокислотных различий в НА1 (E156K, Q226L, G228S) и нейраминидазе (NA) (K19T), где вариант EQG имел специфичность $\alpha 2$ -3, а вариант KLS — $\alpha 2$ -6. Адаптация вирусов к культуре клеток MDCK была проведена путем их 5-кратного пассирования. Секвенирование НА и NA пассажных вариантов выявило их гетерогенность, в связи с чем вирусы далее клонировали методом бляшек, и были получены гомогенные клоны обоих вариантов. Вариант KLS приобрел две дополнительные мутации в НА1 (G158E и L321P), а вариант EQG — мутацию в НА1 в одном клоне (P221S) и в НА2 во втором клоне (A96V). Для изучения иммуногенности и кросс-реактивности вирусов мышей заражали интраназально вариантами KLS, KLS-EP, EQG, EQG-S и EQG-V в дозе $10^{5.0}$ ЭИД₅₀, после чего на 21 день забирали сыворотки и смывы верхних дыхательных путей. Титры IgA и IgG антител определяли в ИФА. Титры сывороточных IgG антител вариантов KLS и KLS-EP были достоверно выше, чем у варианта EQG, тогда как у вариантов EQG-S и EQG-V — достоверно ниже, чем у EQG. Варианты EQG-S и EQG-V вызывали образование более высоких уровней локальных IgA антител, чем вариант EQG. Использование в качестве антигенов вирусов KLS и KLS-EP выявляло достоверно более высокие титры сывороточных IgG антител, чем антиген EQG. Кроме того, использование антигена EQG-S вместо EQG значительно снижало уровни IgG антител у мышей, иммунизированных вариантами KLS, EQG, EQG-S и EQG-V; это может свидетельствовать, что замена P221S является эскаре-мутацией. Таким образом, рецепторная специфичность вируса гриппа влияет на его иммуногенность и антигенность.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-32088 мол_а.

РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИКУМА ЭРИТРОЦИТАРНОГО ШИГЕЛЛЕЗНОГО ЗОННЕ

О.Ю. Кузнецова¹, В.Н. Вербов¹, В.Л. Львов²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ООО «Гритвак», Москва

Ежегодно общее число случаев шигеллезов в мире оценивается в 165 млн. Почти 69% всех случаев заболевания и 61% всех летальных исходов приходится на группу детей младше 5 лет. Серологические методы подтверждения дизентерии являются ускоренными методами диагностики. Один из таких методов — реакция пассивной гемагглютинации (РПГА).

Цель работы заключалась в разработке эритроцитарного О-антигенного диагностикума для выявления специфических антител к шигеллам Зонне.

Диагностикум был получен путем сенсибилизации акролеинизированных эритроцитов кур хроматографически очищенным липополисахаридным

О-антигеном шигелл Зонне в 0,01 М фосфатном буферном растворе, pH 7,2±0,2, (ФБР). Приготовление раствора антигена осуществлялось 2 методами, позволяющими повысить его сенсибилизирующую активность:

1. растворение навески сухого антигена в ФБР с последующей дробной стерилизацией в автоклаве текучим паром при 100°C, давлении 0,9 атм. по 30 мин в течение 3 дней;

2. растворение навески сухого антигена в 8 М растворе мочевины с последующим нагреванием в кипящей воде до полного растворения хлопьев антигена.

Специфическая активность диагностикумов, полученных из различным образом активированных антигенов, определялась методом РПГА с использованием 2 сывороток:

1. сыворотка диагностическая шигеллезная Зонне адсорбированная сухая для РА «Агнолла» в разведении 1:10 (Санкт-Петербургский НИИВС);

2. сыворотка диагностическая шигеллезная Зонне неадсорбированная сухая из набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный, жидкий» в разведении 1:100 (ООО «Био-Диагностика»).

Титры сывороток при постановке с обоими диагностикумами совпали (1:1280 и 1:6400 соответственно). Это позволяет ввести в технологический процесс изготовления диагностикума активацию антигена 8 М раствором мочевины.

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСА ГРИППА, ЦИРКУЛИРОВАВШЕГО В ПОПУЛЯЦИИ СВИНЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА В 2013 г.

Т.В. Кузнецова, Т.И. Глебова, М.Г. Шаменова, Г.В. Лукманова, Н.Г. Кливлеева

РГП Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан

Проведено серологическое исследование проб сывороток крови, собранных в 2013 г. от свиней в свиноводческих хозяйствах трех областей Казахстана: Кустанайская, Карагандинская и Восточно-Казахстанская. Всего собрано 83 пробы от животных 2–4-месячного возраста (группа дорашивания), из них 34 от свиней Восточно-Казахстанской, 30 — Кустанайской и 19 — Карагандинской областей. Пробы крови тестировали в реакции торможения гемагглютинирующей активности (РТГА) на наличие антител против вируса гриппа: А/Iowa/15/30 (Hsw1N1), А/California/07/09 (H1N1) и А/Wisconsin/67/05 (H3N2). Результат считали положительным при титре гемагглютинации > 1:20.

По данным проведенной РТГА, наибольшее количество положительных образцов зарегистрировано в Кустанайской области — восемь (26,6%), причем все они были серопозитивными к подтипу А/Iowa/15/30 (Hsw1N1) (титр РТГА составил 1:40–1:640). Антитела к вирусам гриппа А/California/07/09 (H1N1) и А/Wisconsin/67/05 (H3N2) отсутствовали.

В пробах крови, собранных от свиней в Восточно-Казахстанской области, антитела к подтипу А/California/07/09 (H1N1) были выявлены в одном образце (3%), четыре пробы (11,7%) оказались сероположительными к штамму А/Wisconsin/67/05 (H3N2). Титры в РТГА варьировали в пределах 1:40–1:160. Все исследуемые пробы из свиноводческих хозяйств

Карагандинской области оказались серонегативными ко всем используемым в РТГА антигенам вируса гриппа.

Таким образом, наибольшее количество серопозитивных образцов было к штамму A/Iowa/15/30 (Hsw1N1), собранных в свиноводческих хозяйствах Кустанайской области. В образцах Восточно-Казахстанской области антитела обнаружены к вирусам A/Wisconsin/67/05 (H3N2) и A/California/07/09 (H1N1). Хотя, полученные данные ограничиваются количеством собранных образцов из трех областей Казахстана, в целом, результаты проведенного исследования подтверждают, что на территории республики среди свиноголового циркулируют вирусы гриппа H1N1 и H3N2.

Авторы выражают благодарность директорам республиканских областных ветеринарных лабораторий за оказание помощи при сборе образцов.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *HELICOBACTER PYLORI* В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Г.Н. Кулмамбетова¹, Э.Е. Бекенова¹, А.К. Туякова¹, А.А. Логвиненко², А.Т. Сукашев², К.Х. Алмагамбетов¹

¹ Республиканская коллекция микроорганизмов, Астана, Казахстан

² Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

Helicobacter pylori в большинстве случаев является возбудителем заболеваний желудочно-кишечного тракта таких, как гастрит, язва двенадцатиперстной кишки, аденокарцинома и MALT-лимфома. В мире хеликобактером инфицировано 50% людей. В медицинской практике пациентам, инфицированным *Helicobacter pylori*, принято назначать курс эрадикации. Данный курс включает тройную схему терапии с применением ингибитора протонной помпы и двух антибиотиков: амоксициллина, кларитромицина и метронидазола, уровень эрадикации хеликобактера при этом достигает 70–80%. На сегодняшний день существует проблема возрастающей антибиотикорезистентности инфекции к назначаемым препаратам. Данных о резистентности *Helicobacter pylori*, распространенных в казахской популяции, не существует. Поэтому целью нашей работы было изучение спектра мутаций, ассоциированных с резистентностью *Helicobacter pylori* к кларитромицину, метронидазолу, амоксициллину, тетрациклину и рифампицину в штаммах, выделенных от симптоматических казахских пациентов.

Было изучено 16 штаммов *H. pylori*, выделенных из биопсийных образцов слизистой оболочки желудка симптоматических пациентов Национального научного медицинского центра. *H. pylori* культивировали на коламбия агаре в микроаэрофильных условиях. Идентификацию *H. pylori* проводили с помощью анализа фрагмента 16S рРНК. Из выделенных штаммов экстрагировали ДНК. Спектр антибиотикорезистентности определяли постановкой ПЦР на гены-кандидаты антибиотикорезистентности с последующим секвенированием.

В результате проведенного анализа на антибиотикорезистентность 16 штаммов *H. pylori* было выявлено наличие мутаций в гене 23S рРНК 56,25% T2182C, 12,5% и 6,25% A2142G, A2143G, соответственно. 25% AGA→TTC в гене 16STCR. 31,25% в гене *rdxA* смещение рамки считывания, а также 6,25% в гене *rdxA* ве-

дет к замене аминокислоты аланин на валин. 18,75% мутация в гене *pbp1A* ведет к замене аминокислоты Glu₄₀₆→Ala. 4 штамма имели 2 мутации и более, что характерно для высокорезистентных штаммов бактерии.

Таким образом, 87,5% штаммов *Helicobacter pylori* в казахской популяции имели мутации, ассоциированные с антибиотикорезистентностью.

ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ ОБОСНОВАНИИ ИХ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ

Е.С. Кунилова¹, И.С. Петрова²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ГКУ Инфекционная клиническая больница № 1, Москва

Подтверждение этиологической значимости условно-патогенного микроорганизма, выделенного из нестерильных полостей, является сложной задачей. При этом количественный показатель не всегда отражает этиологическое значение выделенного микроба. Так, при отитах, синуситах, бронхитах, пневмониях в 20–30% случаев со слизистых респираторного тракта выделяются *Moraxella catarrhalis*. При синуситах и длительных ринитах в 25–28% проб отделяемого синусовых пазух и носоглотки находят *Staphylococcus epidermidis*. Оценка результата лишь на основании вида выделенного микроорганизма и его количества может значительно снизить эффективность назначаемой врачом-клиницистом терапии.

Цель работы: обосновать значение генетических и фенотипических маркеров вирулентности штаммов *M. catarrhalis* и *S. epidermidis* при определении их этиологической роли в развитии инфекционных процессов респираторного тракта и среднего уха. Изучено 60 штаммов *S. epidermidis*, выделенных от больных с ринитом и синуситом, на наличие генов вирулентности *sepA* и *icaA*, кодирующих выработку протеазы SepA и интрацеллюлярного адгезина IcaA. Контролем служили 40 штаммов *S. epidermidis*, выделенных от здоровых людей. Изучены 10 штаммов *M. catarrhalis*, выделенных от больных с отитом, бронхитом и пневмонией, на наличие гена *mcaP*, кодирующего выработку бактериальной белка McaP, принимающего участие в адгезии моракселл к клеткам слизистого эпителия. В качестве контроля исследованы 8 штаммов *M. catarrhalis*, выделенных от здоровых лиц. Фенотипические проявления действия гена *sepA* изучали по индексу лизированных нейтрофилов *in vitro* в присутствии штаммов *S. epidermidis*. Экспрессию гена *mcaP* подтверждали путем определения коэффициента адгезированных клеток *M. catarrhalis* на клетках буккального эпителия *in vitro*.

Установлено, что ген *sepA* выявлен у 90% штаммов *S. epidermidis*, выделенных от больных, в то время, как штаммы, полученные от здоровых лиц, имели его в 15% случаев. При этом 80% штаммов от больных, несущих ген *sepA*, имели высокий уровень лизирования нейтрофилов по сравнению со штаммами, выделенными от здоровых лиц. Все штаммы *M. catarrhalis*, выделенные от больных, имели ген *mcaP*, в то время, как у здоровых лиц эти же бактерии его не содержали. Наибольшим коэффициентом адгезии к эпителиальным клеткам обладали штаммы *M. catarrhalis*, выделенные от больных с пневмонией.

В результате проведенного исследования доказано, что для подтверждения этиологической роли условно-патогенного микроорганизма в развитии инфекционного процесса необходимо руководствоваться данными о генетических и фенотипических маркерах вирулентности выделенного штамма.

АНАЛИЗ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ОРВИ И ГРИППА У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ ВО ВРЕМЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА 2013–2014 гг.

**О.Г. Курская^{1,2}, И.А. Соболев^{1,2}, М.В. Сивай^{1,2},
О.С. Абрамова³, Е.В. Вакуленко³, А.М. Шестопалов^{1,2}**

¹ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной
медицины СО РАМН, г. Новосибирск

²Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет

³ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский
университет МЗ РФ

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) — самая частая патология, встречающаяся вне зависимости от возраста, места проживания и социального статуса человека. На долю ОРВИ в нашей стране приходится около 93% всей инфекционной патологии. При этом часто возникает необходимость проведения дифференциального диагноза с целью установления точного возбудителя ОРВИ, выбора тактики лечения, этиотропной терапии и предупреждения осложнений. Целью данной работы явилось изучение этиологической структуры острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), в том числе гриппа, у детского населения Новосибирской области. Для этого во время эпидемического сезона в детских лечебно-профилактических учреждениях г. Новосибирска производился сбор клинического материала (мазки из носа и зева) у детей с симптомами ОРВИ. Исследование материала на наличие генетического материала вирусов, вызывающих острые респираторные заболевания (респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, метапневмовирус, вирус парагриппа, коронавируса, аденовирус, бокавирус), осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени коммерческим набором «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL».

В ходе исследования были проанализированы мазки из носа и зева от детей разных возрастных групп: 36,5% образцов было получено от детей первого года жизни, 28,3% образцов — от детей раннего возраста (1–3 года) и 35,2% образцов — от детей старше 3 лет. Наличие генетического материала вирусов, вызывающих ОРВИ, было выявлено в 79,3% случаев, при этом наименьший уровень выявления вирусов наблюдался в возрастной группе 1–3 года. Наиболее распространенным этиологическим агентом, вызывающим ОРВИ у детей в наблюдаемый период, явился респираторно-синцитиальный вирус, составив 61,4% от всех проанализированных случаев, причем чаще всего данный патоген выявлялся у детей первого года жизни. Риновирус был выявлен в 14,5% случаев. На долю аденовируса, вируса парагриппа 3 типа и вируса парагриппа 1 типа пришлось 4,8, 4,1 и 2,8% случаев соответственно. В 10% случаев наблюдалась микст-инфекция, при этом чаще всего выявлялась сочетанное заражение респираторно-синцитиальным вирусом и риновирусом.

Работа поддержана грантом Правительства Новосибирской области.

ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ КАК МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

В.В. Лабис¹, Э.А. Базикия¹, И.Г. Козлов²

¹Московский государственный медико-стоматологический
университет имени А.И. Евдокимова

²Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова, Москва

Проточную цитометрию можно рассматривать в качестве нового клинического метода диагностики инфекционно-воспалительной составляющей тканевого костного матрикса в условиях реабилитации пациентов с первичной и вторичной адентией методом дентальной имплантации. Мы считаем, что забор крови, непосредственно из лунки удаленного зуба при проведении немедленной или отсроченной дентальной имплантации, в корреляции с теми же результатами клеточных и молекулярных параметров состава периферической венозной крови пациента, может служить диагностическим критерием к выбору хирургического протокола ведения пациента при использовании данного метода лечения. На основании изучения определенных кластеров дифференцировки: CD3, CD4, CD8, CD1a, CD14, CD16, CD19, CD25, CD62L, CD45Ra, CD45R0, CD45, CD127, CD56, CCR7, TGF-β — как местно, так и на периферии, мы сможем говорить о выраженности инфекционно-воспалительного процесса, происходящего непосредственно в костной ткани, что станет предпосылкой к обоснованию нового взгляда на механизм репаративного остеогенеза в целом. Данный метод исследования был выбран нами первым, в качестве доказательства значимости роли иммунной системы в регуляции регенераторной функции организма, происходящей в альвеолярных участках костной ткани челюстей при дентальной имплантации, в частности, для изучения механизма остеоинтеграции. Концепция нашего исследования подразумевает участие клеток иммунной системы в регуляции репаративного остеогенеза, а именно, в механизме остеоинтеграции дентальных имплантатов, что не может исключать важности инфекционно-воспалительной составляющей, наравне с другими антигенными детерминантами, влияющими на развитие иммунного ответа при проведении данного оперативного вмешательства.

MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ *LEPTOSPIRA* SPP.

И.К. Литвинов¹, Е.В. Зуева²

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный
технологический институт (технический университет)

²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

Возбудителями лептоспироза, распространенного зоонозного заболевания, являются грамотрицательные бактерии рода *Leptospira*, насчитывающие 13 генетических видов патогенных лептоспир. В то же время серологическая классификация, основанная на различии липополисахаридных антигенов клеточной поверхности, разделяет патогенные лептоспиры более чем на 260 сероваров, объединенных по общим антигенам в серогруппы, не соответствующие таксономическим видам лептоспир.

Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS) показала себя надежным инструментом идентификации бактерий на видовом уровне. Метод основан на получении уникального набора белковых масс-спектров (MSP) исследуемого микроорганизма. Однако идентификация штаммов *Leptospira* с помощью MS затруднена отсутствием эталонных MSP в существующих международных таксономических базах.

Цель данного исследования — получение MSP патогенных штаммов *Leptospira* spp. из коллекции лаборатории зооантропонозных инфекций НИИЭМ им. Пастера.

Экстракты клеток 9-ти штаммов *Leptospira*, относящихся к 3-м геновидам *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri* и 7-ми серогруппам получали этанольно-муравьинокислотным методом. Образцы экстрактов наносили 6-тикратно по 1 мкл в лунки MALDI мишени. В качестве матрицы использовали раствор циано-коричной кислоты в 50% ацетонитриле и 2,5% трифторуксусной кислоте. Масс-спектры были получены на масс-спектрометре Microflex и преобразованы в MSP для каждого штамма с помощью программы MALDI Biotyper 3.0 (Bruker Daltonik, Германия). Как сравнительный контроль использовали эталонный MSP спирохеты *Brachyspira murdochii* из таксономической библиотеки Bruker. Сравнение MSP осуществляли визуализацией в виде построения дендрограмм.

Все штаммы *Leptospira* spp. дали специфические белковые профили, кластеризация которых на дендрограмме четко отличалась от MSP контроля сравнения. При этом не выявлена группировка MSP референсных штаммов на кластеры согласно таксономическим видам, но наблюдалась кластеризация MSP по серотипам *Sejroe*, *Ballum*, *Icterohaemorrhagiae*.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования метода MALDI-TOF MS для серотипирования патогенных лептоспир.

СОВРЕМЕННЫЕ ФАКТОРЫ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

И.В. Лихачев, Л.А. Кафтырева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Острые кишечные инфекции (ОКИ) имеют глобальное распространение, регистрируются среди детского и взрослого населения и имеют широкий спектр этиологии. Такая тенденция отмечается практически во всех странах.

Цель исследования: оценить значимость продуктов, ранее не рассматриваемых как факторы передачи ОКИ (так называемые «нетрадиционные»).

Задачи: анализ вспышек ОКИ, зарегистрированных в последнее десятилетие в ряде стран, выявление ведущих факторов передачи пищевых вспышек и оценка эпидемиологической значимости различных пищевых продуктов в структуре ОКИ.

Материалы и методы: отечественная и зарубежная статистика регистрации вспышек ОКИ, вызванных нетрадиционными с точки зрения эпидемиологии пищевыми продуктами.

Результаты. *Bacillus cereus* был причиной 46% пищевых вспышек, обусловленных зерновыми, бобовыми и растительными продуктами и не более 25% — мясомолочными. Причиной вспышек, вызванных

энтерогеморрагическими (*E. coli* O157) и энтеротоксигенными эшерихиями, продуцирующими экзотоксины (шигатоксины и энтеротоксины соответственно) в 30% были продукты растительного происхождения, в 15% зерновые и бобовые, в 35% — мясные. Доля молочных вспышек не превышала 6%. Микроаэрофильные микроорганизмы, такие как *Campylobacter* spp. чаще выделялись из мясо-молочных продуктов (58,5%), поскольку вакуумная упаковка способствовала их длительному сохранению. Факторами передачи вирусных кишечных патогенов, таких как *Norovirus*, *Rotavirus*, *Sapovirus*, чаще являлись контаминированные растительные продукты — от 50% (*Sapovirus*) до 31% (*Norovirus*), реже — мясные продукты (16%), и с одинаковой частотой (8–10%) — молочные и яичные, зерновые и бобовые продукты (9–16%), масла и сахара (9–10%). Следует отметить, что такой фактор передачи, как спиртные напитки (вина) нередко были контаминированы различными микроорганизмами (*B. cereus* — в 6% случаев, *Campylobacter* — в 7% случаев, *Clostridium botulinum* — 11% случаев, *Clostridium perfringens* — 8% случаев, *E. coli* — от 7 до 11%, различных сероваров *Salmonella* — от 2 до 13%, вирусов (*Norovirus*, *Rotavirus*, *Sapovirus*) — до 10%).

Таким образом, настоящее время особенностью факторов передачи ОКИ является активная роль продуктов растительного происхождения, зерновых и бобовых продуктов, употребляемых без термической обработки, а также спиртосодержащих напитков. Профилактика ОКИ в настоящее время должна включать лабораторный контроль широкого спектра возбудителей.

ЛОКАЛЬНЫЙ ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ К СЕЗОННЫМ, ПАНДЕМИЧЕСКИМ И ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАНДЕМИЧЕСКИМ ЖИВЫМ ГРИППОЗНЫМ ВАКЦИНАМ

И.В. Лосев, Г.Д. Петухова, С.А. Донина, С.А. Кузнецова, А.Н. Найхин

ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Локальный иммунитет верхних дыхательных путей — один из важнейших факторов защиты от гриппа. Живые аттенуированные гриппозные вакцины (ЖГВ) вызывают выраженный локальный иммунный ответ. Ранее нами было показано существование прямой зависимости между защитой людей от гриппозной инфекции и уровнем секреторных IgA антител в слюне и носовых секретах. Целью настоящей работы является сравнение формирования локального иммунного ответа на сезонную пандемическую ЖГВ А (H1N1)pdm2009 и потенциально пандемические ЖГВ, приготовленные из птичьих вирусов А (H5N2) и А (H7N3).

Материалы и методы. Здоровые волонтеры 18–20 лет прививались однократно тривалентными сезонными ЖГВ или двукратно моновалентными ЖГВ А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1), А/17/Утка/Потсдам/86/92 (H5N2) и А/17/Дикая утка/Нидерланды/00/95 (H7N3). Образцы носовых секретов, слюны и сывороток крови собирали до вакцинации, на 28 день после вакцинации и на 28 день после ревакцинации. Титры сывороточных антител измеряли в РТГА. Уровни локальных IgA в носовых секретах и слюне определяли с помощью ИФА. Для изучения avidности антител применялся тест с мочевиной.

Результаты. Десятилетние наблюдения за формированием локального иммунитета у людей, прививавшихся сезонными тривалентными вакцинами, показали постепенное снижение процента конверсий титров этих антител. Однако это не отражалось на частоте конверсий данных антител у привитых людей с низкими исходными титрами локальных IgA ($\leq 1:8$). Показано существование высоких титров кросс-реактивных IgA антител к вирусу А (H1N1)pdm2009 еще до его вступления в активную циркуляцию. У людей обнаружены локальные кросс-реактивные антитела к птичьим вирусам А (H5N2) и А (H7N3), но в более низкой концентрации. Вакцинация ЖГВ повышала не только титры, но и авидность локальных антител. Кроме того, она стимулировала гетерологичный иммунный ответ к широкому спектру штаммов вируса гриппа А.

Выводы. Сезонные, пандемические и потенциально пандемические ЖГВ способны активно стимулировать продукцию локальных антител. У невакцинированных лиц выявляются преобладающие антитела к новым вирусам и иммунный ответ после вакцинации находится в обратной зависимости от уровней антител до вакцинации. Вакцинация ЖГВ повышает также и функциональную активность (авидность) антител. Локальные антитела, индуцированные введением ЖГВ, проявляют широкую кросс-реактивность к различным штаммам гриппа А.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИИ АЭРОЗОЛЬНОГО РАСПЫЛЕНИЯ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ В МИНИМИЗАЦИИ ФАКТОРОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА КОЛОНИЗАЦИЮ ПАЦИЕНТОВ РОДДОМОВ РЕЗИДЕНТНЫМИ ШТАММАМИ

А.Е. Макаров, А.П. Ребещенко, А.С. Корначев, А.А. Вакарин, Л.В. Катаева

ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора

Для повышения результативности биологической безопасности (ББ) роддомов апробирована технология дезинфекции помещений и оборудования с помощью аэрозольного распыления генератором «Ультраспрейер» дезинфектанта на основе перекиси водорода. Объектом исследования являлся роддом № 2 г. Тюмени, где на основе технологии РОУС оказывалась медицинская помощь женщинам с беременностью с 36 недель без соматической патологии. Целью настоящего исследования являлась оценка результативности данной технологии в минимизации угрозы колонизации пациентов роддома резидентными штаммами (РШ) с высокой резистентностью к антибиотикам. В качестве измерителя результативности использовались данные еженедельного микробиологического мониторинга пяти случайно отобранных пар новорожденных и родильниц (мазки со слизистых конъюнктивы, носа, зева, прямой кишки, кожи пупочного остатка новорожденных, рук и молочных желез родильниц). Группа наблюдения включала в себя результаты мониторинга с мая по декабрь 2010 г. Моментом ее создания явилось начало использования в стационаре генератора «Ультраспрейер». Группа контроля охватывала период 2009 г. и первых четырех месяцев 2010 г., когда в стационаре дезинфекция осуществлялась рутинным методом орошения поверхностей. В группе наблюдения было отобрано 1820 проб, а группа контроля 1876 проб.

Установлено, что оцениваемая технология позволила сократить угрозу колонизации РШ пациентов роддома, особенно тех, которые находились в стационаре больше четырех дней. Кроме этого отмечено снижение нежелательных клинических исходов в виде случаев инфекционных заболеваний у пациентов, количество которых в группе наблюдения по сравнению с группой контроля, уменьшилось на 32,6% (группа контроля — 58,79, группа наблюдения — 39,6 на 1000 родов или живорожденных новорожденных). Позитивные изменения в качестве медицинского обслуживания отмечались и пациентками, по субъективным ощущениям которых уровень биологической безопасности акушерского стационара вырос, по сравнению с группой контроля в 2 раза.

Таким образом, технология аэрозольного распыления дезинфектанта с помощью аэрозольного генератора «Ультраспрейер» оказалась весьма результативной в части обеспечения биологической безопасности акушерских стационаров.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ НАДЗОРЕ И КОНТРОЛЕ ЗА ГЕПАТИТОМ С

Ю.В. Михайлова

ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

На примере крупного города европейской части России получены новые знания об особенностях эпидемического процесса гепатит С-инфекции (ГС) в современных условиях, проявившиеся в изменении динамики распространенности манифестного и латентного компонентов.

Доля серопозитивных лиц среди групп повышенного риска инфицирования ГС колебалась от $4,3 \pm 0,6$ до $92,5 \pm 2,7\%$, до 30 раз превышая показатель контрольной группы. Встречаемость РНК у серопозитивных лиц составила в среднем 63%. Среди серонегативных лиц из групп повышенного риска инфицирования РНК обнаружена в $1,1 \pm 0,4\%$. У больных хроническим ГС (ХГС) в $4,4 \pm 2,1\%$ РНК обнаружена в мононуклеарах при отсутствии виремии в плазме крови.

Выявлены качественные и количественные параметры структуры генотипов вируса ГС (ВГС) в Нижегородской области. Генотипическое разнообразие представлено субтипами 1a, 1b, 2, 3a, с одинаковым преобладанием в общей популяции населения 1b ($42,9 \pm 2,7\%$) и 3a ($40,1 \pm 2,7\%$). В $4,1 \pm 1,1\%$ выявлены ассоциации двух субтипов: 1b+3a, 1a+1b. Структура генотипов ВГС характеризуется региональной неравномерностью. Соотношения субтипов отличаются у отдельных контингентов населения (у медицинских работников, пациентов гематологии, гемодиализа 1b достоверно преобладал над 3a; у пациентов наркологических стационаров в 52,2% выявлялся 3a; у больных ГС субтипы 1b и 3a обнаружены с одинаковой частотой), в разных возрастных и половых группах, при остром ГС и ХГС, при моно- и микст-вариантах инфекции. Изменения, произошедшие в структуре генотипов за последние 17 лет, проявились в снижении удельного веса 1b, росте доли 3a, в появлении с 2006 г. циркуляции ВГС субтипа 1a.

Для совершенствования эпидемиологического надзора за ГС экспериментально доказана целесообразность определения РНК в сыворотке и мононуклеарах крови для идентификации источника

инфекции, постановки диагноза до сероконверсии, обоснована необходимость слежения за структурой генотипов ВГС и динамикой ее изменения на региональном уровне для более точного установления связи случаев заболевания, определения путей передачи.

ПАТОГЕННЫЕ ВИДЫ *BURKHOLDERIA* КАК РЕЦИПИЕНТЫ ПЛАЗМИДЫ *Rts1*

Е.В. Молчанова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора

Высокая природная резистентность к антибактериальным препаратам *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia thailandensis* и микроорганизмов сераси-комплекса может быть обусловлена генами как хромосомной, так и плазмидной природы. Плазмиды широко распространены в природе и обеспечивают горизонтальный перенос детерминантов устойчивости к различным ингибирующим агентам. Исследование особенностей наследования и экспрессии генов антибиотикорезистентности является важным этапом в изучении механизмов развития лекарственной устойчивости.

Ранее была показана способность буркхольдерий воспринимать посредством конъюгации некоторые плазмиды Inc P-1 группы. Целью данной работы являлось изучение возможности конъюгационной передачи плазмиды *Rts1* IncГ группы, детерминирующей резистентность к канамицину и несущей транспозон Tn9, обуславливающий достаточную устойчивость к хлорамфениколу, что создавало условия для селекции трансконъюгантов изучаемых штаммов.

В ходе исследования были получены трансконъюганты всех указанных выше видов буркхольдерий с возросшей устойчивостью к хлорамфениколу в 5 и более раз. Присутствие плазмиды приводило к морфологическим изменениям колоний, что отражалось в переходе в другие морфотипы (R/S). При этом транспозонные варианты характеризовались перекрестной устойчивостью к офлоксацину и ципрофлоксацину. Определение цитопатогенности (для растения *Peireskia aculeata*) и вирулентности, LD₅₀ (для золотистых хомячков) штаммов, наследовавших плазмиду, показало снижение данных показателей на 1–2 порядка. В результате культивирования полученных вариантов при непермиссивных условиях были выделены ауксотрофные мутанты, зависимые от пролина и/или глутамина, что можно было расценивать как признак включения Tn9 в хромосому.

Таким образом, показано, что плаزمида *Rts1*:Tn9 так же, как и плазмиды P-1 группы совместимости, может быть использована в генетических исследованиях представителей рода *Burkholderia*.

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ИНФИЦИРОВАННЫХ *YERSINIA PESTIS* С РАЗНЫМ ПЛАЗМИДНЫМ СОСТАВОМ

Г.Б. Мухтургин, С.А. Витязева, В.В. Войткова

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора

Возбудитель чумы — *Yersinia pestis* — одна из наиболее инвазивных бактерий. Патогенность чумного микроба является биологически сложным полидетерминантным признаком, находящимся под контро-

лем хромосомных и плазмидных генов. Способность *Y. pestis* к ингибированию механизмов иммунологической защиты организма и паразитированию в фагоцитах многие авторы связывают, в том числе, с наличием у чумного микроба плазмид вирулентности.

Цель работы — изучить динамику изменения субпопуляционного состава клеток перитонеальной жидкости белых мышей на ранних сроках инфекционного процесса, вызванного чумным микробом с разными фенотипическими свойствами.

Исследования проведены на 175 беспородных (18–20 г) белых мышах обоих полов. В качестве инфекционного агента использовали: *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638 (pYP+pYV+pTP33+pYT+), *Y. pestis* И-3479 (pYP+, pYT+, pTP33+), *Y. pestis* И-3480 (pYT+, pTP33+), *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2359 (pYP+, pYV+, pYT+), *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948 (pYV+, pYT+), *Y. pestis* И-2948/3 (pYT+).

Забор перитонеальной жидкости проводили через 30, 60, 90, 120 и 180 мин. Количественное содержание клеток оценивали методом морфологического исследования перитонеальной жидкости в мазках, окрашенных стандартным способом с применением компьютерной программы «Motic Images Plus» (версия 2).

Показано, что наиболее выраженные изменения показателей клеточного состава перитонеальной жидкости экспериментальных животных зарегистрированы у белых мышей, инфицированных *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638 и *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948. Детальный анализ показал, что в случае применения *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638, в отличие от других исследованных штаммов, в перитонеальной жидкости выявлены незрелые и атипичные формы тучных клеток с низким функциональным потенциалом, что указывает на развитие компенсаторно-приспособительной реакции в ответ на введение патогена и может быть связано с наличием в геноме плазмиды pTP33.

Таким образом, морфофункциональная характеристика тучных клеток отражает общую адаптивную перестройку организма в ответ на введение антигена и может служить диагностическим критерием тяжести болезни при инфекционном процессе, вызванном *Y. pestis*.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ СЫРЬЯ *COLURIA GEOIDES (ROSACEAE)* ПРИ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Н.П. Неделькина¹, С.В. Дутова¹, Ю.В. Ростовцева¹,
М.Р. Карпова²

¹ ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет
им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

² ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский
университет, г. Томск

Важную роль в инфекционной патологии человека играет золотистый стафилококк, практически в 100% случаев его обнаруживают при гнойных заболеваниях мягких тканей и кожных покровов. Лечебный эффект настойки из сырья *Coluria geoides* (*Rosaceae*) при стафилококковой инфекции было установлено нами ранее (Дутова и др., 2012). Целью настоящего исследования явилась оценка профилактического действия этого препарата на экспериментальной модели генерализованной стафилококковой инфекции.

Стафилококковую инфекцию моделировали внутрибрюшинным однократным введением *S. aureus* штамма 209P в дозе, равной 1/2 от LD₅₀ (1 млрд клеток) белым 2-месячным аутбредным мышам обоего пола.

Животные экспериментальной группы получали фитопрепарат в течение 5 дней до заражения (50 мг/кг веса, в желудок). Забор материала осуществляли периодически, определяли динамику освобождения организма животных от возбудителя, гематологические показатели, активность фагоцитоза. Результаты обрабатывали с использованием IBM SPSS Statistics 19, независимые группы сравнивали с помощью непараметрического U-теста Манна–Уитни ($p \leq 0,05$).

Со 2-х по 10-е сутки после заражения у животных обеих групп наблюдали клинические признаки генерализованной стафилококковой инфекции. Возбудитель определялся в органах животных контрольной группы до 20 суток наблюдения, в группе животных, получавших фитопрепарат — до 15 суток. Доля животных с положительной высеваемостью стафилококков в опытной группе была достоверно меньше, чем в контрольной: на 7-е сутки инфекционного процесса *S. aureus* высевался из печени и селезенки у 28,6% мышей контрольной группы и у 14,3% мышей опытной группы, из почек — у 35,7 и 28,6% животных соответственно. Лейкоцитоз регистрировали у животных обеих групп на 5-е сутки после заражения ($14,18–14,30 \times 10^9/\text{л}$), в остальные дни абсолютное число лейкоцитов крови у животных контрольной и экспериментальной групп было в норме и различалось недостоверно. Лейкоцитоз у животных развивался за счет увеличения доли нейтрофилов, причем в контроле на 5-е сутки отмечали гиперрегенеративный сдвиг лейкоцитарной формулы влево (индекс ядерного сдвига составил 0,94). В опытной группе регистрировали менее выраженный сдвиг влево (индекс ядерного сдвига составил 0,25). Фагоцитарная активность нейтрофилов у экспериментальных животных была достоверно выше аналогичных показателей контрольных мышей в начале и в конце инфекции, в период с 5-х по 10-е сутки отличалась незначительно.

Таким образом, препарат *C. geoides* оказывает профилактическое действие при стафилококковой инфекции: ускоряет элиминацию возбудителя и стимулирует фагоцитоз нейтрофилов, существенно не влияя на процессы иммунопролиферации.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРЕПТОКОККОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ВО ВЬЕТНАМЕ

А.Г. Носик, Ю.Ю. Ильясов

ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Стрептококки являются одними из самых распространенных возбудителей инфекционных заболеваний человека. При этом инфекционные процессы, вызываемые ими в условиях тропиков, как правило, протекают тяжелее и стремительнее. В настоящее время данные об особенностях штаммов стрептококков во Вьетнаме практически отсутствуют, поэтому целью данного исследования было выделение стрептококков групп А, С, G у детей младшего школьного возраста и их характеристика с использованием молекулярно-эпидемиологических и генетических подходов.

В результате микробиологического исследования материала с задней стенки глотки и миндалин у 659 детей выделено 46 штаммов стрептококков группы А (GAS), 2 штамма стрептококков группы С (GCS)

и 44 штамма стрептококков группы G (GGS). С помощью разработанного метода ПЦР-идентификации на основе видоспецифичной области гена *cpn60*, кодирующего белок теплового шока HSP60, определена их принадлежность к трем видам — *S. pyogenes* (46 штаммов — GAS), *S. anginosus* (1 штамм — GCS, 38 штаммов — GGC), *S. dysgalactiae subsp. equisimilis* (1 штамм — GCS, 6 штаммов — GGS). Штаммы *S. anginosus*, *S. dysgalactiae subsp. equisimilis* проанализированы на наличие генов вирулентности *scpC/G*, *lmb*, *nga*, *slo*, кодирующих факторы патогенности *S. pyogenes*. Так, гены *scpC/G* и *nga*, кодирующие С5а пептидазу и НАД-гликогидролазу, соответственно, были обнаружены у 100% штаммов *S. dysgalactiae subsp. equisimilis*, но отсутствовали у *S. anginosus*. Гены вирулентности *lmb* и *slo*, кодирующие белок, связывающий ламинин и стрептолизин О соответственно, были обнаружены у всех штаммов *S. dysgalactiae subsp. equisimilis*, и лишь у 66,7 и 40,0% *S. anginosus*. Учитывая, что пары генов *scpC/G-lmb*; *nga-slo* являются сцепленными у *S. pyogenes*, эти данные доказывают определенные генетические перестройки у вьетнамских штаммов *S. anginosus*.

С целью определения доминирующих *emm*-типов проведено *emm*-типирование штаммов *S. pyogenes*. Были выявлены следующие генотипы: *emm4.0*, *emm12.0*, *emm44.0*, *emm58.0* и другие, в том числе, редко встречающиеся *emm104.0* и *emm109.0*.

Для установления степени генетического родства штаммы *S. pyogenes* были проанализированы методом электрофореза в пульсирующем электрическом поле. Анализ данных показал высокую степень генетической гетерогенности и специфические генетические линии, характерные для Вьетнамского региона.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 13-04-01864а.

БОКАВИРУС В СТРУКТУРЕ ОРВИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, ИНФИЦИРОВАННЫХ ГЕРПЕСВИРУСАМИ

Н.В. Околышева, Л.Б. Кистенева², А.Г. Боковой¹, Е.Н. Выжлова³, В.В. Малиновская³, А.П. Фисенко¹

¹ Центральная клиническая больница с поликлиникой Управления делами Президента РФ, Москва

² ФГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского МЗ РФ, Москва

³ ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва.

Цель: изучить частоту встречаемости бокавируса и его влияние на клеточный иммунитет у детей раннего возраста с персистирующей герпесвирусной инфекцией в период разгара ОРВИ. Материалы и методы: обследованы 22 ребенка от 1 года до 3-х лет, поступивших в инфекционное отделение ЦКБ с признаками ОРВИ: клинические анализы крови и мочи; серологическое исследование крови (IgM и IgG к вирусу Эпштейна–Барр, цитомегаловирусу и вирусу герпеса 6 типа (ИФА); исследование крови, слюны, мочи на наличие ДНК ЭБВ, ЦМВ и ВГ-6 (ПЦР), исследование крови на клеточный иммунитет (субпопуляции лимфоцитов), мазок из ротоглотки на ДНК и РНК респираторных вирусов (ПЦР).

Результаты. У 10 детей из 22 (45%) (1 группа), поступавших в стационар с признаками ОРВИ верифицирована бокавирусная инфекция (обнаружение РНК бокавируса в мазках из носоглотки

методом ПЦР). У 9 пациентов этой группы диагностирована герпетическая инфекция, ассоциированная с вирусом герпеса 6 типа (наличие ДНК ВГ 6 в слюне и IgG анти-ВГ 6) и у одного — ЦМВИ (ДНК ЦМВ в моче и слюне, IgG анти-ЦМВ). Бокавирус сочетался у 2 детей с аденовирусом, у 3 — с риновирусом: в двух случаях заболевание осложнилось бронхопневмонией.

Другими респираторными вирусами инфицированы 9 из 22 (41%) (2 группа): парагрипп у 5 детей, РС-вирус — у 2, аденовирус — у 2 детей. В трех случаях (4%) этиологическая причина ОРВИ не верифицирована. В этой группе детей доказана инфицированность вирусом герпеса 6 типа пяти детей, цитомегаловирусом — двоих детей.

У подавляющего большинства детей с ОРВИ увеличено относительно условной нормы количество CD3⁺ клеток (17/81%), CD4⁺ клеток (16/76%) и иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺) (15/71%). Достоверные отличия в иммунном статусе детей при сравнении 1-й и 2-й групп получены не были, исследования будут продолжены

Таким образом, установлено, что бокавирус является причиной ОРВИ у детей младшего возраста в 45% случаев; лидирующее место среди представителей герпесвирусов занимает ВГ 6 типа (64%).

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНЫХ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ НОВОСИБИРСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЛАЙМ-БОРРЕЛИОЗА

Е.С. Олейникова^{1,2}, М.Б. Пыхтина¹

¹ФГБУ НИИ биохимии СО РАМН, г. Новосибирск

²ФБНУ ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» МЗ РФ, п. Кольцово, Новосибирская область

Лайм-боррелиоз или иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) — трансмиссивное природно-очаговое заболевание, вызываемое спирохетами, относящимися к комплексу *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.). В России в структуре заболеваемости клещевыми трансмиссивными инфекциями на долю болезни Лайма приходится 20%. В настоящее время лабораторная диагностика ИКБ включает двухэтапную схему: скрининговое исследование на наличие антител IgG/IgM к антигенам возбудителя с дальнейшим подтверждением положительных результатов методом иммуноблоттинга. Однако ввиду высокой антигенной вариабельности боррелий серологическая диагностика ИКБ существенно затруднена. В этой связи совершенствование лабораторных методов диагностики ИКБ крайне важно как для своевременной терапии, так и для оценки эпидемиологического состояния и прогноза сезонной заболеваемости ИКБ.

Целью данной работы является получение и исследование антигенных свойств химерных рекомбинантных иммунодоминантных белков *B. burgdorferi* s.l. для дальнейшей разработки на их основе экспрессного иммунохроматографического метода серодиагностики ИКБ. В процессе работы было проведено клонирование и секвенирование кодирующей области гена белка ВВК32 *B. garinii*, осуществлена сборка химерного гена, кодирующего белок ВВК32 и иммунодоминантные эпитопы белка VlsE трех патогенных для человека видов боррелий. Исследована локализация белка FlaA и химерных

белков OspC_{Afz}-OspC_{Gar}, VmpA-p83fg в субклеточных фракциях продуцирующих их рекомбинантных штаммов *E. coli* и проведена препаративная работа и очистка этих антигенов методом аффинной хроматографии. За летние периоды 2005–2012 гг. был осуществлен сбор сывороток крови пациентов больных ЛБ. Все сыворотки проверены методом ИФА на наличие IgM и IgG к возбудителям ИКБ, часть из них была использована для оценки диагностического потенциала рекомбинантных антигенов. Сыворотки, дающие положительный ответ, и химерные антигены будут использоваться в дальнейшей работе для создания экспрессного метода серодиагностики ИКБ, основанного на иммунохроматографическом анализе.

АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Ю.В. Останкова¹, Т.Э. Иващенко², В.С. Баранов²

¹ФБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

²НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

В наши дни возрастает количество больных атопической бронхиальной астмой (БА). Частота заболевания среди взрослого населения 5–8%, у детей 10–15%. Устойчивость к воздействию некоторых факторов внешней среды зависит от системы детоксикации ксенобиотиков. В то же время современная трактовка БА исходит из воспалительной теории. Важная роль в этиопатогенезе БА отводится генетическим факторам. Целью данной работы было изучение частот аллельного полиморфизма некоторых генов (GSTT1, GSTM1, NAT2, TNF-A, NOS1, NOS3, ER1) у 78 больных атопической БА с манифестацией заболевания до 18 лет и у 115 человек, не имеющих хронических заболеваний органов дыхания.

Показано повышение частоты генотипов GSTM1 0/0 и GSTT1 0/0 у больных БА по сравнению с популяционным контролем. Сочетанные генотипы функционально ослабленных аллелей GSTM10/0 + GSTT10/0, GSTM10/0 + NAT2 S/S, GSTT10/0 + NAT2 S/S увеличивают риск развития БА — OR = 3,6, OR = 2,5, OR = 2,8 соответственно. Для сочетания одновременно GSTM10/0, GSTT10/0, NAT2 S/S генов OR = 5,2.

Показано повышение частоты аллеля A (–308A/G ген TNF-A) у больных БА (9,0%) по сравнению с контролем (4,0%). Показаны гендерные отличия в частотах генотипов гена NOS3 (4a/4b) и увеличение частоты аллеля 4a у больных БА с тяжелым течением (37,5%) по сравнению с контролем (19,6%). Сочетанный генотип NOS1 < 12/–, NOS3 4a/–, TNF-AA/– в популяции встречался с частотой 0,9%, у больных БА 5,2%, а в группе с тяжелым течением заболевания 12,6%, риск развития атопической БА тяжелого течения OR = 16,2.

Генотипы Xx и Pp гена ER1 (–351A > G и –397C > T соответственно) чаще встречались у больных БА со средней тяжестью течения по сравнению с контролем — Xx (OR = 5,1), Pp (OR = 10,7). Анализ сочетания показал увеличение частоты генотипа XxPp у больных БА со средней тяжестью течения (82%) по сравнению с контролем (31%). Риск развития составил OR = 9,8. Частота генотипа A-PpXx генов

TNF- α и ER1 повышена у больных (22%) по сравнению с популяцией (3%). Риск развития БА OR = 11,09. Риск развития при A-XhPr в подгруппе со средней тяжестью течения составил OR = 21,9.

Анализ сочетаний функционально ослабленного генотипа гена ER1 с другими представленными в работе генами не выявил достоверных отличий, также не показано отличий при анализе сочетаний генов цитокиновой системы и системы детоксикации друг с другом.

Можно предположить, что причиной различий между полиморфными вариантами разных генов и развитием различных форм атопической БА является существование нескольких заболеваний, объединенных общим термином «бронхиальная астма».

ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ АКТИВНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА У ВЗРОСЛЫХ И ДЕТЕЙ ПО ОЦЕНКЕ ЭКСПРЕССИИ CD27 НА ЭФФЕКТОРНЫХ ЛИМФОЦИТАХ CD4

А.В. Пантелеев, И.Ю. Никитина

ФГБУ ЦНИИ туберкулеза РАМН, Москва

В связи с широким распространением заболеваемости туберкулезом (ТБ) большое значение имеет своевременная диагностика активного ТБ (АТБ) и ТБ инфицирования (ТБИ) — состояний, требующих принципиально различных схем лечения. Особые трудности диагностика ТБ представляет в тех случаях, когда заболевание не сопровождается выделением мокроты или наличием в ней микобактерий, что наиболее часто встречается у детей. В таких ситуациях большое значение имеют иммунологические методы диагностики: туберкулиновый тест, диа-скинтест и «интерфероновые» тесты (IGRAs). Эти тесты, однако, не позволяют дифференцировать АТБ и ТБИ.

Недавно для диагностики ТБ в ЦНИИТ РАМН был предложен тест «Mtb-CD27». Пилотные исследования у взрослых показали, что тест позволяет дифференцировать больных АТБ и лиц с ТБИ. Целью настоящей работы явилась валидация теста «Mtb-CD27» у взрослых и оценка возможности его использования для диагностики ТБ у детей.

В исследовании участвовали 38 взрослых больных ТБ, 17 взрослых здоровых человек, имеющих контакт с больными ТБ, 19 детей с АТБ и 9 детей с диагнозом ТБИ.

Иммунологические тесты проводили по методике, разработанной ранее. Кратко, образцы крови культивировали с PPD. Через 12 ч с помощью проточной цитометрии выявляли IFN γ продуцирующие лимфоциты CD4 и определяли процентное содержание среди них клеток с низкой экспрессией рецептора CD27 (CD27^{low}; высокодифференцированные эффекторы). Содержание клеток CD27^{low} выше 31,5 от всех лимфоцитов CD4⁺IFN γ ⁺% рассматривали как признак АТБ (положительный результат теста, Nikitina et al., 2012). У взрослых положительные результаты теста были получены у 35 из 39 больных и у 5 из 17 «контактов» (чувствительность — 89,5%, специфичность — 70,5%). При этом у 4 «контактов» наблюдаются близкие значения к пороговым. Положительные результаты теста были получены у 16 из 18 детей с диагнозом АТБ и у 2 из 9 детей с диагнозом ТБИ (чувствительность — 88,9%, специфичность — 77,8%).

Проведенные исследования подтверждают возможность и целесообразность использования теста «Mtb-CD27» для дифференциальной диагностики АТБ и ТБИ у взрослых. Возможность использования теста у детей требует дальнейшей валидации на большей выборке.

ДЕТЕКЦИЯ ИНФЕКЦИИ COXIELLA BURNETII У МИГРИРУЮЩИХ ПТИЦ В БОЛГАРИИ

Ю.А. Панферова¹, Н.К. Токаревич¹, Б. Николов², П. Зехтинджиев², Т. Димова³, Х. Найденски³

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

²Институт экосистемных исследований АН Болгарии, София, Болгария

³Институт микробиологии Стефана Ангелова АН Болгарии, София, Болгария

Птицы играют существенную роль в поддержании стабильной циркуляции возбудителей ряда трансмиссивных инфекций на территории существующих очагов, а также могут участвовать в переносе возбудителей в процессе миграций. Мигрирующие птицы могут являться биологическими либо механическими переносчиками патогенов, а также переносить инфицированных эктопаразитов на новые территории.

В рамках данного исследования проводился отлов перелетных птиц в период сезонных миграций, отбор проб крови и детекция ДНК *Coxiella burnetii*. Отлов птиц проводился на стоянках по пути пролета в период весенних и осенних миграций птиц в 2011–2013 гг. (южная часть Черноморского побережья Болгарии, Атанасовское озеро; северо-восточная часть Черноморского побережья Болгарии, озеро Даранкулак). Детекция *C. burnetii* в пробах проводилась методом стандартной ПЦР с использованием праймеров к генам супероксид-дисмутазы *sod* и мембранного белка *Com1*.

Всего было исследовано 888 образцов крови птиц. Положительными на присутствие ДНК коксиеллы были образцы крови четырех птиц, отловленных в районе Атанасовского озера: 3 пробы от пеночки-веснички (*Phylloscopus trochilus*) и 1 проба от соловья западного (*Luscinia megarinchos*). Пораженность коксиеллами птиц составила 0,45%.

Обнаружение ДНК *C. burnetii* в крови птиц, по-видимому, может свидетельствовать об их относительно недавней инфицированности патогеном и подтверждает возможность участия птиц в качестве переносчиков *C. burnetii* в природных очагах.

Исследование поддержано грантами Института Пастера № АСIP-08-2010 и № 59-2013.

АПРОБАЦИЯ ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К Vi-АНТИГЕНУ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРЮШНОГО ТИФА

Е.Л. Петрова¹, Н.К. Мирошникова¹, С.Б. Ибраева², В.Н. Вербов¹, Л.А. Кафтырева¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

²Департамент профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора, Бишкек, Кыргызстан

Брюшной тиф — антропонозная кишечная инфекция, вызываемая *Salmonella typhi*. У части переболевших формируется хроническое бактерионосительство

ство, которое способствует возникновению новых случаев заболевания. Поэтому исследование сывороток крови декретированного контингента на наличие антител к Vi-антигену в Российской Федерации является обязательным (СП 3.1.1.2137-06 № 31).

Цель работы заключалась в апробации нового эритроцитарного диагностикума для выявления хронического бактерионосительства возбудителя брюшного тифа путем выявления антител к Vi-антигену в реакции пассивной гемагглютинации.

Работа проводилась в Республике Кыргызстан в период 2003–2013 гг. Исследовано 470 образцов сывороток, собранных от лиц, переболевших брюшным тифом в последние десять лет. Диагноз был подтвержден выделением возбудителя из крови и фекалий. Выявление Vi-антител проводили с использованием «Диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного Vi-антигенного жидкого» от двух производителей: экспериментальные серии производства НИИЭМ им. Пастера (Санкт-Петербург) и производства ООО «Биодиагностика» (Москва). Кроме того, в сыворотке крови, переболевших брюшным тифом, определяли антитела к O-антигенному комплексу сальмонелл группы Д с помощью «Диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного O-антигенного жидкого», производства ООО «Биодиагностика» (Москва).

По суммарным данным, Vi-антитела обнаружены в 114 сыворотках (24,3%), O-антитела — в 171 сыворотке (36,4%), причем в 54 сыворотках обнаружены Vi- и O-антитела (11,5%); в 60 образцах — только Vi-антитела (12,8%), в 117 образцах — только O-антитела (24,9%).

Результаты серологического исследования сывороток лиц, переболевших брюшным тифом, показали, что у 12,8% обследованных после перенесенного острого заболевания брюшным тифом, возможно, сформировалось хроническое носительство возбудителя брюшного тифа, о чем свидетельствовало наличие Vi-антител. Реконвалесценты брюшного тифа выявлены в 11,5% случаев по наличию Vi- и O-антител. В целом, Vi-антитела в диагностических титрах выявлены у 24,3% обследованных.

Расхождений в результатах при использовании Vi-диагностикумов разных производителей не обнаружено. Следует отметить, что разработанный нами диагностикум имеет ряд практических преимуществ: 1) более четкая регистрация положительных и отрицательных результатов (за счет сенсбилизации эритроцитов хроматографически очищенным Vi-антигеном); 2) быстрое получение результатов (30 мин против 60 мин) за счет использования куриных эритроцитов; 3) визуальный контроль стадии внесения сыворотки за счет изменения цвета раствора-разбавителя.

РОЛЬ НЕКОТОРЫХ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ЛЕПТОСПИРОЗОВ

О.А. Петрова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Лептоспироз является одной из наиболее широко распространенных и социально значимых зооантропонозных инфекций. Полиморфизм клинических проявлений лептоспирозов и отсутствие патогномичных симптомов болезни приводят к поздней диагностике, нерациональному лечению, что явля-

ется одной из причин высокой летальности при этой инфекции, достигающей на некоторых территориях 25%. Новые данные помогут уточнить иммунопатогенез данного заболевания и помогут обосновать инновационные подходы в современной тактике комплексной терапии заболевания (иммунокоррекция).

Цель работы. Изучение роли про- и противовоспалительных цитокинов для углубления знаний об иммунопатогенезе лептоспирозов.

Материалы и методы. Объектом исследования служили сыворотки крови от больных лептоспирозом ($n = 86$) и 14 сывороток от практически здоровых лиц. Количественное измерение цитокинов проводили на анализаторе «MagPix» («Millipore», США), основанном на технологии xMAP (мультиплексный анализ) с использованием магнитных частиц «Milliplex Mag». Математическую обработку данных осуществляли с применением программы GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, США). Для описания полученных результатов использовались стандартные методы непараметрической статистики.

Результаты. В группе больных лептоспирозом по сравнению с контрольной группой выявлены достоверно повышенные уровни IL-8, IL-10, MCP-1, TNF α ($p < 0,05$). Проведен корреляционный анализ полученных результатов содержания цитокинов в сыворотке крови с помощью мультиплексного анализа, выявлены корреляционные связи между TNF α и MCP-1, TNF α и IL-1R α ($r = 0,51$; $r = 0,49$ соответственно), такие же связи были обнаружены и в группе контроля (но более сильные: $r = 0,69$ для обоих случаев). Так же была выявлена корреляционная связь между IL-12 (p70) и IFN γ ($r = 0,55$) в опытной группе, нехарактерная для группы контроля.

Выводы. Получены новые данные о содержании цитокинов у больных лептоспирозом и у практически здоровых лиц. Мы получаем новые знания о взаимодействии цитокинов и механизмах иммунопатогенеза лептоспирозов.

ФОРМИРОВАНИЕ CD4⁺ И CD8⁺ Т-КЛЕТОК ИМУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ У ВОЛОНТЕРОВ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ЖИВЫМИ АТТЕНУИРОВАННЫМИ ГРИППОЗНЫМИ ВАКЦИНАМИ А (H5N2) И А (H1N1)pdm2009

Г.Д. Петухова, И.В. Лосев, С.А. Доница, А.Н. Найхин

ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Высокая патогенность некоторых птичьих вирусов гриппа А позволяет считать их потенциально пандемическими для человеческой популяции. За 2003–2014 гг. было зарегистрировано 650 случаев инфицирования людей вирусами А (H5N1), из них 386 летальных. Кроме того, в 2009 г. мир столкнулся с пандемией нового гриппа А (H1N1). Вакцинация признана одним наиболее эффективных видов профилактики заболевания в периоды эпидемий и пандемий. Основной целью любой вакцинации является формирование клеток иммунологической памяти, обеспечивающих ускоренный и усиленный иммунный ответ при повторной встрече с возбудителем инфекции. Целью настоящего исследования являлась оценка способности живых гриппозных вакцин (ЖГВ) А/17/Утка/Потсдам/86/92 (H5N2) и А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) индуцировать формирование CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток иммунологической памяти у людей.

Материалы и методы. Молодые люди 18–20 лет были двукратно привиты ЖГВ А (H5N2), А (H1N1) pdm2009 или препаратом плацебо. Образцы венозной крови и носовых секретов собирали до вакцинации (день 0), через 21 день после первой вакцинации (день 21), через 21 день после ревакцинации (день 42) и через 42 дня после ревакцинации (день 63). Для определения титров сывороточных и локальных антител использовали РТГА и иммуноферментный анализ. Процент вирус-специфических CD3⁺CD4⁺IFN γ ⁺ и CD3⁺CD8⁺IFN γ ⁺ определяли методом проточной цитометрии.

Результаты. Обе ЖГВ стимулировали продукцию как сывороточных, так и локальных антител. У части непривитых людей обнаруживались перекрестно реагирующие Т-клетки к птичьему вирусу А (H5N2). Такие же клетки к вирусу А (H1N1)pdm2009 выявлялись еще до его эпидемического распространения в 2009–2010 гг. Процент таких преобладающих клеток существенно варьировал. После первой вакцинации достоверное увеличение уровней клеток происходило к вирусу А (H5N2) у 10–20% волонтеров, к вирусу А (H1N1) — у 38–69% лиц. После ревакцинации эти цифры увеличились до 30–40% и 69–75% соответственно. Выявлена обратная зависимость между уровнями вирусспецифических Т-клеток до и после вакцинации. Кроме того, введение ЖГВ А (H5N2) индуцировало гетеросубтипический иммунный ответ к другому серотипу вируса гриппа А.

Выводы. Обе изученные вакцины — А/17/Duck/Potsdam/86/92 (H5N2) и А/17/California/2009/38 (H1N1) — индуцировали гуморальный и Т-клеточный иммунный ответ у волонтеров. ЖГВ А (H1N1) стимулировала продукцию вирусспецифических CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в большей степени, чем А (H5N2). Клетки иммунологической памяти, индуцированные вирусом А/17/Duck/Potsdam/86/92 (H5N2) обладали кроссреактивностью в отношении сезонного штамма А (H1N1).

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И ЦИТОПАТОГЕННОСТИ ГЛИКОПРОТЕИНА КАПСУЛЫ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* 100 НА МОДЕЛИ ПЕРЕВИВАЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ

Е.В. Пименова, Н.П. Храпова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

На сегодняшний день существует несколько альтернативных способов получения результатов по оценке токсичности различных соединений (химических и биологических). Одним из важных преимуществ моделей *in vitro* заключается в возможности работы со стандартными перевиваемыми линиями клеточных культур с известными свойствами. Модель *in vitro* обеспечивает хорошую воспроизводимость на всех этапах работы в связи с их однородной морфологией и характеристиками роста.

В качестве экспериментальной модели использовали культивируемые *in vitro* клетки линии L929, полученной из банка клеточных культур позвоночных института цитологии РАН, Санкт-Петербург). Пластины с высевами клеточных культур инкубировали в CO₂-инкубаторе при 37°C, и насыщении атмосферы 5–7% CO₂. Культивирование проводи-

ли в полусинтетической питательной среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной сыворотки плодов коровы, 2 мМ глутамина, 4 мМ пирувата натрия, пенициллин 100 ЕД/мл, стрептомицин 100 мкг/мл. Для посева клеток использовали раствор трипси-на-версена 1:3.

Проверке цитотоксичности и цитопатогенности подлежали 7 образцов формамидных экстрактов (ФЭ) *B. pseudomallei* 100, серии 5, 7, 16, 19, 22, 23, 24. Свежеприготовленную взвесь клеток вносили в 24-луночные пластины с концентрацией клеток в каждой лунке $1,6 \times 10^5$ в объеме 0,5 мл. Через сутки после образования плотного монослоя в опытные лунки вносили по 40 мкл одного из вариантов антигена. Время прямого контакта клеток-мишеней с антигеном составлял 3 суток; условия инкубации, как описано выше.

Ежедневно в течение срока эксперимента производили подсчет жизнеспособности, оценку роста клеток и оценку повреждения клеток в каждой лунке. После окончания опыта рассчитывали относительные показатели прироста или убывания числа клеток в популяции L929.

К концу 3 суток было зарегистрировано торможение роста популяции в лунках с антигеном серий 5, 16, 19, 24 по сравнению с контрольными лунками, что свидетельствовало об отсроченном цитопатогенном эффекте гликопротеина капсулы *B. pseudomallei* 100 этих образцов 5, 16, 19, 24 на клетки-мишени.

ПУТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БЕШЕНСТВА НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Е.М. Поleshuk¹, А.А. Девяткин², М.В. Бекова², В.Г. Дедков²

¹ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора

²ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Бешенство включено в кодекс здоровья наземных животных и признано заболеванием, имеющим значение для международной торговли (ОIE). Оно входит в пятерку инфекционных болезней, общих для человека и животных, наносящих наибольший экономический ущерб, является серьезной проблемой общественного здравоохранения (WHO). В этих условиях решающую роль играет быстрая и надежная лабораторная диагностика. Бешенство — зооноз, для которого методы диагностики стандартизированы на международном уровне.

На территории России диагностику инфекции определяют ГОСТ 26075-84 и МУ от 14 мая 1997 г., включающие методы: МФА, ИФА, гистологический (обнаружение телец Негри), реакция преципитации, биопроба. Наибольшее распространение в лабораторной практике получили МФА, ИФА, биопроба.

Случайное использование молекулярно-генетических методов, при подтверждении диагноза у людей больных энцефалитом неясной этиологии, позволило констатировать бешенство в трех случаях, дополнительно к данным официальной статистики (Леонова и др., 2009; Дедков и др., 2014), что позже было подтверждено стандартными методами. Эти факты указывают на несомненную роль в диагностике бешенства молекулярно-генетических методов, рекомендованных ВОЗ, в качестве дополнительных.

Ретроспективная расшифровка случаев заболеваний бешенством людей является основанием для совершенствования лабораторной диагностики и оптимизации надзорных мероприятий.

Использование ПЦР в лабораторной диагностике требует стандартизированного, сертифицированного набора реагентов для выявления РНК. С этой целью авторами разработана тест-система для выявления РНК вируса бешенства методом ПЦР в формате real-time. Эффективность ее работы подтверждена на полевом материале ($n = 128$), полученном от разных видов животных, содержащем вирусы 4-х филогрупп классического вида ($n = 50$), выявленные на территории России. Вирусы детектированы и идентифицированы ранее в МФА, ИФА, биопробе, ПЦР с форежной детекцией с использованием секвенирования. Диагностическая чувствительность системы составила 100%, аналитическая специфичность — 100%.

В дальнейшем, следует рассмотреть вопрос о необходимости обязательного исследования на лисса-вирусы материала от людей, погибших от энцефалита неясной этиологии, методом ПЦР.

ЗАБОЛЕВАНИЯ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ДЕТЕЙ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

А.А. Пономарева¹, Т.М. Конышкина¹, С.В. Кононова¹, Н.Н. Чеснокова¹, Е.В. Алакаева¹, И.В. Жданович¹

ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия МЗ РФ

В ходе проведенного исследования ретроспективно были проанализированы истории болезни 383 пациентов с острым синуситом и 219 пациентов с внебольничной пневмонией, получавших лечение в детской больнице в 2010 и 2012 гг.

В ЛОР отделении детской больницы находились на лечении дети с различными клиническими формами острого синусита: отечно-катаральная форма — 67%; гнойный синусит — 5%; гемисинусит — 5%; пансинусит — 23%.

При анализе историй болезни детей с внебольничной пневмонией выяснилось, что у 86% пациентов имело место заболевание средней степени тяжести, а у 14% наблюдалось тяжелое течение болезни.

Бактериологические исследования проводились с целью выявления бактериального агента, а также его вида для принятия решения о назначении необходимого антибиотика или смене неэффективного препарата.

а) Острый синусит. В 2012 г. бактериологический анализ при остром синусите проводился в 47,5% случаев, что всего лишь на 2,24% больше, чем в 2010 г., причем в 98% случаев бактериологический анализ проводился уже после того, как пациент начинал получать АБТ. Положительные результаты бактериологического анализа были получены лишь в 28% случаев, в 72% случаев результаты оказались отрицательными. Выявлены следующие возбудители заболевания: *Streptococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) — в 40 случаях, *S. aureus* — в 4 случаях, *S. pneumoniae* — в 3 случаях, *Haemophilus influenzae*, бактерии рода *Enterobacter* и *Klebsiella* — встречались в единичных случаях.

б) Внебольничная пневмония. Бактериологический анализ при лечении внебольничных пневмоний в 2012 г. проводился лишь у 27 пациентов из 219,

что составило 12%. Это на 23% меньше, чем в 2010 г. Таким образом, проведение бактериологического анализа в 2012 г. сократилось, по сравнению с 2010 г. Результаты оказались положительными в 20 случаях (74%) из 27. Выявленные возбудители заболевания: *P. aeruginosa*, бактерии рода *Klebsiella*, грибы рода *Candida*, бактерии рода *Enterobacter*, бактерии рода *Acinetobacter*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. catarrhalis* встречались одинаково часто.

ФОРМИРОВАНИЕ ОЧАГОВ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В УРБАНИЗИРОВАННЫХ БИОЦЕНОЗАХ САРАТОВА

А.М. Поршаков, С.А. Яковлев, К.С. Захаров

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов

В настоящее время для многих стран мира актуальной является проблема расширения нозоареала лихорадки Западного Нила (ЛЗН). Ключевую роль в трансмиссивной передаче и сохранении ВЗН играют кровососущие комары. Исследования осуществляли с сентября по ноябрь 2013 г. в закрытых биотопах (подвалы, подъезды многоэтажных домов) в районах эпидемических проявлений ЛЗН на территории Саратова. В ходе исследования были проведены учеты численности имаго и личинок комаров *Culex pipiens*. Установлена высокая численность переносчиков: в подвалах — от 10 до 800 экз. на 1 м², в подъездах — от 1 до 30 экз. Численность личинок в затопленных подвалах составила от 600 до 3800 экз. на 1 м².

В подвалах и подъездах многоэтажных домов со стен и потолков было собрано 9317 экземпляров комаров. Для исследования было сформировано 186 проб, из них антигены ВЗН выявлены в 3 пробах, что составляет 1,6%. За период работы было собрано 6800 экз. личинок, объединенных в 136 проб. Из этого количества в 5 пробах (3,7%) были выявлены антигены ВЗН.

Для изучения вылета выплывающихся комаров в затопленном подвале был использован стационарный имагоуловитель (для отлова вылетающих амфибиотических насекомых). Его нижняя рамка (площадью 0,5 м²) устанавливалась на дно затопленной части подвала, боковые стенки из плотной ткани препятствовали двухсторонней миграции личинок. Ловушка сконструирована так, что выплывшие из куколки комары остаются внутри имагоуловителя и не имеют возможности разлета и питания, а также препятствует попаданию насекомых извне. Для исследования из выплывших имаго было сформировано 49 проб. Антигены ВЗН были выявлены в 4 пробах (8,2%).

Таким образом, в результате обследования урбанизированных биоценозов Саратова выяснили, что в затопленных теплых подвалах многоэтажных домов складываются оптимальные микроклиматические условия для круглогодичного развития всех стадий комаров. В таких условиях возможно формирование стойких микроочагов ЛЗН. В процессе проведенных исследований была выявлена трансвариальная и трансфазовая передача ВЗН в популяции комара *C. pipiens*. Автогенно размножающиеся самки подвальных комаров этого вида вполне могут обеспечивать сохранение вируса в межэпидемический период в урбанизированных биоценозах.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АДАПТАЦИИ ВИРУСА ГРИППА А/Н1Н1 С ПАНДЕМИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/c И ЛИНИИ C57BL/6z

Е.А. Прокопьева^{1,2}, М.В. Сивай^{1,2}, А.В. Глушенко¹,
Л.В. Шестопалова², А.М. Шестопалов^{1,2}

¹ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной
медицины СО РАМН, г. Новосибирск

²ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет

Причиной пандемии XXI века стал вирус гриппа А (H1N1)pdm09, который вызывал заболевание от легкой степени тяжести до летальных исходов в зависимости от вирулентности штамма и наличия факторов риска у пациента. В связи с тем, что данный патоген обладал высокой степенью трансмиссивности (способность эффективно передаваться от человека к человеку), появилось опасение, что в случае усиления вирулентных свойств вследствие адаптации к организму человека, возникнет новый адаптированный вариант, обладающий весьма значительным эффектом на здоровье населения планеты. Целью работы явилось изучение особенностей течения гриппозной инфекции в условиях лабораторной адаптации вируса гриппа А (H1N1)pdm09 к организму мышей линии BALB/c и линии C57BL/6z.

В лабораторных условиях ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» был проведен эксперимент по увеличению вирулентности пандемического вируса гриппа А (H1N1)pdm09 путем серийных «слепых» пассажей через легкие мышей линии C57BL/6z (n = 245). В результате работы был получен высокопатогенный штамм, вызывающий тяжелое заболевание и гибель мышей линии C57BL/6z, задепонированный под названием А/Tomsk/13-C57BL_6z/2010-МА (H1N1) в государственную коллекцию вирусов РФ. Стопроцентная летальность для мышей линии C57BL/6z была достигнута к 12 пассажу, что значительно позднее по сравнению с полученным ранее адаптированным вариантом вируса гриппа на мышах линии BALB/c, среди которых 100%-ная смертность регистрировалась к 7 пассажу. С целью выявления особенностей течения гриппозной инфекции в четко дифференцированных друг от друга генетических группах было проведено перекрестное инфицирование. Результат эксперимента показал низкую вирулентность штамма А/Tomsk/13-C57BL_6z/2010-МА (H1N1) для мышей линии BALB/c. Кроме того, проанализированы современные данные о роли отдельных сегментов генома в повышении вирулентности вируса гриппа в условиях лабораторной адаптации в ткани легких мышей. Обсуждается значение молекулярных основ и механизмов адаптации вируса гриппа.

КЛОНИРОВАНИЕ, СЕКВЕНИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО НЕКРОТИЗИРУЮЩЕГО ФАКТОРА *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

Е.К. Псарева^{1,2}, Н.Ф. Тимченко¹, К.А. Собянин²,
Н.В. Смирнова², С.А. Ермолаева²

¹ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова
СО РАМН, г. Владивосток

²ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
МЗ РФ, Москва

К настоящему времени есть сведения о нескольких белковых токсинах *Y. pseudotuberculosis*: термолабильном и термостабильном летальных белковых

токсинов (HLT, HST), цитотоксине YopE, суперантигене YPM, факторах, нарушающих проницаемость сосудов кожи — RF-раннем и RF-позднем, цитотоксическом некротизирующем факторе (CNF), которые играют важную роль в патогенезе псевдотуберкулезной инфекции. CNF принадлежит к уникальной группе крупных цитотоксинов, модифицирующих Rho-белки, которые являются регуляторами актинового цитоскелета клетки и активируют белки RhoA, путем дезаминирования Gln63.

Цель: клонировать ген *cnf Y. pseudotuberculosis* в клетки *E. coli*, провести секвенирование и анализ последовательности с целью изучения биологической активности очищенного рекомбинантного белка CNF.

В работе использован штамм *Y. pseudotuberculosis* 2517 III серовара (получен от Н. Mollaret, Франция). Ген *cnf* амплифицирован в термоциклере, с использованием праймеров 5'-GTTGCAAACCTTCCGT-CCCCA-3', 3'-ACGGCGAAGCTTGATAATTGCTT-5', в качестве матрицы использовали лизат штамма 2517. ПЦР-продукт клонировали в вектор pCR 8GW-TOP0, несущий ген устойчивости к спектомицину, лигазную смесь трансформировали в штамм *E. coli* JM 109. Отбор проводили на среде LB, содержащей spect 100 мкг/мл. Клоны, содержащие вставку, определяли с помощью ПЦР. Выделенную рекомбинантную плазмиду секвенировали в ЦКП «Геном». Результаты секвенирования анализировали программой «Chromas Lite Application 2.1.1.0».

В результате клонирования получена рекомбинантная плазмида, содержащая вставку около 3000 п.н. Сравнение полученной последовательности с геном *cnf Y. pseudotuberculosis*, штамма YPIII, представленного в базе данных GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/12018165>, показал, что ген *cnf* штамма 2517 идентичен на 99,9%, и содержит 3 точечные мутации: A578G, A904G, G1183A, в результате которых в последовательности белка произошли аминокислотные замены Asn192Ser, Glu301Gly, Ala394Thr. Клоны предполагается использовать для получения рекомбинантного белка CNF с целью изучения биологических свойств токсина.

Планируется аналогичное исследование *cnf* в штаммах *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в ходе эпидемических вспышек Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки — новой клинико-эпидемической формы псевдотуберкулеза, впервые выявленной на Дальнем Востоке России в 1960 г. Предварительные результаты свидетельствуют о наличии у штаммов, связанных со вспышками ДСЛ, протяженной делеции в гене *cnf* (Timchenko N.F. et al., 2012).

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИИ АЭРОЗОЛЬНОГО РАСПЫЛЕНИЯ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ В МИНИМИЗАЦИИ ФАКТОРОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА НАКОПЛЕНИЕ РЕЗИДЕНТНЫХ ШТАММОВ НА ОБЪЕКТАХ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ РОДДОМОВ

А.П. Ребешенко, А.С. Корначев, А.А. Вакарина,
Л.В. Катаева

ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии
Роспотребнадзора, г. Тюмень

Для повышения результативности биологической безопасности (ББ) роддомов апробирована технология дезинфекции помещений и оборудования

с помощью аэрозольного распыления генератором «Ультраспрейер» дезинфектанта на основе перекиси водорода. Объектом исследования являлся роддом № 2 г. Тюмени, где на основе технологии РОУС оказывалась медицинская помощь женщинам с беременностью с 36 недель без соматической патологии. Целью настоящего исследования являлась оценка результативности данной технологии в минимизации угрозы накопления на объектах производственной среды резидентными штаммами с высокой резистентностью к антибиотикам. В качестве измерителя результативности использовались данные бактериологических исследований смывов, отбираемых ежеквартально в процессе работы стационара с объектов производственной среды, рук и одежды персонала и родильниц. Группа наблюдения включала в себя результаты наблюдения за ББ роддома с мая по декабрь 2010 г. Моментом ее создания явилось начало использования в стационаре генератора «Ультраспрейер». Группа контроля охватывала период 2009 г. и первых четырех месяцев 2010 г., когда в стационаре дезинфекция осуществлялась рутинным методом орошения поверхностей. В группе наблюдения был отобран 301, а группа контроля включала 620 смывов.

Установлено, что технология аэрозольного распыления дезинфектантов уменьшила интенсивность контаминации объектов производственной среды неферментирующими грамотрицательными бактериями. В группе наблюдения шансы встречаемости этих микробов на объектах производственной среды по сравнению с группой контроля, снизились в 2 раза (ДИ 1,1–3,6). Кроме этого индекс полирезистентности (ИПР) к десяти индикаторным антибиотикам у микробов, обнаруженных в смывах, отобранных в опытной группе, был на 9,2% ниже, чем в группе контроля (28,4 против 37,56%). Наиболее значимые результаты получены в комнатах гигиены и санузлах, где ИПР бактерий сократился на 34,1% (с 41,9 до 27,6%). Ключевую роль в этом сыграл процесс, обеспечивающий ББ санитарно-технического оборудования, установленного в санузлах и комнатах гигиены.

ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ СИСТЕМЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ АКУШЕРСКИХ СТАЦИОНАРОВ

А.П. Ребещенко, А.С. Корначев, А.А. Вакарина, Л.В. Катаева

ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень

Профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в роддомах обусловлена результативностью системы биологической безопасности (ББ), которая призвана минимизировать факторы, обеспечивающие активизацию механизмов формирования и распространения резидентных штаммов (РШ), способных выживать в экстремальных условиях больницы. Цель исследования — разработка подходов к многоэтапной проспективной оценке результативности системы ББ роддомов в минимизации данных факторов. Разработанная оценка включала семь этапов. На 1-м измерялись шансы роста микробов в смывах с объектов производственной среды, критерий — рост бактерий на 100 смывов. На 2-м этапе оценивался уровень бактериального загрязнения объектов производственной среды (КОЕ микробов в одном смыве). На 3-м этапе определялись

шансы встречаемости отдельных бактерий (доля отдельных видов микробов в общем количестве бактерий, обнаруженных в смывах). На 4-м этапе измерялся уровень накопления РШ на объектах производственной среды. Для оценки использовался индекс полирезистентности (ИПР) к десяти индикаторным антибиотикам у микробов, обнаруженных в смывах. В ходе 5-го этапа оценивалась интенсивность колонизации РШ пациентов. Индикатор — ИПР у бактерий, выделенных от пациентов. На 6-м этапе измерялся уровень инфекционной заболеваемости пациентов, в пересчете на 1000 родов или живорожденных новорожденных. На 7-м этапе определялись шансы встречаемости родильниц, неудовлетворенных качеством медицинского обслуживания, включая обеспечение ББ. Критерий — частота встречаемости ответов, отражающих уровень неудовлетворенности родильниц качеством обслуживания. Результаты 1-го, 3-го и 7-го этапов оценки измерялись 95% доверительными интервалами отношения шансов в группах контроля и наблюдения. Итоги 2-го, 4-го, 5-го и 6-го этапов оценивались t-критерием и его значимостью, а также 95% доверительными интервалами разности величины критериев, выбранных для соответствующего этапа оценки, в группах контроля и наблюдения. С помощью разработанных подходов оценена результативность аэрозольного распыления дезинфектантов в минимизации угрозы накопления РШ на объектах производственной среды роддомов и колонизации этими штаммами новорожденных и родильниц. Оцениваемая технология показала позитивные результаты, обладающие высокой статистической значимостью, по пяти этапам оценки.

ОСТРОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С ГЛПС ПО ДАННЫМ СПБ КИБ им. С.П. БОТКИНА

В.Д. Ренев¹, А.Г. Шевалдин¹, Л.Р. Городничева²

¹ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный

медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

² ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург

Введение. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) является одной из самых актуальных среди нетрансмиссивных природно-очаговых инфекций в Российской Федерации. За период 2011–2013 гг. в РФ зарегистрировано 17 217 случаев ГЛПС, в Санкт-Петербурге около 100 случаев. Острое повреждение почек (ОПП) как ведущий синдром ГЛПС часто определяет ее летальность и длительность пребывания больных в стационаре.

Цель. Проанализировать ОПП у пациентов с ГЛПС, госпитализированных в КИБ им. С.П. Боткина с 2011 по 2013 гг.

Материалы и методы. Проанализировано 50 историй болезни пациентов с ГЛПС, с применением описательно-оценочного метода. У 48 больных диагноз был подтвержден с помощью МФА, у 2-х — посредством ИФА.

Результаты. Основными клиническими проявлениями ГЛПС были: выраженный интоксикационный синдром с лихорадкой (100%), дискомфорт в поясничной области (44%), снижение суточного диуреза (28%), снижения остроты зрения (24%). У 88% ГЛПС протекала в среднетяжелой форме. Олигурический период ГЛПС отмечали у 28% больных, анурия была выявлена в 2 случаях. Средний

уровень креатинина сыворотки крови при поступлении в стационар составил $0,191 \pm 0,027$ ммоль/л, при выписке — $0,086 \pm 0,004$ ммоль/л ($p = 0,01$). Согласно практическим рекомендациям KDIGO (2012) с использованием диагностических критериев RIFLE и AKIN у 32% больных отмечалось ОПП. ОПП 1 степени — «риск» — выявили у 6% больных, 2 степени — «повреждение» — у 12%, 3 степени — «почечная недостаточность» — у 14%. У больных с тяжелой формой ГЛПС уровень мочевины и креатинина в крови в разгар заболевания был почти в 2 раза выше, чем при форме средней тяжести ($p \leq 0,03$). Длительность пребывания в стационаре больных с ОПП 2 и 3 степени была в 2 раза больше, чем у больных с ОПП 1 степени ($16,8 \pm 1,6$ и $8,3 \pm 3,5$ дней соответственно).

Заключение. В Санкт-Петербурге среди госпитализированных преобладают пациенты со среднетяжелой формой ГЛПС (88%), вместе с тем, у $1/3$ больных выявлены признаки острого повреждения почек, которое достоверно увеличивает продолжительность стационарного лечения. Современные критерии AKIN позволяют диагностировать ОПП на ранних этапах заболевания.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ИЛИ МИКРОСКОПИЯ? МЕЖДУНАРОДНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО СРАВНЕНИЮ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВАГИНОЗОВ

Т.А. Румянцева¹, А.Е. Гушин¹, Г. Дондерс²

¹ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

²Femicare, Tienen, Бельгия

Цель исследования. Целью данного исследования стало сравнение информативности набора реагентов для диагностики БВ, разработанного в ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва, Россия), микроскопии окрашенного препарата с оценкой баллов Nugent и микроскопии нативного препарата с оценкой лактобациллярной степени.

Материалы и методы. В исследование были включены 100 пациенток, проходивших ежегодную диспансеризацию. От каждой пациентки было получено 3 вагинальных образца: 1 помещали в пробирку с транспортной средой для дальнейшего исследования методом ПЦР, 2 наносили на отдельные стекла для дальнейшей микроскопии нативного и окрашенного препарата. Стекла для проведения микроскопического исследования были высушены на воздухе и отправлены в клинику Femicare (Бельгия) для дальнейшего слепого анализа. Для проведения ПЦР использовали набор реагентов, разработанный в ЦНИИЭ Роспотребнадзора. В основе работы данного набора реагентов лежит количественная оценка *G. vaginalis*, *A. vaginae*, *Lactobacillus* spp. и общего количества бактерий в мультиплексном формате в биологическом материале (вагинальные образцы). Сравнение полученных концентраций позволяет судить о наличии бактериального вагиноза у пациентки.

Результаты. Совпадение результатов трех методов получено для 73,5% образцов. Совпадение результатов оценки по Nugent и ПЦР составило 78,6%, нативной микроскопии и ПЦР — 82,65%, нативной микроскопии и оценки по Nugent — 85,7%. Диагностическая чувствительность и специфичность изученных методов составила: 75 и 97,1% для оценки по Nugent; 96,4 и 94,3% для микроскопии нативного препарата; 92,8 и 85,7% для ПЦР соответственно.

Заключение. Совпадение результатов трех методов оказалось недостаточно высоким, однако совпадение результатов только микроскопических методов было близким к совпадению микроскопии нативного препарата и ПЦР. Показано, что изучаемый ПЦР-тест обладает достаточно высокой чувствительностью, чтобы использоваться для диагностики бактериального вагиноза в России.

СНИЖЕНИЕ КАЧЕСТВА СЕМЕННОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ КОНЦЕНТРАЦИИ ДНКазы ЭЯКУЛЯТА

А.А. Савельева, А.Ю. Савочкина, В.Б. Маякова, Е.А. Мезенцева

ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Челябинск

Согласно данным официальной статистики доля бесплодных пар в России составляет 15%. Мужской фактор бесплодия регистрируется в 45% случаев. Поэтому приоритетным направлением является детальный анализ семенной жидкости. Известно, что эякулят обладает ДНКазной активностью. Abdorahman S. и др. сообщают об увеличении фертильности у животных, которое обеспечивается расщеплением экстрадированной нейтрофилами ДНК, что способствует свободному прохождению сперматозоидов к месту оплодотворения. Возможно, с активностью данного фермента связаны также характеристики семенной жидкости.

Для решения поставленной задачи было обследовано 17 здоровых мужчин, которые вошли в группу контроля (все показатели спермограммы, указанные в Руководстве ВОЗ, находились в пределах нормы, концентрация ДНКазы — $3,92 \pm 0,06$ нг/мл).

Группы сравнения сформированы среди мужчин, концентрация ДНКазы эякулята которых имеет статистически значимые изменения: 1) Увеличение концентрации ДНКазы — $4,51 \pm 0,11$ нг/мл ($n = 7$); 2) Незначительное снижение ДНКазы — $3,43 \pm 0,6$ нг/мл ($n = 8$); 3) Резкое снижение ДНКазы — $1,79 \pm 0,41$ нг/мл ($n = 10$). Концентрация ДНКазы определялась методом иммуноферментного анализа набором DNase ELISA Kit.

При изучении показателей семенной жидкости группы 1 были получены следующие результаты: семенная жидкость обладает повышенной вязкостью $3 \pm 0,29$ см, а также характеризуется снижением концентрации сперматозоидов $36,79 \pm 3,9$ млн/мл по сравнению с группой контроля и соответственно снижением общего количества сперматозоидов $107,72 \pm 11,65$ млн/мл.

Группы 2 и 3 характеризуются сдвигом pH от $7,48 \pm 0,09$ до $7,79 \pm 0,08$ и $7,91 \pm 0,06$ соответственно. В группе 2 следует отметить снижением концентрации сперматозоидов и снижением общего количества сперматозоидов. Кроме того, при резком снижении концентрации ДНКазы регистрируется состояние олигоастенозооспермии в сочетании с пониженной жизнеспособностью сперматозоидов по сравнению с группой контроля.

Таким образом, изменения ДНКазной активности эякулята коррелируют со снижением концентрации сперматозоидов, вплоть до состояния олигозооспермии. Кроме того, снижение концентрации ДНКазы обуславливает сдвиг pH в щелочную сторону.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

С.К. Сайфуллина

ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

Цель исследования: оценить эффективность лабораторных методов диагностики верификации возбудителей инфекционных диарей.

Материалы и методы: обследовали 62 больных острыми кишечными инфекциями, находившихся на лечении в КИБ им. С.П. Боткина, с февраля 2013 г. по январь 2014 г. Диагноз заболевания устанавливали на основании клинико-эпидемиологических данных и результатов верификации возбудителя: ОКИ бактериальной этиологии — бактериологический и молекулярно-генетический методы; ОКИ вирусной этиологии — серологический и молекулярно-генетический методы.

Результаты. Средний возраст больных составил $26,4 \pm 7,2$ лет (от 18 до 65 лет), из них 66% мужчины (41 человек). Больным, поступавшим в стационар на $2,6 \pm 1,1$ день болезни, был установлен диагноз «острая кишечная инфекция, средняя степень тяжести».

У 17 больных (27%) не удалось определить возбудитель заболевания ни одним из используемых лабораторных методов. В этиологической структуре у обследованных больных сальмонеллез составил 51% (32 человека), при этом у 30 диагноз установлен с применением метода ПЦР, из них у 17 пациентов подтвержден бактериологически, 2 больным диагноз поставлен на основании положительного бактериологического исследования. Лишь проведение ПЦР-исследования позволило идентифицировать эшерихиоз у 5 больных, дизентерию — у 2, вирусные диареи (как моноинфекцию) — у 2 человек, и кампилобактериоз — у 4 пациентов; вирусные диареи и кампилобактериоз (как микстинфекцию) — у 12 и 10 пациентов соответственно. Обращало на себя внимание частое выявление молекулярно-генетическим методом ассоциаций возбудителей ОКИ. Так, у больных сальмонеллезом бактериально-бактериальные ассоциации регистрировались у 8 человек и бактериально-вирусные у 10, из них у 5 пациентов одновременно выявляли 3 возбудителя ОКИ. Таким образом, для улучшения качества диагностики острых кишечных инфекций может быть рекомендовано использование метода ПЦР-исследования фекалий в сочетании с бактериологическим и серологическим методами обследования. Быстрое получение результатов молекулярно-генетического и серологического методов позволяет назначать оптимальную этиотропную терапию в кратчайшие сроки. Определенные клинические трудности представляет формулирование диагноза при выявлении ассоциаций возбудителей ОКИ.

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ IL-2 ПРИ HELICOBACTER PYLORI-ИНФЕКЦИИ

Ю.В. Саранчина, Е.С. Агеева

ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

Основную роль в реализации адаптивного иммунного ответа против *H. pylori* играет IL-2. Цитокин продуцируется преимущественно Th1-лимфоцитами. IL-2 является ключевым регулятором,

поддерживающим баланс Th1/Th2-путей иммунного ответа. Известно, что при *H. pylori*-инфекции основным звеном патогенеза является нарушение механизмов Th1/Th2-пути, которые обуславливают клинический полиморфизм и исход заболевания. В связи с чем, целью данного исследования является определение спонтанного и ФГА-индуцированного уровня IL-2 у больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом.

Материалом для исследования являлись лейкоциты венозной крови 44 больных *H. pylori*-ассоциированным поверхностным хроническим гастритом (ПХГ) и 28 больных атрофическим хроническим гастритом (АХГ). Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови путем центрифугирования на слое фиколл-верографина. Культивировали без митогена и с добавлением фитогемагглютина (ФГА). Оценку содержания IL-2 определяли методом ИФА-анализа. Отличия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

В результате определения уровня IL-2 было установлено, что в группе пациентов с ПХГ спонтанный уровень данного цитокина был достоверно ниже относительно группы контроля и составил $6,6 (2,1-14,4)$ пг/мл ($p = 0,018$) и $17,6 (8,0-69,9)$ пг/мл соответственно. В группе больных с АХГ базальный уровень IL-2 также был статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля ($p = 0,0001$), а также с больными ПХГ и достигал значения $1,9 (0-8,1)$ пг/мл ($p = 0,008$). ФГА-индуцированная продукция IL-2 была статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля ($35,7 (9,8-293,7)$ пг/мл, как в группе больных с ПХГ ($12,9 (2,7-39,3)$ пг/мл, $p = 0,043$), так в группе больных с АХГ ($22,6 (5,7-43,4)$ пг/мл, $p = 0,048$). При оценке индекса стимуляции продукции IL-2 было выявлено, что в группе больных с ПХГ данный показатель составил $2,8 (1,1-7,0)$, в группе больных с АХГ — $3,1 (2,3-23,2)$, в контроле — $2,4 (0,8-4,6)$. Определение индекса стимуляции показало, что во всех обследуемых группах сохраняются резервные возможности к продукции данного цитокина. Таким образом, при *H. pylori*-инфекции происходит снижение продукции IL-2, что, вероятно, свидетельствует о *H. pylori*-индуцированном функциональном нарушении популяции Т-хелперов.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВАКЦИНАЦИИ В. ABORTUS

Н.С. Саркисян, М.В. Костюченко, Т.В. Бердникова

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора

Важная роль в процессе формирования иммунного ответа принадлежит цитокинам, которые осуществляют короткодистанционную регуляцию межклеточных, межсистемных и сетевых взаимодействий.

Целью исследования явилось изучение цитокинового профиля в процессе формирования иммунного ответа у лабораторных животных на введение вакцинного штамма *V. abortus* 19 ВА. Исследовали кровь 60 белых мышей, иммунизированных подкожно вакцинным штаммом *V. abortus* 19 ВА в дозе 0,1 мл, содержащей 10^5 микробных клеток. Контролем служили 30 интактных животных, которым

вводили стерильный физиологический раствор в том же объеме. Забор крови осуществляли на 3, 5, 7, 14 и 21 сутки после иммунизации, по 6 животных опытной и контрольной группы в каждый период исследования. Методом ИФА в сыворотке крови определяли интерлейкин-1 α (IL-1 α), интерлейкин-4 (IL-4), фактор некроза опухоли (TNF α). Для определения IL использовали наборы фирмы «eBioscience» Австрия. Результаты измеряли на спектрофотометре при длине волны 480 нм. При попадании вакцинного штамма против бруцеллеза в организм лабораторных животных незначительное повышение цитокина отмечается уже с первых суток развития вакцинного процесса. К 7 суткам этот показатель повышался до $7,24 \pm 1,50$ пг/мл по сравнению с контрольными значениями $4,97 \pm 0,49$ пг/мл. Наиболее высоких величин достигал к 14 суткам $44,60 \pm 5,02$ пг/мл. На 21 сутки уровень IL-1 α снижался до $29,34 \pm 3,22$ пг/мл, однако статистически оставался еще значительно выше нормы $4,23 \pm 0,36$ пг/мл ($p < 0,05$). При развитии иммунного ответа у мышей на вакцинный штамм *B. abortus* 19 ВА отмечается незначительное повышение уровня IL-4 на 7 сутки $6,10 \pm 0,96$ пг/мл по сравнению с контролем $2,17 \pm 0,06$ пг/мл, к 14 суткам снижался до $3,44 \pm 0,82$ пг/мл, а к 21 суткам уровень IL-4 достигал контрольных величин $2,73 \pm 0,25$ пг/мл. Также изучение динамики синтеза TNF α выявило увеличение этого цитокина на 3 и 5 сутки после иммунизации белых мышей противобруцеллезной вакциной до $15,83 \pm 2,43$ пг/мл и $16,78 \pm 2,76$ пг/мл соответственно по сравнению с контролем ($12,98 \pm 0,82$ пг/мл). К 14 суткам уровень TNF α составлял $21,00 \pm 3,24$ пг/мл, а к 21 суткам соответствовал контрольным значениям $12,93 \pm 0,81$ пг/мл. Таким образом, исследование выявило наибольшее увеличение IL-1 и TNF α на 14 сутки, повышение уровня IL-4 на 7 сутки.

G/[P]-ТИПЫ РОТАВИРУСА А В г. НИЖНЕМ НОВГОРОДЕ: 2012–2014 гг.

Т.А. Сашина^{1,2}, О.В. Морозова^{1,2}, Н.А. Новикова^{1,2}

¹ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

²ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

К пяти годам ротавирусы (род *Rotavirus*, семейство *Reoviridae*) поражают 95% всех невакцинированных детей во всем мире и являются ведущей причиной острога гастроэнтерита (ОГЭ) в этой возрастной группе. В 2012–2014 гг. на территории Нижнего Новгорода сохраняется высокий уровень заболеваемости РВГЭ, что определило необходимость объяснения сложившейся ситуации. На основе различий в нуклеотидной последовательности генов, кодирующих белки наружного капсида VP7 и VP4, определяют G- и P-генотипы ротавируса. У человека и животных различают не менее 27 G- и 37 P-генотипов.

Целью данной работы явилось определение G- и P-типа ротавирусов, выявленных в г. Н. Новгороде в 2012–2014 гг., и анализ их распределения. Типирование проводили методами РНК-ПААГ и ОТ-ПЦР с использованием наборов специфичных праймеров, описанных в работах Das V.K. et al. (1994),

Gentsch J.R. et al. (1992), Новикова Н.А. и др. (2007). При исследовании 1342 образцов фекалий детей, госпитализированных с первичным диагнозом ОКИ, ротавирусы были обнаружены в 263 случаях (19,6%). Доступными для молекулярно-генетической характеристики были 213 изолятов. Выявлены штаммы пяти G-генотипов (G1, G2, G4, G3 и G9) и четырех P-генотипов (P[4], P[6], P[8] и P[9]), которые определялись в комбинациях G4P[8] (75,1%, 4 геноварианта), G1P[8] (12,1%, 5 геновариантов), G2P[4] (4,7%, 4 геноварианта), G3P[8] (0,5%, 1 геновариант), G9P[8] (1,9%, 1 геновариант), относящихся к наиболее распространенным в мире, и редких G3P[6] (1,9%, 1 геновариант) и G3P[9] (3,8%, 1 геновариант). Среди геновариантов с преобладающей комбинацией G4P[8], в сезон 2012–2013 гг. доминирующее положение занимали штаммы с 85-м ЭФ-типом РНК (76%), в начале эпидсезона 2013–2014 гг. выявлялись преимущественно штаммы с 52-м ЭФ-типом РНК (74%). Следовательно, активная циркуляция ротавируса типа G4P[8] в изучаемый период времени поддерживалась сменой генетического варианта.

Таким образом, в период 2012–2014 гг. в Нижнем Новгороде циркулировали ротавирусы семи G/[P]-типов, доминирующее положение занимали штаммы с комбинацией G4P[8]. Полученные результаты имеют значение для разработки стратегии вакцинопрофилактики РВГЭ в Нижнем Новгороде.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

А.В. Севостьянова¹, Т.А. Гаврилова², Т.И. Борисова¹,
Р.В. Адельшин¹, Е.И. Андаев¹

¹Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

²Управление Роспотребнадзора по Иркутской области, г. Иркутск

В Иркутской области сезонный подъем заболеваемости энтеровирусными инфекциями (ЭВИ) обусловлен циркуляцией разных серотипов энтеровирусов. Молекулярно-генетическим методом изучены 10 штаммов энтеровирусов, выделенных из клинического материала от больных, проживающих на территории области, и два штамма, изолированных из проб сточных вод очистных сооружений г. Иркутска. Расшифрована и проанализирована нуклеотидная последовательность фрагмента гена VP-1 энтеровирусов длиной 766 п.н. Филогенетический анализ показал, что штаммы, выделенные в Иркутской области, образуют отдельный кластер в группе энтеровирусов ЕСНО 6 и имеют существенное сходство (92,4–94,7%) со штаммом E-6 26035 E-burg (Екатеринбург, 2006 г.). Вирус ЕСНО 6 является эндемичным для региона и с 1977 г. ежегодно выделяется из объектов окружающей среды и периодически из клинического материала.

Нуклеотидные последовательности двух штаммов Коксаки В4 (KB4), выделенные от больных в 2011 г. в г. Иркутске, оказались в одном кластере с изолятами из Белоруссии, Франции и Финляндии (2001–2005 гг.). Вирусологический мониторинг энтеровирусов показал, что циркуляция вируса KB4 на территории Иркутской области продолжается с 2006 г.

Нуклеотидная последовательность вируса Коксаки В5 (КВ5) входит в кластер с изолятами из Китая, выделенными в 2009 г., идентичность составляет 95%. Филогенетический анализ позволяет предположить занос данного типа вируса из Китая.

Молекулярно-эпидемиологический мониторинг энтеровирусов, изолированных в 2011 г. в Иркутской области, позволил получить генетическую характеристику штаммов с их территориальной приуроченностью и повысить эффективность эпидемиологического анализа заболеваемости ЭВИ в регионе. Высокая частота выявления вирусов ЕСНО 6 показала значительную роль этого варианта в возникновении sporadicческой заболеваемости в 2011 г. среди населения Иркутской области.

Проведенный молекулярно-генетический анализ свидетельствует, что на территории Иркутской области циркулируют варианты энтеровирусов, как эндемичные для нашей территории (ЕСНО 6), так и те, происхождение которых связано с заносом из Европы и Азии в разные годы (КВ4, КВ5).

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОЧНОЙ АССОЦИАЦИИ *ESCHERICHIA COLI* К ХЛОРИДУ БЕНЗАЛКОНИЯ

П.В. Слуккин^{1,2}, В.Б. Родин¹, В.А. Чугунов^{1,2},
Е.В. Дегушева¹, Е.Н. Кобзев^{1,2}

¹ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора, п. Оболонск, Московская область

²Пуцинский государственный естественно-научный институт, г. Пушино, Московская область

В настоящее время существует значительное количество методов оценки чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП). Большинство из этих методов оценивают действие АМП на планктонные (свободно живущие) клетки. В естественных условиях микроорганизмы чаще всего существуют в форме клеточных ассоциаций (КА), в том числе биопленок (БП). Поэтому в практике необходимы методы оценки действия АМП на КА микроорганизмов различных типов.

В связи с этим целью данного исследования была разработка метода оценки действия АМП на КА, пригодного для практического применения.

Суть предлагаемого метода заключается в том, что КА формируется на плотной питательной среде (ППС) без АМП, при этом возможно получение КА с требуемыми параметрами: количество клеток, поверхностная плотность микроорганизмов, возраст и даже видовой состав. Далее часть выращенной КА переносится на ППС с АМП, путем аппликации бумажным купоном. Использование аппликатора позволяет стандартизовать посевную дозу КА и избежать нарушения пространственной структуры КА. По окончании культивирования проводят визуальную оценку наличия роста микроорганизмов вокруг аппликатора, в случае отсутствия роста делается высев из его смыва на ППС без АМП. Минимальная концентрация, при которой не отмечается видимый рост, считается минимальной подавляющей концентрацией АМП. Минимальная концентрация, при которой отсутствуют микроорганизмы на аппликаторе при смыве, считается минимальной бактерицидной концентрацией АМП.

Данный метод был апробирован при оценке чувствительности КА и планктонных клеток

Escherichia coli ATCC 25922 к широко используемому в практике АМП — бензалкония хлориду (БКХ). Оценка чувствительности планктонных клеток проводилась на ППС стандартным методом (МУК 4.2.1890-04), оценка чувствительности КА — методом, описанным выше. Были подобраны условия, при которых количество и поверхностная плотность микроорганизмов для КА и планктонной формы были равны. При этом устойчивость КА *E. coli* к БКХ оказалась в три раза выше, чем планктонных клеток.

Таким образом, предложенный нами метод позволил выявить более высокую устойчивость ассоциации клеток *E. coli* к БКХ.

РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА РОЛИ ЗАМЕН В ПРИРОДНЫХ ВАРИАНТАХ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ И ВИРУЛЕНТНОСТИ *L. MONOCYTOGENES*

К.А. Собянин, Р.Р. Адгамов, С.А. Ермолаева

ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
МЗ РФ, Москва

Факультативный внутриклеточный паразит *Listeria monocytogenes* вызывает листериоз — сапронозное инфекционное заболевание человека и животных. Критическим этапом развития инфекции является активная инвазия возбудителя в нормально нефагоцитирующие эукариотические клетки, прежде всего, эпителиальные клетки и гепатоциты. Активная инвазия осуществляется за счет взаимодействия факторов патогенности *L. monocytogenes*, белков InlA и InlB, с поверхностными эукариотическими рецепторами E-кадхерином и фактором роста гепатоцитов Met соответственно. E-кадхерин и Met являются консервативными белками, присутствующими у всех видов млекопитающих, хотя для этих белков наблюдается определенная межвидовая дивергенция. Бактериальные белки InlA и InlB характеризуются природными вариантами, найденными у штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из разных источников. Выявленные замены могут влиять на эффективность взаимодействия InlA и InlB с эукариотическими рецепторами.

До настоящего времени исследований по влиянию влияния замен в последовательности InlA и InlB на взаимодействие *L. monocytogenes* с видовыми вариантами рецепторов и, соответственно, на эффективность инвазии возбудителя в клетки разных видов млекопитающих, не проводилось.

Целью данной работы являлась разработка системы, которая позволила бы оценить различия в эффективности инвазии *L. monocytogenes* в эукариотические клетки различного происхождения в зависимости от замен в последовательностях интерналинов. Для объективной оценки эффективности влияния аминокислотных замен в природных последовательностях *inlA* и *inlB* необходимо было получить изогенные варианты *L. monocytogenes* для каждого варианта. Двенадцать аллельных вариантов интерналина В, и 4 аллельных варианта интерналина А, отличающихся аминокислотными заменами, были получены в ПЦР на матрице различных штаммов *L. monocytogenes*. ПЦР-продукты были клонированы в шаттл-вектор вектор pTRKH2, уже содержащий промоторную область, что позволило устранить эффекты от различий в уровне экспрес-

сии генов. Полученные плазмиды были трансформированы в штаммы *L. monocytogenes* EGDeIn1A и EGDeIn1B с делециями соответствующих хромосомных генов. Изогенные рекомбинантные штаммы были использованы для инфекции эпителиальных клеток человека НЕК293. Разработанная система позволяет оценить различия в эффективности инвазии, связанные с вариантами в последовательности бактериальных факторов патогенности In1A и In1B.

ГЕНОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *HOMINISSUIS*

Д.А. Старкова¹, А.А. Вязовая¹, И.В. Мокроусов¹,
Т.Ф. Оттен², Б.И. Вишневский², О.В. Нарвская¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

²ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ

Нетуберкулезные микобактерии вида *Mycobacterium avium* — типичные обитатели окружающей среды. *M. avium* subsp. *hominissuis* (МАН) способны вызывать микобактериоз у человека. За последние десять лет в Санкт-Петербурге и Ленинградской области наблюдается рост числа случаев микобактериоза легких у иммунокомпетентных лиц и диссеминированных форм у ВИЧ-инфицированных (Оттен Т.Ф., 2005).

Целью исследования явилось изучение геномного полиморфизма клинических изолятов МАН с использованием VNTR- и IS1245-RFLP-типирования.

Изучены 90 штаммов *M. avium*, выделенных в 2008–2011 гг. от жителей Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Аллельный полиморфизм штаммов МАН оценивали методом VNTR-типирования по 8 вариабельным локусам (TR292, X3, 25, 47, 3, 7, 10 и 32) (Thibault et al., 2007). Прямое секвенирование (по Сенгеру) амплифицированного фрагмента локуса TR10 осуществляли с использованием анализатора «ABI Prism» 3130. Генотипирование штаммов МАН с помощью метода IS1245-RFLP проводили согласно D. van Soolingen (1998), C. Guerrero (1995).

В результате 8-локусного VNTR-типирования у 90 штаммов МАН было выявлено 17 вариантов профилей VNTR. Индивидуальные восьмизначные числовые профили VNTR имели 9 штаммов. Остальные 81 штамм входили в состав девяти кластеров. Наиболее крупный кластер с числовым профилем 22221128 включал 46 (51,1%) штаммов; кластеры — 24221128 и 2533112'8 — 13 и 7 штаммов соответственно; остальные кластеры содержали 2–4 штамма. Штаммы кластера 2533112'8 отличались от остальных «усеченным» локусом TR10 за счет внутренней делеции 15 п.н. (обозначен 2') (GenBank accession no. JQ918769.1). Наибольшим полиморфизмом отличались локусы TRX3 и TR25 (HGDI 0,624 и 0,392 соответственно).

В результате IS1245-RFLP-типирования выявлен 51 тип профилей. Из них, 47 профилей были индивидуальны, а остальные были представлены кластерами Mav1-Mav4, в состав которых входили от двух до трех штаммов с идентичными профилями IS1245.

Полученные данные согласуются с общепринятым мнением о роли объектов окружающей среды в качестве источника инфицирования (в том числе внутрибольничного) человека МАН.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ АНОГЕНИТАЛЬНЫМИ (ВЕНЕРИЧЕСКИМИ) БОРОДАВКАМИ В ОТДЕЛЬНЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

О.Ю. Стебелько¹, Н.Ю. Гульцева², О.В. Гайворонская²,
Е.В. Каткявичене³, Ю.С. Егорова⁴

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургское ГБУЗ Городской кожно-
венерологический диспансер

³ГБУЗ Республики Карелия Республиканский кожно-
венерологический диспансер, г. Петрозаводск

⁴ГБУЗ Ленинградский областной центр, Санкт-Петербург

Важность эпидемиологической оценки заболеваемости аногенитальными бородавками обусловлена внедрением и расширением объемов специфической профилактики данной патологии во многих регионах РФ, что требует развития системы эпидемиологического надзора за папилломавирусной инфекцией в условиях вакцинопрофилактики и оценки эффективности проводимых мероприятий. Этиологическим фактором развития аногенитальных бородавок в 90% случаев является вирус папилломы человека 6 и 11 генотипов. Данная нозологическая форма составляет одну из многих клинических проявлений папилломавирусной инфекции. В связи с изложенным целью исследования явилось изучение особенностей заболеваемости данной патологией на территориях Санкт-Петербурга, Ленинградской области и Республики Карелия.

Анализ данных федерального государственного статистического наблюдения по формам № 9 и № 34 по указанным территориям показал снижение уровня заболеваемости населения аногенитальными бородавками в 2013 г. относительно 2011 г. Показатели инцидентности за рассматриваемый период в Республике Карелия и Санкт-Петербурге, в отличие от Ленинградской области, достоверно превышали среднестатистические показатели по РФ в целом ($p < 0,001$). Наиболее высокие показатели заболеваемости аногенитальными бородавками в 2011–2013 гг. отмечались в Республике Карелия (средний уровень заболеваемости за 3 года составил 62,5 на 100 000 населения). В Санкт-Петербурге и Ленинградской области средние показатели за 2011–2013 гг. оказались равными 52,7 и 12,9 на 100 000 населения соответственно.

Результаты исследования свидетельствуют о наличии территориальных особенностей развития эпидемического процесса данной патологией на территории РФ и необходимости дальнейшего изучения проблемы.

ОСОБЕННОСТИ НАДЗОРА ЗА ГРИППОМ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ

Т.И. Сысоева, Л.С. Карпова

ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург

На базе Всемирной организации здравоохранения с 1952 г. работает глобальная сеть по надзору за гриппом (GISRS). Она включает 6 сотрудничающих референс-исследовательских центров ВОЗ по гриппу в Атланте и Мемфисе (США), Лондоне (Великобритания), Токио (Япония), Мельбурне (Австралия) и Пекине (Китай) и 141 национальный центр по гриппу в 118 странах.

Система занимается оценкой ситуации по гриппу, служит глобальным механизмом уведомления о возникновении вирусов гриппа с пандемическим потенциалом, лабораторной диагностикой, антигенной и генетической характеристикой, изучением чувствительности к препаратам, эволюцией вирусов гриппа, дает рекомендации по составу вакцин. Для еженедельного обмена оперативными данными по гриппу в мире была создана система FluNet.

В связи с большим количеством информации организованы 6 региональных отделений ВОЗ для стран Африки (AFRO), Америки (AMRO), Восточного Средиземноморья (EMRO), Европы (EURO), Юго-Восточной Азии (SEARO) и Западного Тихоокеанского региона (WPRO).

Россия вошла в систему глобального надзора за гриппом более 40 лет назад. В настоящее время надзор основан на работе двух центров: Федерального центра по гриппу и ОРВИ на базе НИИ гриппа в Санкт-Петербурге и Центра эпидемиологии и экологии гриппа на базе НИИ Д.И. Ивановского в Москве, и сотрудничающих с ними 59 городов — опорных баз.

Для надзора за гриппом применяется методика эпидемиологического анализа, основанная на расчете эпидпорогов по данным обязательной медицинской регистрации случаев гриппа и ОРВИ по всему населению и по возрастным группам по России в целом и по 7 федеральным округам.

С 2009 г. Россия сотрудничает с Европейским региональным бюро ВОЗ и является важным компонентом системы глобального надзора за счет большой протяженности территории. Преимущество Российской системы надзора перед зарубежными странами состоит в сплошной регистрации случаев и наблюдении за заболеваемостью неиммунной группы риска — детьми 0–2 лет.

Для унификации данных в России была введена система Сигнального Надзора, позволяющая оценить роль разных вирусов в развитии тяжелых форм заболеваний, защитную роль вакцин и масштаб формирования устойчивости к противовирусным препаратам.

С анализом текущей ситуации по гриппу в России можно ознакомиться на сайте НИИ гриппа <http://www.influenza.spb.ru/> и на сайте ЕвроВОЗ: <http://www.euroflu.org/index.php>.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ FRANCISELLA TULARENSIS, ВЫДЕЛЕННЫХ В СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ, К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

**С.А. Татарников, Е.Г. Токмакова, Г.В. Вдовиченко,
А.В. Мазепа**

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Туляремия — зоонозная природно-очаговая бактериальная инфекционная болезнь, характеризующаяся симптомами общей интоксикации, лихорадкой, воспалительными изменениями в области ворот инфекции, регионарным лимфаденитом, склонностью к затяжному течению. Исход заболевания зависит от своевременности назначения адекватных схем лечения, основанных, в том числе, на результатах изучения антибиотикограмм выделенных культур.

Цель работы: определение чувствительности штаммов возбудителя туляремии, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока, к антибактериальным препаратам.

Использованы 27 штаммов *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* из коллекции института Роспотребнадзора, выделенные в 1950–2012 гг. в Сибири и Дальнем Востоке. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) антибактериальных препаратов (АБП) первого ряда, рекомендованных ВОЗ для профилактики и лечения туляремии: гентамицин, доксициклин, стрептомицин, ципрофлоксацин, хлорамфеникол, а также эритромицина для установления таксономической принадлежности культур, определяли с помощью MIC Test Strip (Liofilchem® srl, Италия).

Штаммов, устойчивых к использованным препаратам, не обнаружено. Один штамм (Хабаровский край) обладал промежуточной устойчивостью к стрептомицину, три [Республика Бурятия (2) и Тюменская область (1)] — к ципрофлоксацину. Для антибиотикочувствительных штаммов отмечены следующие МПК: хлорамфеникола 0,19–6,0 мкг/мл, ципрофлоксацина — 0,016–0,25 мкг/мл, стрептомицина — 0,125–4,0 мкг/мл, гентамицина — 0,064–4,0 мкг/мл, доксициклина — 0,064–1,5 мкг/мл. По отношению к эритромицину изученные штаммы *F. tularensis* subsp. *holarctica* неоднородны: обнаружены эритромицин-чувствительные (Республика Бурятия, Читинская, Сахалинская области, Красноярский и Хабаровский края) и резистентные к эритромицину (Красноярский и Алтайский края, Иркутская, Тюменская, Кемеровская и Новосибирская области, Якутия). Таким образом, все 27 исследованных штаммов *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* были чувствительны к АБП первого ряда, рекомендованных для лечения туляремии. Наилучшую антибактериальную активность *in vitro* в отношении штаммов возбудителя туляремии голарктического подвида показали доксициклин и ципрофлоксацин.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ЭХИНОКОККОЗА В ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ: ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ И СВЯЗЬ С ЭПИЗООТИЕЙ

**М.В. Тришин², А.Г. Корнеев¹, В.В. Соловых¹,
И.В. Боженова¹, М.А. Измайлова¹, П.В. Гуреева¹**

¹ ГБОУ ВПО Оренбургская государственная медицинская академия МЗ РФ

² ГАУЗ Оренбургская областная клиническая больница № 2

Заболеваемость эхинококкозом населения Оренбургской области в течение последних двадцати лет является высокой и превышает показатель заболеваемости по России в 5 и более раз.

Цель исследования: изучить интенсивность эпидемического процесса эхинококкоза в Оренбургской области в различных возрастных группах и определить особенности эпизоотии гельминтоза во взаимосвязи с эпидемическим процессом.

Материалы и методы. Использовались данные ФБУЗ «Центр гигиены и здравоохранения в Оренбургской области» и карты стационарного больного (ф. № 003/у) больниц г. Оренбурга за 1994–2012 гг. изучена заболеваемость населения Оренбургской области. По данным Управления ветеринарии Министерства сельского хозяйства Оренбургской области

изучена пораженность сельскохозяйственных животных в 2005–2012 гг. Достоверность различия показателей изучалась с помощью критерия Манна–Уитни, связь между показателями — с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. На долю детского населения (до 14 лет) пришлось 15,4±1,1%, взрослого (с 15 лет) — 84,6±1,1% всех случаев эхинококкоза. Средняя многолетняя заболеваемость взрослого населения эхинококкозом составила 3,0±0,2 на 100 тыс. населения и была достоверно больше средней многолетней заболеваемости эхинококкозом детского населения, которая составила 2,2±0,3 на 100 тыс. ($p = 0,01$).

Достоверные различия в пораженности животных эхинококкозом на эпидемически неблагополучных и благополучных территориях не выявлены.

Выявлено наличие прямой связи средней силы ($r = 0,34$; $p = 0,045$) между уровнем заболеваемости эхинококкозом совокупного населения области и пораженностью мелкого рогатого скота.

Выводы. Достоверно более высокая заболеваемость эхинококкозом взрослого населения Оренбургской области требует изучения влияния профессиональных и бытовых факторов на распространение гельминтоза. Отсутствие различий в интенсивности эпизоотического процесса на эпидемически благополучных и неблагополучных территориях может объясняться качеством выявления эхинококкоза человека в различных районах Оренбургской области. Наибольшую эпидемическую значимость имеет эпизоотический процесс эхинококкоза среди мелкого рогатого скота.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОРРЕЛИЙ, ВЫЯВЛЕННЫХ В КЛЕЩАХ *IXODES PERSULCATUS* В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

Ю.Н. Трушина, Е.А. Сидорова, Р.В. Адельшин, Е.И. Андаев

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора

Забайкальский край является одной из эндемичных по иксодовому клещевому боррелиозу (ИКБ) территорий Сибирского федерального округа. С момента начала официальной регистрации ИКБ (1995 г.) в Забайкальском крае наблюдается ежегодный рост заболеваемости людей. Генотиповой состав боррелий на данной территории практически не изучен, поэтому исследование генетического разнообразия циркулирующих возбудителей ИКБ актуально.

С целью обнаружения ДНК боррелий в иксодовых клещах двух видов *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor nuttalli*, собранных с растений в Оловянинском, Борзинском и Дульдургинском районах Забайкальского края в 2011–2013 гг. использовали ПЦР в реальном времени и ПЦР с гибридизационно-флюоресцентной детекцией с помощью наборов реактивов «АмплиСенс ТБЕВ, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/E. muris-FL» и «АмплиСенс *Borrelia burgdorferi sensu lato*-FL». Всего исследовано 742 экземпляра иксодовых клещей: среди 624 клещей *I. persulcatus* выявлено 38,5±1,9% положительных; среди 118 особей клещей *D. nuttalli* ДНК возбудителя ИКБ не выявлена. Все положительные находки обнаружены в Дульдургинском районе на территории Национального парка «Алханай».

Для определения видовой принадлежности боррелий с 43 положительными образцами проведена ПЦР с использованием праймеров (Liebisch G. etc., 1998), фланкирующих фрагмент гена 16S рРНК. Полученные ПЦР-продукты секвенированы с помощью набора реактивов ABI Prism Big Dye Terminator v.1.1 Cycle Sequencing Kit на секвенаторе 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Филогенетический анализ участка гена 16S рРНК длиной 638 п.н. выявил наличие генетического материала патогенных для человека боррелий: *B. garinii* в 25 (58±7,5%) образцах; *B. afzelii* — в 17 (40±7,4%); в одной пробе обнаружена ДНК *B. miyamotoi*, относящаяся к группе клещевых возвратных лихорадок (КВЛ).

Таким образом, установлено, что в природном очаге Национального парка «Алханай» циркулируют спирохеты, являющиеся возбудителями ИКБ — *B. garinii*, *B. afzelii*, и группы КВЛ — *B. miyamotoi*.

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ГЕНОВ СТАФИЛОКОККОВЫХ ЭКЗОТОКСИНОВ СРЕДИ *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Ю.А. Тюрин, Р.С. Фассахов

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Роспотребнадзора, Казанский государственный медицинский университет

У больных хроническими дерматозами, в частности, атопическим дерматитом (АтД), патогенная роль эпидермального стафилококка (*S. epidermidis*), как наиболее распространенного нормального обитателя кожи и слизистых человека традиционно не учитывается. В связи с этим, дифференциация по вирулентным свойствам эпидермального стафилококка и определение его устойчивости к антибактериальным препаратам важны для выбора адекватного этиотропного лечения и профилактики гнойных осложнений у больных с хроническими дерматозами, в частности, при атопической экземе.

В исследовании изучена распространенность экзотоксигенных эпидермальных стафилококков, выделенных с кожи больных АтД в возрасте от 3 до 18 лет, со среднетяжелой и тяжелой формой ($n = 60$) и ожоговой болезнью, осложненной гнойным инфицированием кожи и подкожной клетчатки ($n = 28$). Определение генов (*set1*, *set2*, *set3*, *set4*, *set5*), кодирующих экзотоксины стафилококка в геномной ДНК осуществляли методом ПЦР-амплификации с электрофоретической детекцией праймер-специфических ампликонов по разработанному способу (Тюрин Ю.А. и др., заявка на изобретение № 2013121634 от 07.05.2013 г. ФИПС РФ). В исследование было отобрано по 2 изолята КОС, выделенных с кожи больных и по 2 изолята с гладкой кожи конечностей и лица здоровых добровольцев в возрасте от 3 до 18 лет ($n = 23$). Идентификацию выделенных штаммов КОС подтверждали методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (MALDI Biotyper, FLEX™, КПФУ, Институт Фундаментальной медицины и биологии, к.б.н. Тойменцева А.А.). В результате исследования, установлено, что распространенность экзотоксигенных штаммов *S. epidermidis* у больных со среднетяжелой и тяжелой формой АтД составила 26,7% (95%ДИ: 19,2–35,7), у больных с ожоговой

болезнью 34,0% (95%ДИ: 22,2–47,9). У здоровых добровольцев распространенность экзотоксигенных штаммов *S. epidermidis* составила 4,3% (95%ДИ: 0,8–16,0). Таким образом, проведенное выборочное скрининговое исследование показало, что встречаемость экзотоксигенных штаммов среди *S. epidermidis* на коже больных атопическим дерматитом — в 6 раз, а при ожоговой болезни — в 8 раз выше чем, у здоровых добровольцев ($p < 0,05$).

РАЗРАБОТКА ДИЗАЙНА БИОЧИПА ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДЕТЕКЦИИ СПЛАЙСИРОВАННЫХ ВАРИАНТОВ МРНК РЕЦЕПТОРОВ СМЕРТИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

**О.В. Уткин, Д.И. Князев, Л.А. Солнцев, Е.Н. Филатова,
Н.А. Сахарнов, В.Д. Старикова, Н.Б. Преснякова,
Е.В. Анисенкова**

*ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора*

Герпесвирусная инфекция (ГВИ) сопровождается изменениями функционального состояния иммунцитов, важными регуляторами которых являются «рецепторы смерти», участвующие в инициации программируемой гибели клетки (ПГК). У человека идентифицировано 6 рецепторов смерти (TNFR1, Fas, DR3–6), характеризующихся высоким полиморфизмом мРНК в результате альтернативного сплайсинга, что имеет функциональные последствия, связанные с модуляцией сигнальных событий ПГК. Герпесвирусы используют ряд способов ухода из-под иммунного контроля, в том числе влияющих на регуляцию альтернативного сплайсинга рецепторов смерти и инициацию ПГК. Таким образом, изучение профиля экспрессии сплайсированных вариантов мРНК рецепторов смерти является значимым в аспекте изучения молекулярных механизмов ПГК, как части иммунного ответа, при разных нозологических формах ГВИ.

Одним из перспективных подходов, позволяющих проводить многопараметрический анализ показателей, является технология биологических микрочипов. Особенностью разрабатываемых биочипов является синхронная дифференциальная полуквантитативная детекция пула мРНК рецепторов смерти. Для конструирования биочипов применялась технология, базирующаяся на фосфорамитидном синтезе дискриминирующих ДНК-зондов с последующей электрохимической детекцией результатов (V3 Synthesizer Custom Array, США).

Дизайн биочипа включал подбор оптимальных последовательностей дискриминирующих зондов для гибридизации мРНК, полученной от здоровых волонтеров и пациентов с ГВИ. Критериями отбора зондов явились длина (от 24 до 30 н.о.), t гибридизации (59–61°C), содержание GC (30–60%), отсутствие гомоповторов протяженностью более 3 н.о., отсутствие шпилек и димеров, а также уникальность участков мРНК для каждого сплайсированного варианта рецепторов смерти. В дальнейшем проводилась детализация локализации зондов и введение зондов внутренних стандартов, комплементарных участкам референтных генов, обладающих стабильной экспрессией вне зависимости от функционального состояния клеток. В итоге разработан дизайн биочипа для полуко-

личественной оценки всех известных в настоящее время сплайсированных вариантов мРНК шести рецепторов смерти человека.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

А.А. Федоров¹, Д.Г. Сочивко², А.Л. Буляница¹

*¹ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург*

²ЗАО «Синтол», Москва

Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) является сегодня основным молекулярно-генетическим методом, используемым для качественного и количественного анализа специфических последовательностей нуклеиновых кислот. Ведущие мировые фирмы-производители оборудования и тест-систем для ПЦР-РВ, а также многие группы исследователей в университетах, занимаются исследованиями различных теоретических аспектов ПЦР, целью которых является совершенствование аналитических характеристик метода, алгоритмов и программных средств приборов ПЦР-РВ анализа. Институт аналитического приборостроения РАН, ведя разработку приборов и оборудования для генетического анализа, в том числе ПЦР-РВ, также участвует в данных исследованиях.

В рамках теории случайных ветвящихся процессов с дискретным временем была разработана имитационная модель ПЦР-РВ. Модель учитывает случайный фактор в процессе отбора пробы из образца и стохастическую природу ключевого процесса — репликации нуклеиновой кислоты. Предложенная модель позволяет анализировать влияние различных параметров реакции на поведение кинетических кривых ПЦР, исследовать статистику результатов на больших выборках и оценивать влияние стохастических эффектов на результаты реакции. Показано, что при наличии в пробе 100 молекул и более вклад случайных составляющих в общую погрешность анализа практически не выявляется даже при очень низкой эффективности реакции, и данные концентрации можно оценивать с приемлемой для практики точностью при однократном измерении.

Проанализирован случай малых количеств нуклеиновых кислот в образцах. С помощью моделирования показано, что стохастическая природа реакции не препятствует точному определению даже единичных молекул в пробах. При этом погрешность анализа единичных молекул определяется не стохастической природой репликации, а случайной вариацией при отборе пробы.

Предложен алгоритм статистической интерпретации результатов количественного ПЦР-РВ анализа образца, на основе исследований серии дублирующих проб данного образца. Исследован случай получения отрицательных результатов анализа в одной либо нескольких пробах серии, имеющий важное значение при анализе особо опасных объектов. Показано, например, что при отборе 50-й части исходного образца и четырехкратном достижении отрицательного результата можно лишь утверждать, что с вероятностью 90% число частиц в исходном объеме не превосходит 28, при этом математическое ожидание числа молекул в образце составляет 12.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВИРУСОВ ГРИППА ТИПА А И В НА ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Е.А. Федорова, Е.А. Баженова, С.А. Кузнецова,
И.А. Дубровина, Е.В. Иванова, Н.В. Ларионова,
И.В. Киселева

ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

Сыворотки крови и секреты слизистых различных видов животных содержат неспецифические ингибиторы вирусов гриппа. В зависимости от класса ингибиторов, устойчивость к ним может быть связана с рецепторной специфичностью гемагглютинаина, субстратной специфичностью нейраминидазы, характером гликозилирования данных белков и их структурой.

Для исследования были выбраны пары вирусов, отличавшиеся по степени чувствительности к сывороточным ингибиторам в зависимости от характеристик НА (гемагглютинин) или NA (нейраминидаза). Ингибиторочувствительность оценивалась в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с нативными сыворотками лошади и морской свинки. Исследовались вирусы гриппа А подтипов H2N2 и H3N2, а также вирусы гриппа В. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость куриных эмбрионов вводили интраназально морским свинкам и оценивали иммуногенность в сроки 2, 4, 8 недель после заражения методами РТГА, микронеутрализации, а также определением содержания иммуноглобулинов класса G в сыворотках крови методом ИФА.

Было показано, что вирусы с разными показателями ингибиторочувствительности отличались антигенно — титры сывороток при учете с гомологичным антигеном были выше. При учете прироста антител методами РТГА, микронеутрализации более высокие титры были выявлены с использованием ингибиторочувствительного антигена. Видимо играло роль неспецифическое подавление активности вируса.

Замена в составе генома NA от ингибиторочувствительного вируса на NA от устойчивого оказывала значительное влияние на показатели ингибиторочувствительности и результаты РТГА. При этом иммуногенность изученных пар штаммов по показателям прироста сывороточных иммуноглобулинов класса G, определенная методом ИФА, была сходной на сроках 2, 4, 8 недель.

Таким образом, при детекции гуморального иммунного ответа необходимо следить, чтобы показатель чувствительности вируса к неспецифическим ингибиторам не изменялся, поскольку данное свойство тесно связано с антигенными характеристиками вируса. Чувствительность вирусов гриппа к неспецифическим ингибиторам сыворотки крови оказывает влияние на результаты оценки показателей гуморального ответа методами РТГА и микронеутрализации.

ВИДОВАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШИГЕЛЛ И ИХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ДИЗЕНТЕРИЕЙ ПО ДАННЫМ КИБ им. С.П. БОТКИНА

Е.А. Черноземова, А.Г. Дьячков

ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

Проанализированы результаты бактериологического исследования испражнений больных дизентерией, находившихся на лечении в Санкт-Петербур-

бургской Клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина в 2011–2013 гг., а также результаты исследования антибиотикорезистентности шигелл, выделенных у пациентов в 2013 г. При бактериологическом исследовании кала в 2011, 2012 и 2013 гг. было выделено 136, 146 и 109 копрокультур шигелл соответственно.

В 2011 г. в этиологической структуре шигеллезозов *Shigella flexneri* (*S. flexneri*) преобладали над *Shigella sonnei* (*S. sonnei*) — 93 (68,4%) и 43 (31,6%) копрокультур. Схожая тенденция сохранялась и в 2012 г. — 96 (65,8%) и 50 (34,2%) копрокультур соответственно. Однако в 2013 г. отмечено значительное снижение доли *S. flexneri* до 56% (61 случай) и увеличение доли *S. sonnei* до 44% (48 случаев) копрокультур. В 2011 и 2012 гг. были выделены единичные штаммы *S. boydii* и *S. dysenteriae*.

Анализ антибиотикорезистентности 18 штаммов *S. flexneri* и 13 штаммов *S. sonnei* проводили с помощью автоматического анализатора bioMerieux к 11 антибактериальным препаратам: ампициллину (AM), цефтриаксону (ТХ), цефепиму (CFP), имипенему (IP), тетрациклину (ТЕ), хлорамфениколу (CL), амикацину (AK), гентамицину (GM), налидиксовой кислоте (NLA), ципрофлоксацину (CI), триметоприму/сульфаметоксазолу (SXT). Согласно полученным данным, выявлена различная резистентность *S. flexneri* и *S. sonnei* к антибактериальным препаратам: к AM — 94,4 и 23,1%, к ТЕ — 93,8 и 61,5%, к CL — 81,3 и 15,4%, к NLA — 43,8 и 92,3%, к CI — 38,9 и 15,4%, к SXT — 41,2 и 61,5% соответственно. Все исследованные штаммы шигелл были резистентны к аминогликозидам, в то же время 100% выделенных культур были чувствительны к имипенему и цефепиму. К цефтриаксону были чувствительны 100% штаммов *S. flexneri* и 86,9% штаммов *S. sonnei*.

Таким образом, показано нарастание доли *S. sonnei* среди больных острой дизентерией в 2013 г. Выявлено, что профиль антибиотикорезистентности *S. flexneri* и *S. sonnei* имеет существенные различия. Цефтриаксон сохраняет высокую активность в отношении обоих возбудителей, в то же время значительная доля *S. flexneri* (38,9%) является резистентной к ципрофлоксацину.

К ВОПРОСУ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗОЛЯТОВ БРУЦЕЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИЯХ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН И РЕСПУБЛИКИ КАЛМЫКИЯ В 2012–2013 гг.

Л.И. Шакирова

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора

Бруцеллез — эндемичная инфекция для южных регионов России, которые обеспечивают основные показатели заболеваемости по Российской Федерации.

В работе изучены 24 клинических изолята бруцелл, выделенные на территории республик Дагестан и Калмыкия в 2012–2013 гг. Первоначально культуры были охарактеризованы в соответствии с традиционной схемой типирования. Так, из 18 штаммов, изолированных в 2012 г. в Республике Дагестан, три — были отнесены к I биовару вида *B. melitensis*, 15 штаммов — к III биовару вида *B. melitensis*, два штамма, выделенные на территории Республики Калмыкия в 2012 г. — к III биовару вида *B. abortus*, два — к III биовару вида *B. melitensis*.

Все изоляты были охарактеризованы методом MLVA-14, который основан на анализе локусных варибельных tandemных повторов генома возбудителя.

MLVA-профили референтных штаммов были взяты из электронной базы данных MLVABank 5.0 tutorial version 1.6.

Кластерный анализ показал, что штаммы, которые были отнесены к III биовару вида *B. melitensis* (18 штаммов), группировались в общий кластер, вместе с референтным штаммом *B. melitensis* Ether 706.

Штаммы I биовара вида *B. melitensis* (4 штамма) образовали один кластер совместно с референтным штаммом *B. melitensis* 16M (I биовар).

Штаммы III биовара вида *B. abortus* (2 штамма) формировали общий, кластер, совместно с референтным штаммом *B. abortus* Tulya (III биовар).

Было показано, что идентичными по MLVA-генотипу являются изоляты общего географического происхождения. Так, штаммы *B. melitensis* C-552 и C-553, изолированные в Республики Калмыкия в 2012 г., сформировали отдельную подгруппу в пределах общего кластера, образованного штаммами III биовара вида *B. melitensis*.

Штаммы, выделенные в Республике Дагестан в 2012 г. и отнесенные к III биовару вида *B. melitensis*, были объединены в подгруппы, которые включали культуры, изолированные в одних географических точках: штаммы *B. melitensis* C-556 и C-557 — Хунзахский район (с. Орота), *B. melitensis* C-543 и C-544 — Левашинский район (с. Арада-Чугли), *B. melitensis* C-545 и C-546 — г. Каспийск, *B. melitensis* C-538 и C-539 — Шамильский район (с. Ассаб).

Показано, что метод MLVA-14 может применяться для мониторинга за миграцией бруцеллезного микроба на территории Северо-Кавказского федерального округа, а также граничащих с ним регионов.

МИТОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЙ ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ДИКИХ И МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И ИХ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ

А.Ф. Шамсутдинов^{1,2}, Ю.А. Тюрин^{2,3}, А.А. Тойменцева¹

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, г. Казань

² ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

³ ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет МЗ РФ

Митогены вызывают феномен бласттрансформации клеток, в частности поликлональную активацию лимфоцитов. Это имеет определенную патогенетическую значимость при аллергической патологии. Источником митогенов являются стафилококки. Цель исследования генотипировать штаммы *S. aureus* на наличие генов суперантигенных токсинов с различной митогенной активностью бесклеточных фракций. Музейный штамм *S. aureus* И-78. Дикие штаммы с кожи больных atopическим дерматитом в возрасте от 3 до 18 лет. Видовую идентификацию штаммов проводили с применением MALDI-TOF масс-спектрометрии. Митогенная активность (МА) бесклеточных фракций оценивалась по реакции бласттрансформации культивируемых лимфоцитов периферической крови человека (в %). Лимфоциты выделяли методом изопак-фиколовой

сепарации, контроль осуществляли методом проточной цитометрии. Очистка белковых фракций (БФ) и определение состава продуктов жизнедеятельности бактериальных культур проводили методом гель-хроматографии, анализ методом SDS-электрофореза в 12% ПААГ. Бесклеточные фракции вносили в культуру лимфоцитов и инкубировали в клеточном инкубаторе. Генотипирование бактериальной ДНК проводили ПЦР методом с определением генов энтеротоксинов (*sae*, *seb*, *sec*, *sed*, *seh*, *seg*, *seo*, *sel*, *sem*, *tst*, *set1*–5). Установлены следующие генотипы у митогеноактивных штаммов: *S. aureus* И-78 (MatchPattern: *S. aureus* ssp. *aureus* DSM 3463), БФ1 (Мм 19; 21–30 kDa), МА = 43,0±5,0%, генотип sea+. Дикие штаммы: *S. aureus* № 7 (MP: *S. aureus* ATCC33862ТНЛ), БФ1 (Мм 19; 27 kDa), МА = 53,0±5,0%, генотип seg+; *S. aureus* № 6 (MP: *S. aureus* ATCC 33862ТНЛ), БФ1 (Мм 21; 32 kDa), МА = 48,0±5,0%, генотип seh+, *S. aureus* № 5 (MP: *S. aureus* ATCC 29213ТНЛ), БФ1 (Мм 27; 32 kDa), МА = 38,0±5,0%, генотип seh+, *S. aureus* № 24 (MP: *S. aureus* 29213ТНЛ), БФ1 (Мм 21; 32 kDa), МА = 29,0±4,0%, генотип set1–3, seb+, *S. aureus* № 34 (MP: *S. aureus* DSM 3463 DSM), БФ1 (Мм 19; 27; 32 kDa), МА = 38,0±5,0%, генотип tst+. При генотипировании в геноме митогеноактивных диких штаммов стафилококков, выявлены гены суперантигенных токсинов, относящихся к четырем основным филогенетическим группам (А-Д) этих белков.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЦР В ДОКЛИНИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ БЕЗОПАСНОСТИ ВАКЦИННОГО ШТАММА ВИРУСА КРАСНУХИ

О.А. Шамсутдинова¹, И.Н. Лаврентьева², М.Г. Чикобава¹, А.В. Леонтьук¹

¹ ФГБУ НИИ медицинской приматологии РАНН, г. Сочи

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Краснуха — острое инфекционное заболевание, особенностями которого является убиквитарность, повсеместное распространение и тератогенность возбудителя. В связи с этим Европейское региональное бюро ВОЗ определяет профилактику врожденной краснухи (ВК) как одно из приоритетных направлений. Единственным эффективным методом предупреждения ВК является вакцинация. В Российской Федерации, в связи с отсутствием отечественного препарата, вакцинация против краснухи осуществляется зарубежными вакцинами. Таким образом, разработка национальной вакцины, полученной из эндемичных для территории России штаммов, является актуальной задачей.

Доклинический контроль специфической безопасности вакцинного штамма вируса краснухи включает определение остаточной нейровирулентности (НВ) при интрацеребральном введении препарата обезьянам. Выполнение патоморфологических исследований ЦНС и внутренних органов животных, получивших новый препарат, является обязательным при изучении остаточной НВ. Для подтверждения результатов морфологического и гистологического методов, нами был использован метод ПЦР с гибридизационно-флюоресцентной детекцией, с целью выявления РНК вируса в иммунной системе и внутренних органах. Материалом для исследования служил аутопсийный материал (лимфатические узлы, кусочки легкого, поджелудочной железы, пе-

чени и селезенки) от четырнадцати самцов макак-резусов в возрасте от 3 до 6 лет, зараженных интрацеребрально опытным препаратом (штамм «Орлов-В»), препаратом сравнения (штамм Wistar RA27/3), а также контрольных животных (группа плацебо). Для подготовки и проведения метода ПЦР использовали набор реагентов «АмплиСенс RubeIIa virus-FL» (ЦНИИЭ, Москва). Проведенное исследование по индикации РНК вируса краснухи в аутопсийном материале не выявило ни одного положительного случая, что соответствует результатам гистологического исследования и является свидетельством безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи. Предложенный метод детекции НК вируса может быть использован в качестве подтверждающего теста при контроле остаточной НВ противовирусных вакцинных препаратов.

КОНСТРУИРОВАНИЕ АНТИГЕННОГО ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА НА ОСНОВЕ ТЕРМОЭКСТРАКТА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КЛЕТОК БРУЦЕЛЛ В L-ФОРМЕ, ДЛЯ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

К.Ю. Ястремская, Н.Л. Баранникова, С.Ю. Соловьев, Л.М. Михайлов, Н.М. Андреевская, В.А. Михайлова, С.В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Бруцеллез — инфекционное заболевание с высокой потенциальной возможностью перехода в хроническую форму. Ранее показано, что в сыворотках крови больных хроническим бруцеллезом людей могут появляться антитела к бруцеллам в L-форме (Михайлов Л.М., 2010). Сложность лабораторной диагностики бруцеллеза, обусловленного возбудителем в L-форме, связана с отсутствием сертифицированных препаратов, в том числе для реакции пассивной

гемагглютинации (РПГА), которая применяется при исследовании сывороток крови на бруцеллез. Поэтому конструирование диагностикумов на основе специфичных антигенных препаратов из бруцелл в L-форме для усовершенствования лабораторной диагностики актуально.

Цель: конструирование антигенного эритроцитарного диагностикума на основе термоэкстракта, выделенного из клеток бруцелл в L-форме, и оценка его пригодности для обнаружения специфических антител при постановке РПГА.

Материалы и методы. В работе использовали термоэкстракт, выделенный из клеток культуры L-трансформанта штамма *Brucella abortus* И-206. Антиген адсорбировали на обработанные формалином эритроциты барана. Постановку РПГА проводили с экспериментальными сыворотками, полученными гипериммунизацией кроликов клетками бруцелл в L-форме. Специфичность сконструированного диагностикума проверяли с коммерческими агглютинирующими сыворотками: поливалентной бруцеллезной, туляреминой, холерной O-агглютинирующей, кишечной синеозными O3 и O9.

Результаты. Сконструирован антигенный эритроцитарный диагностикум на основе термоэкстракта, выделенного из клеток бруцелл в L-форме. Полученный диагностикум выявлял антитела в бруцеллезных кроличьих L-сыворотках в РПГА в разведении 1:640, с сыворотками против бруцелл в S-форме и гетерологичных микроорганизмов — реакция отрицательная, что свидетельствует о его достаточной чувствительности и специфичности.

Закключение. Показана возможность обнаружения антител к бруцеллам в L-форме в сыворотках крови с помощью полученного эритроцитарного диагностикума при постановке РПГА, что свидетельствует о перспективности использования его для усовершенствования лабораторной диагностики бруцеллеза.