

# МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ АКТУАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ»

## ГРАНУЛОЦИТАРНЫЙ АНАПЛАЗМОЗ ЧЕЛОВЕКА — НОВАЯ ИНФЕКЦИЯ ДЛЯ КРЫМА

С.С. Абдулгизис

ГУ НИИ инфекционных болезней и эпидемиологии  
им. Л.В. Громашевского, Киев, Украина

В работах последних лет, посвященных природно-очаговым клещевым инфекциям на территории Крыма, большое внимание уделяется выявлению очагов клещевого энцефалита, клиническим и эпидемиологическим особенностям Лайм-боррелиоза, марсельской лихорадки. Высокая степень адаптации анаплазм к организму членистоногих, экологическая связь их с иксодовыми клещами, регистрация гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) в странах со схожими с Крымом природно-климатическими условиями (Румыния, Польша, Венгрия, Молдова, Россия, Словакия) делает изучение распространения анаплазм на территории Крыма актуальным. По данным российских авторов, в структуре клещевых инфекций ГАЧ занимает второе место, на него приходится 23% всех заболеваний, передающихся с укусом клеща.

Иксодовые клещи были собраны в природе и с животных при помощи «волокуши» и флага в период с сентября по октябрь 2012 г. в различных ландшафтно-географических зонах Крыма. Горная зона — Судакский район с. Грушевка, Алуштинский район с. Лучистое; горнолесная зона — Симферопольский район с. Партизаны, с. Краснолесье, Белогорский район с. Баланово, с. Синекаменка, с. Ароматное; степная зона — Сакский, Ленинский районы. Идентификация клещей по видам осуществлялась по руководству «Определитель членистоногих, вредящих здоровью человека» (Бекленишев В.И., 1957 г.). После определения вида клещей их помещали в чистые пробирки с ватно-марлевыми пробками. Клещей, доставленных в лабораторию, до момента отправки на исследование хранили в холодильнике при температуре +4°C или замороженными при -70°C. Для выявления и дифференциации возбудителей ДНК *A. phagocytophilum* — возбудителя ГАЧ — использовалась ПЦР в режиме реального времени с применением тест-системы «АмплиСенс® TBEV, V. burgdorferi sl, A. phagocytophilum, E. chaffeensis, E. muris-FL». Из 100 пулов исследованных клещей ДНК *A. phagocytophilum* выявлена в 12-ти. Видовой состав переносчиков представлен клещами: *I. ricinus*, *Rh. bursa*, *H. punctata*, *D. marginatus*.

Таким образом, впервые на территории Крыма в клещах *Rh. bursa*, *H. punctata*, *I. ricinus*, *D. marginatus* выявлена ДНК *Anaplasma phagocytophilum*, что позволяет предположить наличие природных очагов гранулоцитарного анаплазмоза человека в пределах ареала иксодовых клещей в горной и горнолесной зонах.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫМИ ДОЗАМИ ИЗОТРЕТИНОИНА СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ ФОРМЫ ACNE VULGARIS

М.Л. Абдухаликова, И.О. Малова, О.А. Чернигова  
ГОУ ВПО Иркутский государственный медицинский  
университет МЗ РФ

Цель исследования: сравнительный анализ эффективности лечения среднетяжелой формы акне различными дозами изотретиноина.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе ГБУЗ «Областной кожно-венерологический диспансер», под наблюдением находилось 94 пациента со среднетяжелой формой акне.

Первая клиническая группа (I) — 52 человека: 30 мужчин в возрасте от 16 до 34 лет, 22 женщины в возрасте от 16 до 35 лет.

Вторая клиническая группа (II) — 42 человека: 26 мужчин от 16 до 33 лет, 16 женщин от 17 до 36 лет.

Длительность заболевания у всех пациентов варьировала от 1 до 5 лет. Пациенты, включенные в группы исследования, отмечали неэффективность проводимой ранее традиционной терапии, возникновение частых рецидивов заболевания. Сопутствующей патологии выявлено не было.

Больные I группы получали изотретиноин из расчета дозы 0,5–1,0 мг/кг в сутки до достижения суммарной курсовой дозы 120–130 мг/кг массы тела.

Больные II группы получали изотретиноин по 10 мг в сутки на протяжении 4 недель, далее по убывающей схеме: 10 мг/сут 5 дней в неделю — 4 недели, 10 мг/сут 3 дня в неделю — 4 недели, 10 мг/сут 2 дня в неделю — 4 недели, 10 мг/сут 1 раз в неделю — 4 недели.

Оценивались критерии клинической эффективности препарата — уменьшение салоотделения, снижение комедонообразования, регресс элементов, динамика поствоспалительных изменений; изучались биохимические параметры крови.

Результаты исследования. После курса лечения в первой клинической группе ремиссия наступила у 61,3% пациентов, улучшение — у 38,7%; в контрольной группе ремиссия — у 57,1% пациентов, улучшение — у 42,9%, без эффекта — не зарегистрировано. На фоне лечения у пациентов I группы был отмечен умеренный и выраженный фациальный дерматит и хейлит, у пациентов II группы эти явления были слабо выражены. Из системных побочных эффектов у 2-х пациентов I группы отмечено носовое кровотечение, у 6-ти — временные незначительные дислипидемии, проходящие самостоятельно. У 1 пациентки из II группы отмечались головные боли в начале лечения.

Выводы. Наше исследование показало высокую эффективность и хорошую переносимость терапии среднетяжелых форм акне низкими дозами изотретиноина. На наш взгляд, дальнейшее изучение данной методики является перспективным.

## СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕНОМА ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ

Д.А. Агафонов, А.В. Шашкова, С.П. Заднова,  
А.В. Черкасов, Н.И. Смирнова

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

*Vibrio cholerae* биовара Эль-Тор, возбудитель текущей, 7-й, пандемии холеры в процессе эволюции претерпел значительные изменения, важнейшим из которых было возникновение геновариантов с повышенной вирулентностью. Характерным признаком геновариантов, впервые появившихся в 1991 г., является наличие в гене *ctxB*, входящем в состав профага СТХф и кодирующем В-субъединицу холерного токсина (ключевого фактора патогенности), двух нуклеотидных замен (тимина на цитозин) в положениях 115 и 203. К настоящему времени геноварианты вытеснили типичные штаммы холеры во многих эндемичных по холере регионах Юго-Восточной Азии и Африки и стали причиной многочисленных эпидемических вспышек.

Цель работы — выявить и изучить изменения в структуре участков генома, связанных с вирулентностью и адаптацией к стрессовым факторам, у геновариантов *V. cholerae* биовара Эль-Тор в современный период эволюции. В результате среди геновариантов, изолированных в 2010 г., были обнаружены штаммы, отличающиеся от выделенных ранее геновариантов присутствием в гене *ctxB* дополнительной мутации, а именно: в положении 58 цитозин был заменен на аденин (С/А). Такая мутация привела к изменению белковой молекулы холерного токсина. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности ряда генов острова патогенности VPI-1 позволил выявить геноварианты, у которых в гене *tcpA*, кодирующем основной белок токсин-корегулируемых пилей адгезии (второго ключевого фактора патогенности), имелась одна несинонимичная нуклеотидная замена: в позиции 266 аденин был заменен на гуанин (А/Г). Далее был проведен сравнительный ПЦР-анализ острова пандемичности VSP-II геновариантов, выделенных в различные временные периоды текущей пандемии холеры (1991–2001 гг. и 2002–2010 гг.). Установлено, что в последнее десятилетие доминируют штаммы, содержащие не только измененный ген *tcpA*, но имеющие протяженную делецию в VSP-II, которая, видимо, определяет эпидемический потенциал возбудителя.

Таким образом, в современный период эволюции продолжающиеся изменения в геноме геновариантов возбудителя выражаются в появлении мутаций разного типа (нуклеотидные замены, делеции) в генах, связанных с вирулентностью и эпидемическим потенциалом. Такие изменения структуры генома могут, видимо, быть причиной повышения вирулентности и эпидемической опасности геновариантов, сформированных в последние годы.

## ВОЗМОЖНАЯ АССОЦИАЦИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ УРОГЕНИТАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

А.А. Агумава, И.М. Аршба, О.А. Тонконоженко  
ФГБУ НИИ медицинской приматологии РАМН, г. Сочи

Проведено исследование ассоциации цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) у обезьян с бактериальными урогенитальными инфекциями: хламидиозом, микоплазмозом и уреоплазмозом.

Материалом для исследования послужили урогенитальные соскобы от 46 макак резус. Из соскобов была выделена ДНК, которая была использована для определения возбудителей методом ПЦР с электрофоретическим методом детекции.

По данным ПЦР-анализа у 13% макак резус был обнаружен цитомегаловирус (ЦМВ), у 22% — *Chlamydia trachomatis*, у 20% *Mycoplasma genitalium* и у 28% — *Ureaplasma urealyticum*. 24 обезьяны из 46 не были инфицированы ни одним из указанных возбудителей. Микст-инфекции встречались реже. Так сочетание всех 4-х инфекций встречалось только у одной обезьяны, а сочетание 3-х инфекций — у 9-ти обезьян. У обезьян с выявленными урогенитальными инфекциями частота обнаружения ЦМВ была выше в 1,8–2,8 раза, чем у обезьян, не инфицированных урогенитальными инфекциями. В группе ЦМВ-положительных хламидиоз встречался у 33% обезьян, микоплазмоз — у 33%, уреоплазмоз — у 50%, тогда как в группе ЦМВ-отрицательных хламидиоз встречался у 20% обезьян, микоплазмоз — у 17,5% и уреоплазмоз — у 25% соответственно.

Непараметрическая статобработка данных с определением коэффициента ассоциации Девида Юла ( $K_{ac}$ ) и коэффициента контингенции Пирсона ( $K_{кон}$ ) показала, что коэффициент ассоциации ЦМВИ с хламидиозом и микоплазмозом колеблется в пределах  $0,33 < K_{ac} < 0,4$  и является статистически слабой положительной связью. Коэффициенты ассоциации и контингенции ЦМВИ с уреоплазмозом составили  $K_{ac} = 0,55$  и  $K_{кон} = 0,21$ , что характерно для статистически средней положительной связи. Однако для числа наблюдений  $N = 46$  критическое значение коэффициента контингенции Пирсона, при уровне значимости  $p < 0,05$ , составляет  $K_{кон критич} = 0,29$  и вследствие этого нельзя утверждать о статистической достоверности ассоциации ЦМВИ с урогенитальными, бактериальными инфекциями.

Увеличение частоты выявления ЦМВ при наличии урогенитальных инфекций, по всей видимости, объясняется иммуносупрессией, индуцированной ЦМВ, при которой повышается восприимчивость организма к бактериальным инфекциям. Вместе с тем, есть данные, что урогенитальные инфекции могут вызвать иммуносупрессию, что в свою очередь может приводить к активации ЦМВ с последующей вирусемией.

## ПОИСК НОВЫХ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

П.Г. Алексюк, А.П. Богоявленский, И.А. Зайцева,  
А.С. Турмагамбетова, М.С. Абитаева, Н.С. Соколова,  
В.Э. Березин

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

При исследовании иммуногенной активности вирусных белков было показано, что форма надмолекулярной организации вирусных антигенов в значительной степени определяет активность индукции противовирусного иммунитета. Изменение формы надмолекулярной организации антигенов за счет создания особых иммуностимулирующих комплексов, включающих вирусные антигены и рас-

тительные тритерпеновые сапонины, позволяет существенно повысить активность индукции гуморального и клеточного иммунитета. Подобный подход является весьма перспективным направлением в разработке нового поколения эффективных и безопасных субъединичных вакцин.

Тритерпеновые сапонины весьма широко распространены в растительном мире. Они обнаружены у растений, принадлежащих более чем к 70 семействам, причём для 150 родов они типичны. Наибольшее количество сапонинсодержащих родов встречается в семействах *Fabaceae*, *Sapotaceae*, *Caryophyllaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Araliaceae*, *Primulaceae*, *Apiaceae* и др. На сегодняшний день изучено более 200 сапонинов тритерпеновой природы. Эти соединения в подавляющем большинстве содержат в качестве агликонов хедерагенин, гипсогенин, олеаноловую и эхиноцистовую кислоты, относящиеся к b-амириновому ряду.

В наших исследованиях были использованы растения, принадлежащие к семейству *Caryophyllaceae*, родов *Saponaria*, *Allochruza*, *Gypsophila*. Выбор растений был обусловлен в первую очередь содержанием в их экстрактах достаточно большого количества тритерпеновых сапонинов. Кроме того, они включены в фармакогнозии ряда стран, что позволит значительно облегчить продвижение препаратов, полученных из этих растений, на фармацевтический рынок.

Установлено, что встраивание вирусных белков в иммуностимулирующие комплексы с сапонинами, выделенными из растений *Gypsophila paniculata*, *Saponaria officinalis*, *Allochruza gypsophiloides*, увеличивает иммуногенность вирусных белков в 8–10 раз. Уровень антител при иммунизации животных иммуностимулирующими комплексами был сопоставим с уровнем антител при иммунизации антигенами в сочетании с адьювантом Фрейнда.

Таким образом, сапонины из растений семейства *Caryophyllaceae* могут являться источником новых иммуностимулирующих препаратов, способных повышать эффективность вирусных вакцин.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ЭТАМБУТОЛУ

М.В. Альварес Фигероа<sup>1,2</sup>, Р.И. Луданный<sup>1</sup>, А.В. Прокопенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup>Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом

Проблема распространения лекарственно-устойчивых штаммов МБТ оставляет мало шансов для полноценной курации больных туберкулезом (ТБ). Поиск эффективных способов определения резистентности к противотуберкулезным препаратам (ПТП) является одной из ключевых задач для решения этой проблемы. Этамбутол (Е) является ПТП I ряда и входит в схемы лечения ТБ при отсутствии МЛУ МБТ. Резистентность к Е обусловлена генетическими изменениями в генах оперона *embSAB*, участвующих в синтезе арабиногалактана и липоарабиноманнана — компонентов клеточной стенки МБТ. На сегодняшний день основной мишенью для детекции резистентности МБТ к Е принято считать точечную мутацию в 306 положении гена

*embB*, что находит отражение в дизайне большинства молекулярно-генетических тестов.

Цель. Определение частот встречаемости мутаций в гене *embB* и их корреляция с фенотипической резистентностью МБТ у больных ТБ жителей московского мегаполиса.

Материалы и методы. В период с 13.10.2008 по 18.05.2009 гг. в 7-й туберкулезной клинической больнице нами собрано 118 клинических изолятов, выросших из образцов биологического материала с количественными показателями бактериоскопии не менее 1 «+». Определение фенотипической чувствительности МБТ к Е (2 и 5 мкг/мл) проводилось с помощью метода абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна–Йенсена. Генетическое определение чувствительности проводилось методом прямого секвенирования по Сэнгеру гена *embB*.

Результаты. Первоначальному генетическому анализу подвергся фрагмент гена длиной 936 п.н., в котором сосредоточены 97% из 266 мутаций, описанных в литературе. Из 118 клинических изолятов сравнительному анализу подверглась выборка из 97 образцов, непосредственно для которых определялась фенотипическая чувствительность: 69 чувствительных и 29 устойчивых штаммов. В результате генетического анализа нами обнаружены: 51 изолят с одной мутацией, 39 — без мутаций, 5 — с 2 мутациями и 3 — со смесью мутантного и дикого типов. Всего нами обнаружены 19 различных мутаций, при этом 3 из них ранее не были описаны в литературе. Наиболее часто встречались аминокислотные замены в р. Met306Val — 28,4%, в р. Met306Ile — 17,9%, в р. Asp354Ala — 10,5% и в р. Gln497Arg — 4,5%. Сопоставлению между фенотипической и генетической чувствительностью подверглись 90 изолятов без смесей. Корреляция составила 43% для фенотипически резистентных штаммов и 53% — для чувствительных.

Требуются дополнительные исследования для создания эффективных генетических тестов определения резистентности МБТ к Е.

#### ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ ПАРВОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА В19

А.Ю. Антипова, Ю.В. Останкова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Генотипирование и филогенетический анализ геновариантов патогенов, циркулирующих на той или иной территории, позволяют совершенствовать эпидемиологический надзор за инфекциями.

Ранее было установлено широкое распространение парвовирусной инфекции (ПВИ) на территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО) РФ. Мониторинг эндемичных и завозных случаев заболевания — важная составляющая надзора за ПВИ. Однако в настоящее время отсутствует единый протокол генотипирования диких штаммов парвовируса В19 (PV В19), геном которого представлен однонитевой ДНК.

Целью нашей работы стала оптимизация и апробация различных методических подходов к генотипированию PV В19.

Исследовали 61 образец сывороток крови (СК), полученных от больных с лабораторно подтвержден-

ной в ИФА ПВИ, и от здоровых лиц, а также 30 ротоглоточных смывов (РС), полученных от больных с макуло-папулезной сыпью. Для выделения и количественного определения ДНК PV В19 использовали тест-наборы производства ЦНИИ эпидемиологии (Россия). При ранжировании образцов по уровню вирусной нагрузки из 34 СК и 7 РС были отобраны 9 и 4 соответственно.

Для амплификации и секвенирования использовали методы пробоподготовки, условия реакций и праймеры, как описанные в литературе, так и подобранные в ходе настоящей работы. Генотипирование PV В19 проводилось по локусу NS1–VP1u (994 п.о.), наиболее полно характеризующему филогенетическое положение изолятов.

В результате найдены оптимальные условия генотипирования PV В19. Впервые сконструирована и использована оригинальная пара праймеров для секвенирования. Определены нуклеотидные последовательности 8 изолятов PV В19, выделенных на территориях СЗФО. Установлено, что клиническим материалом для молекулярно-генетических исследований может быть как СК, так и РС; показана необходимость высокой вирусной нагрузки в отобранных для исследования пробах.

Сравнительный и филогенетический (<http://www.phylogeny.fr>) анализы полученных данных с имеющимися в международной базе, подтвердили секвенирование NS1–VP1u участка генома PV В19. Изоляты относятся к генотипу 1А и могут быть выделены в кластер RUS1. Нуклеотидные последовательности 8 изолятов PV В19 депонированы в коллекцию GenBank (Национальный институт здоровья, США; accession number: JX435809, JX644426 — JX 644432).

## ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

А.Ю. Антипова, И.Н. Лаврентьева

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

Широкий спектр клинических проявлений парвовирусной инфекции (ПВИ) и наличие обширной группы риска, к которой относятся беременные женщины, лица с иммунодефицитными состояниями, заболеваниями крови и нуждающиеся в донорской крови или трансплантации, обуславливают актуальность лабораторной диагностики инфекции.

С целью определения оптимальной стратегии лабораторной диагностики ПВИ использовали два метода — ПЦР и ИФА. В образцах (сыворотках крови) больных с макуло-папулезной сыпью, взятых на разных сроках от начала высыпаний, определяли следующие маркеры: IgM-, IgG-антитела и ДНК парвовируса В19.

В первые 3–14 суток от начала высыпаний у больных с лабораторно подтвержденной ПВИ были определены: один лабораторный маркер инфекции — в 21,3% случаях (IgM+) или в 5,2% случаев (ДНК+); два лабораторных маркера (IgM+, IgG+, ДНК–) — в 21,3% случаев; все три показателя инфицирования (IgM+, IgG+, ДНК+) — в 52,2% случаях.

Лабораторное обследование больных, подозрительных на парвовирусную инфекцию, в зависимости от срока от начала заболевания, может включать: от контакта с другим экзантемным больным до появления клинических симптомов — ПЦР для

определения ДНК вируса; первые 7–9 дней с момента появления симптомов и/или обращения к врачу — определение ДНК вируса и антител класса IgM; спустя 10–14 дней от появления сыпи — определение IgM- и IgG-антител (в динамике) или ДНК вируса в ПЦР.

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОТИПОВ И ЧАСТОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IL-28В У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Н.А. Арсентьева<sup>1</sup>, Ю.В. Останкова<sup>1</sup>, В.В. Басина<sup>2</sup>, К.В. Козлов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

<sup>3</sup>ФГЗВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург

Введение. Исходы вирусного гепатита С во многом зависят от иммунного ответа, определяемого генетическими особенностями организма-хозяина. Показано, что полиморфизмы гена IL-28В имеют значение при оценке особенностей течения хронического гепатита С (ХГС) и типа ответа на противовирусную терапию. Целью данного исследования стало изучение распределения генотипов и частот полиморфизма rs12979860 гена IL-28В в группах больных ХГС и здоровых жителей Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. Материалом исследования служила венозная кровь 48 больных ХГС и 38 условно здоровых доноров. Полиморфизм в области rs12979860 гена IL-28В определяли методом полимеразной цепной реакции с последующей обработкой рестриктазой BspFN I и анализом полиморфизма длин рестрикции фрагментов (ПДРФ) в полиакриламидном геле. Геномную ДНК выделяли с помощью фенол-хлороформной экстракции с модификациями. Статистический анализ осуществляли с применением GraphPad Prism 6. Для сравнения генотипов и частот аллелей использовали  $\chi^2$  и точный критерий Фишера.

Результаты. Анализ распределения генотипов полиморфизма rs12979860 гена IL-28В в исследованной группе (больных ХГС и здоровых доноров) показал, что генотип С/С встречался в 24% случаев, Т/Т — в 29% и С/Т — в 47%. Среди больных ХГС распространенность генотипов составила: С/С — 32%, Т/Т — 24% и С/Т — 45% и не отличалась от контрольной группы. Общий анализ частот аллелей у обследованных людей выявил, что аллель С встречается в 48% случаев, аллель Т — в 52%. Распределение частот аллелей не отличается в группах больных ХГС и здоровых доноров.

Выводы. Анализ полиморфизма rs12979860 гена IL-28В показал, что у жителей Санкт-Петербурга наиболее распространен генотип С/Т, аллели С и Т встречаются с одинаковой частотой. Не обнаружено различий в распределении генотипов и частот аллелей среди больных ХГС и условно здоровых доноров, возможно, это связано с небольшой выборкой в группах. В дальнейшем требуется увеличение выборки и исследование распределения генотипов и частот аллелей среди больных ХГС в зависимости от стадии заболевания, активности инфекционного процесса и ответа на противовирусную терапию.

**РОЛЬ ЭТИКИ В НАДЗОРЕ И КОНТРОЛЕ  
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ****А.Ж. Асатрян, О.И. Кубарь***ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург*

Особое значение в противодействии эпидемиям в современном мире приобретают этико-правовые аспекты, включающие вопросы соблюдения фундаментальных прав человека и разрешения конфликта интересов индивидуума и общества при реализации данных прав. На всех этапах развития эпидемий, а также формирования общественного отношения к ним, очевидной становится необходимость медико-социальной реакции государственных структур и общества на глобальные эпидемические катастрофы, где доминантой является гарантия соблюдения индивидуальных человеческих ценностей. Данное положение ставит вопрос о создании системы формирования этического правосознания и этического самосознания у человека и общества в целом, в реальных эпидемических условиях и соблюдения принципа социальной справедливости в здравоохранении. При осуществлении профилактических мероприятий принципиальным условием является объективная и корректная информация, поданная в понятной форме и обращенная к конкретным контингентам. Информация должна отражать все преимущества и риски вакцинопрофилактики, последствия отказа, условия проведения и государственные гарантии. Примером нарушения морально-этических принципов явилась антипропаганда прививок против дифтерии, что спровоцировало общественное недоверие и уклонение от вакцинации, и привело к возникновению эпидемии дифтерии в России в 90-е годы XX в. Угроза подобных ситуаций не может быть исключена и в наши дни. Важным нравственным аспектом должна служить гарантия безопасности вакцинопрофилактики, что предусматривает целый комплекс юридических, организационных и квалификационных мер. С точки зрения полноценного воплощения базисных принципов биоэтики требуется исполнение принципа распределительной справедливости, что основано на соблюдении этики продвижения профилактических препаратов, их равной доступности при равных показаниях, а также равных и справедливых возможностях выбора. Таким образом, биоэтические критерии отражают общие этические ценности, которые на современном этапе развития цивилизации из сугубо религиозных или философских концепций претерпевают этап перехода в этические нормы, которые, как отдельные государства, так и мировое сообщество в целом, могут и обязаны приспособить к своим национальным системам, в соответствии с политическими, экономическими, культурными и социальными условиями.

**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ  
В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ****А.Н. Афанасьева, Л.В. Лялина, М.В. Березина***ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург**Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу  
Городская детская больница № 5 им. Н.Ф. Филатова,  
Санкт-Петербург*

Острые кишечные инфекции (ОКИ) относятся к числу актуальных проблем здравоохранения. В 2012 г. в Санкт-Петербурге в структуре инфекци-

онных заболеваний без гриппа и других ОРВИ доля кишечных инфекций составила 29,4%, воздушно-капельных — 29,2%. Среди острых кишечных инфекций наибольший удельный вес занимали ОКИ неустановленной этиологии — 71%. В структуре ОКИ установленной этиологии до 2009 г. основная доля приходилась на инфекции бактериальной природы. После включения в государственное статистическое наблюдение регистрации норовирусной инфекции, ОКИ вирусной этиологии в структуре острых кишечных инфекций с установленным возбудителем стали занимать 54% в 2009 г. и 56% в 2012 г.

В настоящее время норовирусный гастроэнтерит является одной из значимых проблем для Санкт-Петербурга и занимает второе место в инфекционной вирусной кишечной патологии после ротавирусной инфекции. Уровень заболеваемости населения Санкт-Петербурга инфекцией, обусловленной вирусом Норволк, определяется в основном заболеваемостью детей. Показатель заболеваемости детей до 14 лет в 2009–2012 гг. составил 44,8 на 100 тыс. детского населения указанного возраста, что в 9,3 раза выше уровня регистрируемой заболеваемости взрослых — 4,8 на 100 тыс. населения.

В 2012 г. заболеваемость норовирусной инфекцией детей до 14 лет достигла 91,6 на 100 тыс. человек, среди взрослых — 8,9 на 100 тыс. В структуре детской заболеваемости наиболее высокий удельный вес приходится на детей в возрасте 1–2 лет — 38%, и 20,4% занимали дети в возрасте до 1 года. Согласно опубликованным данным японских исследователей, доля детей до 3-х лет, заболевших норовирусной инфекцией, составила 84,5% (Mugata T. et al., 2007).

Удельный вес заболеваний среди детей в возрасте 3–6 лет в Санкт-Петербурге в 2012 г. составлял 22,4%, 7–14 лет — 19,3%. По данным итальянских исследователей, 36,5% детей, больных норовирусной инфекцией, были старше 5 лет и лишь 10,1% — младше 5 лет (Caracciolo S. et al., 2007). Значимость этой инфекции определяется и тенденцией к широкому распространению с формированием эпидемических очагов. В 2010 г. в Санкт-Петербурге зарегистрирован групповой очаг норовирусной инфекции с 17 пострадавшими и пищевым путем передачи возбудителя, что свидетельствует о необходимости совершенствования эпидемиологического надзора и профилактики заболевания.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ  
И СЕРОЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЭНТЕРОВИРУСА 71 ТИПА  
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ****Л.В. Ахмадишина<sup>1</sup>, О.Е. Иванова<sup>1</sup>, Г.А. Королева<sup>1</sup>,  
М.И. Михайлов<sup>1</sup>, О.Е. Троценко<sup>2</sup>, А.Н. Лукашев<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов  
им. М.П. Чумакова РАМН, Москва*<sup>2</sup>*Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
Роспотребнадзора*

Энтеровирус 71 типа (ЭВ71) является самым нейровирулентным непوليوмиелитным энтеровирусом. Наиболее часто неврологические осложнения и случаи с летальным исходом, вызванные ЭВ71, наблюдаются среди детей дошкольного возраста. Начиная с 1972 г., вспышки, вызванные ЭВ71, регистрировались по всему миру. В последние 15 лет основные эпидемии ЭВ71 инфекции с поражением ЦНС отмечены

на Тайване, в Сингапуре, во Вьетнаме, Малайзии, Японии и Австралии. В Китае с 2008 по 2011 гг. регистрировались эпидемии численностью от 500 тыс. до 1,5 млн человек, число летальных случаев составляло от 126 до 905 в год. В 2011 г., по официальным данным, число пораженных ящуроподобным заболеванием в Китае достигало 3,4 млн человек.

Информация о циркуляции ЭВ71 в России и о популяционном иммунитете отсутствует. Наиболее важным является вопрос о возможности возникновения эпидемии ЭВ71 в Российской Федерации, в особенности в Хабаровском крае, граничащим с Китаем. Задачей данного исследования было изучение молекулярной эпидемиологии и сероэпидемиологии энтеровируса 71 типа в Российской Федерации.

В России надзор за энтеровирусами осуществляется в рамках программы ВОЗ по ликвидации полиомиелита и энтеровирусного надзора в РФ и странах СНГ. Энтеровирус 71 типа выявляется в ряду со всеми остальными энтеровирусами, то есть в России непосредственного надзора за циркулирующей ЭВ71 не существует. В рамках надзора за полиомиелитом в региональной референс-лаборатории в Москве в период с 2000 по 2012 гг. были исследованы более 4000 штаммов неполиомиелитных энтеровирусов. Всего было выявлено 23 представителя ЭВ71. Филогенетический анализ был выполнен для всех штаммов. Четыре вируса с идентичной нуклеотидной последовательностью были исключены из дальнейшего анализа. Для изученных вирусов была определена полная нуклеотидная последовательность в области генома VP1. На основании сравнения со штаммами, представленными в GenBank, было установлено, что 12 штаммов ЭВ71 являлись представителями наиболее широко распространенных в Европе субгенотипов C1 и C2, а 7 штаммов — субгенотипа C4, циркулирующего с 1998 г. преимущественно в странах Азиатско-Тихоокеанского региона. Генотипы C1 и C2 выявлялись в РФ преимущественно до 2011 г., а начиная с 2011 г. доминирующим генотипом стал C4. Филогенетический анализ указывает на 15 независимых заносов вируса на территорию РФ и СНГ, вероятнее всего, из стран Европы и Китая. Несмотря на циркуляцию вируса, случаев подъема заболеваемости ЭВ71 или вспышек на территории России до сих пор зарегистрировано не было.

Для изучения сероэпидемиологии ЭВ71 были обследованы сыворотки крови здоровых детей в возрасте 1–5 лет ( $n = 831$ ) из 6 регионов РФ: Московской области, Ростовской области, Свердловской области, Тывы, Якутии и Хабаровского края. Нейтрализующие антитела к ЭВ71 в титре 1:8 и выше были выявлены у 12,6% детей в возрасте 1–2 года и у 41,9% детей в возрасте 3–5 лет. Доля серопозитивных лиц среди детей 1–2 лет колебалась в обследованных регионах от 5 до 20%, а среди 3–5-летних — от 19 до 83%. В изучаемых регионах были проанализированы факторы, возможно имеющие влияние на долю серопозитивных лиц среди детей дошкольного возраста. Наблюдалась зависимость уровня серопозитивности от доли представителей монголоидной расы в регионе и интенсивности контактов с Китаем.

На основании полученных данных о циркуляции вируса и значительном уровне популяционного иммунитета вероятность возникновения вспышки

ЭВ71 инфекции на территории РФ была оценена как низкая. В то же время, высокая частота заноса вируса, в том числе и из эндемичных регионов, указывает на необходимость продолжения надзора за циркуляцией ЭВ71 в РФ.

### **КОНЦЕНТРАЦИЯ РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ, УЧАСТВУЮЩИХ В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОГО СИНАПСА, ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ**

**А.А. Бабаев, Г.А. Кравченко, Т.А. Свицова, Н.А. Спиридонова, В.В. Новиков**

*ФБУН Нижегородский НИИЭМ им. И.Н. акад. Блохиной*

*Роспотребнадзора*

*ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный университет*

*им. Н.И. Лобачевского*

Начальным этапом формирования иммунологического синапса служит инициирующее взаимодействие белков адгезии, расположенных на мембранах Т-лимфоцита и клетки-партнера. Мембранный белок LFA-1 (CD11a/CD18) связывается с одним из белков адгезии группы ICAM (CD50, CD54), тем самым создаются условия для взаимодействия Т-клеточного рецептора с молекулами главного комплекса гистосовместимости, несущими связанные с ними разнообразные пептиды.

В работе использованы 180 образцов сыворотки крови здоровых доноров, полученных из Нижегородской областной станции переливания крови, и образцы сыворотки крови пациентов с инфекционным мононуклеозом (34 человека), полученных из Городской клинической инфекционной больницы № 2. Определение уровня растворимых форм мембранных антигенов проводили двухсайтовым иммуноферментным методом с применением моноклональных и поликлональных антител против мононуклеарных клеток периферической крови человека. Сывороточные уровни растворимых антигенов оценивали, переводя единицы оптической плотности в условные единицы (U/ml).

Инфекционный мононуклеоз характеризовался повышением содержания растворимой CD54 молекулы в 2,7 раза, растворимого CD50 белка — в 3 раза, а растворимой CD18 молекулы — в 2 раза по сравнению с контрольной группой.

Наши результаты подтверждаются данными литературы. Содержание растворимой молекулы CD54 значительно повышается при остром мононуклеозе. Авторы полагают, что CD54 является важной составляющей регулирующей системы иммунных реакций в течение острого инфекционного мононуклеоза (Furukawa S. et al., 1993).

При инфекционном мононуклеозе повышался уровень растворимых ассоциатов CD18-CD54 в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Статистически значимых отличий между содержанием растворимых комплексов CD18-CD50 в сыворотке крови больных инфекционным мононуклеозом и в контрольной группе обнаружено не было.

Вирус Эпштейна–Барр вызывает пролиферацию лимфоцитов, в крови отмечается лейкоцитоз. Увеличивается активность Т-супрессоров, цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров, отражением чего являются повышенные уровни растворимых молекул адгезии, участвующих в формировании иммунного синапса.

## СОВРЕМЕННЫЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛИХОРАДКИ КРЫМ-КОНГО НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЛМЫКИЯ

Е.К. Бадмараева

ГБОУ ВПО Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар

Острые инфекционные заболевания вирусной этиологии с природной очаговостью являются одной из главных проблем здравоохранения в большинстве стран мира. В их числе — Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ), которая позднее получила международное обозначение — «Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ)» (Доклады ВОЗ, 1986). Согласно «Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем» (МКБ-10), ККГЛ кодируется А 98.0. В соответствии с классификацией патогенных для человека микроорганизмов, вирус ККГЛ относится ко II группе патогенности (опасности) (СП 1.3.1285-03). За 13 лет был зарегистрирован 301 больной и 6 летальных исходов. Клинико-эпидемиологический анализ 129 медицинских карт стационарных больных, карт эпидемиологического обследования очагов ККГЛ, позволил заключить, что на территории республики расширяется ареал прокормителей и переносчиков вируса. Наиболее часто больные ККГЛ регистрировались в г. Элиста, Городовиковском, Ики-Бурульском, Кетченеровском, Приютненском, Целинном, Яшалтинском и Яшкульском районах. Первые случаи ККГЛ регистрировались в мае, пик заболеваемости приходился на июнь. Указанные лица — в основном жители сельской местности. Чаще заболевают люди, работающие в животноводстве (группа риска), которые заразились при уходе за сельскохозяйственными животными на частных подворьях и фермерских хозяйствах. Заболеваемость регистрировалась, в основном, в возрасте 20–50 лет. В подавляющем большинстве случаев заражение происходило при укусе клещом, иногда при снятии и раздавливании клещей, некоторые больные отмечали только «наползание» клеща без укуса. Данные наблюдений показывают четко выраженную тенденцию укорочения срока инкубации, геморрагический синдром регистрируется реже, среднетяжелое течение преобладает над тяжелым. В сборах клещей доминировали *Hyalomma marginatum*, тогда как в предыдущие годы определялись и другие виды — *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma scupense*, *Dermacentor marginatus*.

Выводы. На территории Республики Калмыкия функционирует природный очаг ККГЛ с благоприятными условиями для активности возбудителя, что представляет реальную угрозу для здоровья и жизни населения и требует дальнейшего совершенствования эпизоотолого-эпидемиологического мониторинга.

## СОЗДАНИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДИПЛОИДНЫХ КЛЕТОК

А.А. Бахарев, Н.А. Шмелева, Т.Л. Бахарева, П.В. Устьянцев, Н.П. Глинских

ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора

В настоящее время аллокетки достаточно широко используются для лечения различных поражений кожных и слизистых покровов. В институте также

была зарегистрирована для этих целей клеточная культура ЛЭЧ-4(81). Однако в ходе экспериментов на животных возникли сомнения в возможности приживания клеток человека в организме, например, крысы. Позднее, при лечении ожоговых больных, был установлен тот факт, что генетический материал диплоидных клеток не определяется стандартной реакцией идентификации личности в организме реципиента уже после 72 часов, при этом факт их положительного влияния на процессы заживления ожоговых ран сомнению не подлежит. В связи с этим было сделано предположение, что основным действующим фактором данного типа препаратов могут быть не сами клетки, а выделяемые ими продукты жизнедеятельности. Если учесть существующее в настоящее время мнение о том, что в культуре клеток, в общем, повторяются процессы, характерные для организма, то можно предположить, что активно растущая клеточная культура по своим свойствам и набору активных веществ соответствует активно заживающей ране.

В связи с этим, на основе диплоидной культуры фибробластов был получен пул биологически активных веществ. Исследования показали отсутствие в данной субстанции не только живых клеток, но и способных к какому-либо синтезу ДНК.

Полученный продукт был исследован на содержание цитокинов, определяющих успешное течение процесса заживления ран. Эксперименты показали наличие всей группы необходимых веществ в количестве, достаточном для стимуляции процессов заживления.

Кроме того, было выявлено значительное содержание интерферонов- $\alpha$  и - $\beta$ .

Соотношение содержания интерферонов, интерлейкинов IL-1, IL-6, а также TNF $\alpha$  оказалось близким к таковому при бурном, но благоприятном течении герпесвирусной инфекции.

В связи с этим был проведен ряд экспериментов на животных, связанных с лечением экспериментальной герпесвирусной инфекции. Полученные данные показали высокую противогерпетическую активность препарата.

Таким образом, можно считать доказанной возможность использования комплекса биологически активных веществ, выделяемых диплоидными клетками, для лечения не только механических повреждений кожных и слизистых покровов, но и вызванных различными вирусными агентами.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА В В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Р.Б. Баяндин<sup>1</sup>, Г.В. Кочнева<sup>1</sup>, С.Ф. Сиволобова<sup>1</sup>, А.А. Гражданцева<sup>1</sup>, С.В. Нетесов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», г. Новосибирск

<sup>2</sup>ГОУ Новосибирский государственный университет

Введение. В последние годы, благодаря массовым программам вакцинации, заболеваемость вирусом гепатита В (ВГВ) значительно снизилась. Однако у пациентов с хронической формой ВГВ возможны отдаленные последствия для здоровья вплоть до цирроза и рака печени. В масштабах страны это грозит значительным финансовыми затратами на лечение этих граждан, снижением работоспособности, серьезными демографическими проблемами. Принимая во внимание общие пути передачи ВГВ со многими инфекциями, от которых нет вакцин

(такие как ВИЧ и ВГС), актуально выявление наиболее важных путей и механизмов передачи в конкретной стране или регионе.

Цель и задачи. Определение генотипического разнообразия изолятов ВГВ и факторов риска инфицирования среди определенных групп жителей Западной Сибири.

Результаты. Частота встречаемости HBsAg составила: 3,6% в группе поликлинических пациентов, 5,4% среди медработников, 8,4% у пациентов наркодиспансера, 35% у пациентов центра СПИД, 36,5% у пациентов из Барнаула. Генотипированы 246 изолятов ВГВ. Распределение было следующее: в НСО — 168 изолятов генотипа D, 3 — генотипа A, 2 — генотипа C. В Алтайском крае также преобладал генотип D (72 изолята) и 1 — A. В группах НСО наибольший риск у лиц, употреблявших наркотики (OR = 6,75). Риск серопозитивности был повышен у лиц, имевших в течение жизни более 4 половых партнеров (OR = 2,23); имевших половые контакты с больными ГВ (OR = 2,12); бывших в местах лишения свободы (OR = 2,58). Значимыми факторами риска оказались молодой возраст (OR = 1,79 до 30 лет) и пол (для ситуации муж/жен OR = 1,85). У пациентов Барнаула наибольшие факторы риска обнаружены для мужчин, имевших половой контакт с мужчинами (OR = 8,79); для лиц, имевших более двух половых партнеров за последние полгода, причем максимальными они были в подгруппах женщин (OR = 5,15) и лиц старше 30 лет (OR = 4,51). Повышенные риски обнаружены для лиц, имевших контакты с кровью (OR = 4,05).

Выводы. Выявлена встречаемость маркеров ВГВ у различных групп населения Западной Сибири. Более низкий уровень встречаемости в группе медицинских работников, вероятно, связан с профессиональной грамотностью и аккуратностью. Более высокий процент выявления ВГВ инфекции в группе пациентов наркологического диспансера объясняется употреблением наркотиков и/или алкоголя. Среди пациентов из Барнаула и новосибирского центра СПИД была высока доля обратившихся по поводу различных гепатитов, поэтому отмечался самый высокий процент встречаемости. Анализ генотипического разнообразия выявил значительное преобладание генотипа D.

### ДИНАМИКА РАЗМНОЖЕНИЯ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ЧЛЕНИСТОНОГИХ

О.А. Белова<sup>1,2</sup>, Л.И. Козловская<sup>1</sup>, L. Bell-Sakyi<sup>3</sup>, Г.Г. Карганова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>The Tick Cell Biobank, The Pirbright Institute, Pirbright, Woking, United Kingdom

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) проходит циклы размножения как в клетках млекопитающих, так и в клетках клещей. Ранее было показано, что при адаптации штамма ЭК-328 ВКЭ к клещам *Hyalomma marginatum marginatum* отобранся вариант М, который отличается от родительского штамма низкой нейтроинвазивностью, мелкобляшечным фенотипом, отсутствием гемагглютинирующей активности и заменами в аминокислотной последовательности

поверхностного гликопротеина Е и неструктурных белков, отвечающих за чувствительность к интерферону. При этом, при заражении клещей *Hyalomma turanicum* вариант М достигал более высоких титров, чем ЭК-328, и сохранял свои свойства в течение 5 обратных пассажей через мозг мышей.

В настоящем исследовании мы наблюдали за динамикой размножения штамма ЭК-328 и варианта М в культурах клеток клещей *H. anatolicum anatolicum* — НАЕ/СТVM8 (32°C), *I. ricinus* — IRE/СТVM19 (28°C), в клетках комаров — С6/36 (32°C), а также в клетках почки эмбриона свиньи (СПЭВ) (32°C и 37°C).

При репродукции ЭК-328 и варианта М в клетках СПЭВ наблюдали цитопатическое действие (ЦПД) на клетки, и титры варианта М в культуральной жидкости (КЖ) были на 1–2 десятичных логарифма бляшкообразующих единиц (lgБОЕ) ниже, чем титр штамма ЭК-328. При этом динамика размножения указанных вирусов в обеих культурах клеток клещей была идентична. Титры вирусов достигали 7–8 lgБОЕ/мл к 48 ч, постепенно снижались и сохранялись на достаточно высоком уровне (3–4 lgБОЕ/мл), вплоть до 15–36 дней (время наблюдения) без признаков ЦПД. Исползованные линии клеток клещей различались по времени начала прироста титра инфекционного вируса в КЖ. В клетках СПЭВ длительность инкубационного периода зависела от температуры.

По нашим данным, ВКЭ размножался в клетках комаров С6/36, однако вирус не достигал высоких титров и через 6 дней элиминировался.

Полученная информация необходима для изучения механизмов персистенции ВКЭ в членистоногих.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАВОЗНЫХ СЛУЧАЕВ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ, ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ В 2011–2013 гг.

С.А. Берилло, М.Ю. Карташов, Е.В. Чаусов, А.Н. Шиков, А.О. Семенова, И.В. Агафонова, Е.И. Сергеева, В.А. Терновой, А.П. Плясунов, А.Н. Сергеев

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область

Лихорадка Денге — вирусное заболевание, передающееся человеку через укусы комаров рода *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*. Вирус Денге является представителем семейства *Flaviviridae* и имеет четыре субтипа, каждый из которых способен вызвать заболевание у человека.

За последние десятилетия заболеваемость лихорадкой Денге во всем мире резко возросла. В настоящее время более 2,5 млрд человек (что составляет около 40% населения мира) подвергаются риску заболевания лихорадкой Денге. По оценкам ВОЗ, ежегодно в мире может происходить 50–100 млн случаев инфицирования вирусом Денге. Ежегодно 500 тыс. человек с тяжелой формой лихорадки Денге нуждаются в госпитализации, причем значительную долю из их числа представляют дети. Примерно 2,5% людей, пораженных болезнью, умирает. В связи с ухудшением эпидемиологической обстановки по лихорадке Денге в мире и увеличением числа российских граждан, посещающих эндемичные районы, увеличивается риск завоза данной инфекции на территорию России. Первые завозные случаи заболевания денге в РФ были зарегистрированы в 2010 г. (Берилло С.А. и др., 2012).

С апреля 2011 г. по март 2013 г. в ГНЦ ВБ «Вектор» в сыворотках крови 35 пациентов с подозрением на лихорадку Денге методом иммунохроматографии были выявлены маркеры этого заболевания (NS1-антиген, антитела классов IgM и IgG). Из них 34 пациента накануне заболевания находились в Таиланде, 1 пациент вернулся из Мексики.

В ГНЦ ВБ «Вектор» была разработана диагностическая система, основанная на методе ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, с помощью которой РНК вируса денге была выявлена в сыворотках крови от 14 пациентов. Генотипирование этих 14 изолятов проводили определением нуклеотидных последовательностей участка (260 п.н.) 5'-нетранслируемой области вирусной РНК и сравнением их с известными последовательностями геномов четырех субтипов вируса денге из базы данных NCBI. У 12 пациентов, прибывших из Таиланда, был обнаружен генотип 1 вируса денге, у одного — генотип 4 и у одного пациента, прибывшего из Мексики, был обнаружен генотип 2 вируса денге.

### **РОЛЬ МИГРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В ДИНАМИКЕ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КОРЬЮ НА ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИИ**

**М.А. Бичурина, Н.В. Железнова, Е.В. Тимофеева**  
*ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург*  
*Управление Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу*

На территориях Северо-Западного федерального округа (СЗФО) в 2007–2011 гг. заболеваемость корью была низкой, показатель заболеваемости варьировал от 0,02 до 0,06 тыс. населения, в 2009 г. случаи кори не регистрировались. В России с 2008 г. прервана циркуляция эндемичного вируса кори генотипа D6, заболеваемость корью сохранялась на низком уровне и была обусловлена импортированием вируса кори разных генотипов из эндемичных регионов земного шара. В 2010 г. в СЗФО зарегистрировано 3 случая кори в Санкт-Петербурге у лиц, возвратившихся после отдыха в Европе (Греция, Германия). У больных был выделен и идентифицирован штамм вируса кори генотипа D4 «Enfield 2007», широко циркулировавший в Западной Европе. В 2011 г. продолжался процесс внешнего импортирования кори на территории СЗФО (Санкт-Петербург, Ленинградская и Калининградская области). Из семи зарегистрированных в 2011 г. случаев кори один случай был завозной у жителя Узбекистана, у которого выделен вирус кори генотипа D4 «Иран 2010». Остальные шесть случаев были импортированы из стран Европы. У двух больных были выделены и идентифицированы штаммы вируса кори генотипа G-3, у остальных обнаружен генотип D4 «Enfield 2007». В 2012 г. ситуация по кори в СЗФО резко изменилась. Помимо внешнего импортирования случаев кори на территориях СЗФО, имел место многократный завоз кори с территорий Российской Федерации, прежде всего из республик Северного Кавказа (Чеченской, Карачаево-Черкесской и Республики Дагестан). Заносы кори были зафиксированы в Санкт-Петербурге, Республике Коми и Вологодской и Мурманской областях. Из материала от больных были выделены и идентифицированы штаммы вируса кори генотипа D4 «Иран

2010», широко циркулировавшего в 2012 г. на многих территориях России. Кроме того, в Мурманскую область из Украины был завезен вирус кори генотипа D4 «Enfield 2007». Большая вспышка кори была зарегистрирована в Санкт-Петербурге в результате заноса инфекции в детскую больницу пациентом, прибывшим из Чеченской Республики. Распространению инфекции способствовали поздняя диагностика и изоляция первого заболевшего корью, который был госпитализирован в отделение, где было сосредоточено большое количество детей, не привитых против кори по возрасту или по состоянию здоровья. Таким образом, бурные внешние и внутренние миграционные процессы способствовали завозу и распространению кори на территориях СЗФО в последние годы.

### **ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО КОРЬЮ НА ТЕРРИТОРИЯХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО РЕГИОНАЛЬНОГО ЦЕНТРА В 2012 г.**

**М.А. Бичурина, Н.В. Железнова, Л.В. Лялина, Е.В. Тимофеева**  
*ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург*  
*Управление Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу*

На территориях Санкт-Петербургского регионального центра в 2009–2011 гг. регистрировались единичные импортированные случаи кори. В 2012 г. зарегистрировано 152 лабораторно подтвержденных случая кори, 137 из которых выявлены в Санкт-Петербурге. Это связано со вспышкой кори в детской городской больнице, возникшей после госпитализации подростка, прибывшего из Чеченской Республики. Остальные случаи регистрировались в Ленинградской, Мурманской, Вологодской областях и Республике Коми, все они были или завозными, или связанными со вспышкой кори в Санкт-Петербурге. Среди заболевших 62% составляли дети, которые в 93% случаев не были привиты или по возрасту, или по медицинским показаниям. Клиническая картина у не привитых характеризовалась типичным течением, в основном, среднетяжелой формой заболевания, тяжелые случаи отмечены у 3,5% детей, осложнения в виде пневмонии, острого бронхита, острого отита зарегистрированы у 10,5% пациентов. Среди привитых взрослых у 42% лиц была зафиксирована легкая форма течения заболевания без осложнений. Результаты молекулярно-генетических исследований подтвердили импортирование вируса кори генотипа D4 «Иран 2010» в Санкт-Петербург и Республику Коми. В Мурманскую область вирус кори генотипа D4 «Enfield 2007» был завезен из Украины.

Установлено, что лабораторно-диагностические показатели у вакцинированных и не привитых имели существенные различия. У не привитых больных показатель оптической плотности при определении IgM-антител в ИФА составил в среднем 3,28 о.е, у вакцинированных он был в три раза ниже и составил 1,13 о.е. Имели место различия и в формировании IgG-антител в зависимости от вакцинного статуса больного. У большинства на 4–7 дни после появления сыпи титры IgG-антител были высокими (более 5 МЕ/мл), в то время как у не вакцинированных IgG-антитела отсутствовали в 78% случаев, в остальных случаях титры IgG-антител были низкими.

Результатами лабораторного исследования доказано, что в эпидемический процесс при массивном заражении могут быть вовлечены не только не вакцинированные лица, но и привитые дети и взрослые. Иммунный ответ у заболевших корью привитых проявлялся по вторичному типу с формированием высокого уровня IgG-антител уже на 4–7 дни после появления сыпи, при этом IgG-антитела обладали высокой степенью авидности.

### СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ВНУТРИВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *YERSINIA*

Е.А. Богумильчик<sup>1</sup>, М.В. Афанасьев<sup>2</sup>, М.Б. Ярыгина<sup>2</sup>, Г.Я. Ценева<sup>1</sup>, Е.А. Воскресенская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора

Род *Yersinia* включает обширную группу грамотрицательных факультативно анаэробных микроорганизмов, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*. Среди 17 видов, включенных в род *Yersinia*, три отнесены к патогенным для человека и животных — возбудитель чумы, возбудитель псевдотуберкулеза и отдельные представители *Y. enterocolitica*, являющиеся возбудителями кишечного иерсиниоза. Остальные представители рода отнесены к непатогенным, но могут быть возбудителями оппортунистических инфекций. Разнообразие представителей рода и гетерогенность отдельных видов осложняет идентификацию и дифференциацию иерсиний.

Нами проведена сравнительная характеристика отечественных и зарубежных коммерческих тест-систем для биохимической идентификации энтеробактерий по их способности внутриродовой дифференциации бактерий рода *Yersinia*. Установлено, что ни одна из использованных тест-систем не позволяет произвести полноценное определение видов и биотипов иерсиний. Особенно часто возникают проблемы при идентификации и дифференциации некоторых видов иерсиний, таких как *Y. enterocolitica* биотипа 1A, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*. Все это приводит к получению некорректных результатов.

Нами предложено комплексное использование в одном наборе различных субстратов в питательной среде для определения 17 биохимических свойств иерсиний, совокупность которых позволяет повысить эффективность внутриродовой и внутривидовой дифференциации бактерий рода *Yersinia*, увеличить диапазон определяемых видов и биотипов.

В последние годы, помимо традиционных биохимических тестов для родовой и видовой идентификации иерсиний, также применяются молекулярно-генетические методы (ПЦР с праймерами к фрагменту гена 16S РНК) и методы масс-спектрометрии. Однако эти методы ограничено используются лабораториями практического здравоохранения.

Для изучения коллекции культур иерсиний нами использован времяпролетный масс-спектрометр с матрично-опосредованной системой ионизации методом лазерной десорбции (MALDI-TOF MS). Данный метод позволил дифференцировать штаммы видов *Y. aleksiciae* и *Y. kristensenii*, не имеющих отличий по известным биохимическим свойствам.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *BORRELIA MIYAMOTOI* КАК НОВОГО ВОЗБУДИТЕЛЯ ИНФЕКЦИИ, ПЕРЕНОСИМОГО КЛЕЩАМИ

Е.И. Бондаренко<sup>1</sup>, Л.Л. Позднякова<sup>2</sup>, С.Г. Сибирцева<sup>2</sup>, С.Г. Баранова<sup>1</sup>, Т.Г. Вяткина<sup>1</sup>, Д.И. Тимофеев<sup>1</sup>, М.К. Иванов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск

<sup>2</sup>Городская инфекционная клиническая больница № 1, г. Новосибирск

<sup>3</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), возбудителями которых являются спирохеты комплекса *B. burgdorferi sensu lato* (*Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*), занимают одно из первых мест среди природно-очаговых инфекций, переносимых клещами. В ряде исследованных регионов России в иксодовых клещах была выявлена спирохета вида *Borrelia miyamotoi*, не относящаяся к данному комплексу. Уровень зараженности клещей *B. miyamotoi* варьирует от 0,6 до 16%. В последние годы нуклеиновые кислоты этой спирохеты регулярно выявляются в крови больных с рецидивирующими приступами лихорадки, возникающей после присасывания иксодовых клещей, с последующим выявлением у пострадавших антител к антигенам боррелий — возбудителей ИКБ. Отсутствие у такого заболевания патогномичных симптомов и совпадение проявлений инфекции, вызванной *B. miyamotoi*, с клещевым энцефалитом и с безэритемными формами ИКБ значительно осложняют их клиническую дифференциальную диагностику. Нами проанализирован с помощью ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) 261 клещ, снятый с людей в городе Новосибирске и 391 клещ, собранный на флаг. Выявление с помощью ПЦР-РВ специфического участка ДНК *B. miyamotoi* в первой выборке клещей составило 3,5% (9 из 261), а во второй выборке — 2,1% (8 из 391). Проведенный ПЦР-анализ образцов крови лихорадящих больных, поступивших в больницу с подозрением на заболевание КИ, показал наличие ДНК *B. miyamotoi* у 12,8% (32 из 250) пациентов. Специфичность выявления *B. miyamotoi* в крови больных при помощи ПЦР-РВ была подтверждена секвенированием генов *glpQ* и 23S рРНК. Важно отметить, что большинству больных, у которых выявлена *B. miyamotoi*, при поступлении в стационар был поставлен первоначальный диагноз «клещевой энцефалит».

Данные серологического анализа, полученные с помощью ИФА-наборов «ЛаймБест-IgM» и «ЛаймБест-IgG» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), показали, что в крови больных, у которых обнаружена ДНК *B. miyamotoi*, у 41% (13 из 32) были выявлены антитела к антигенам возбудителей ИКБ.

Таким образом, использование ПЦР-анализа в режиме реального времени обеспечивает специфичное выявление *B. miyamotoi* на ранних стадиях проявления инфекции и может быть крайне полезным для уточнения диагноза заболевания, возникшего в результате присасывания клеща. Анализ же последнего позволяет заранее спрогнозировать возможность развития конкретного заболевания на основании выявления возбудителя и принять превентивные меры защиты.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНОГО  
ГЕПАТИТА А В г. НОВОСИБИРСКЕ В 2011 г.**

Т.Ю. Бондаренко<sup>1,3</sup>, А.Ю. Тикунов<sup>2,3</sup>, Н.В. Тикунова<sup>2,3</sup>,  
И.В. Бабкин<sup>2,3</sup>, Л.Л. Позднякова<sup>4</sup>, В.А. Терновой<sup>1,3</sup>,  
С.В. Нетесов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», р. п. Кольцово Новосибирской области

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет

<sup>4</sup>Городская инфекционная клиническая больница № 1, г. Новосибирск

Возбудителем заболевания гепатитом А (ГА) является вирус ГА (ВГА), представитель семейства *Picornaviridae*. По данным «Федерального центра гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, в последние 10 лет заболеваемость ГА в России меняется от 2 до 10 случаев на 100 тыс. населения. Ввиду того, что вакцинация против ВГА только начинает распространяться по регионам России, вспышки ГА продолжают возникать. На территории Новосибирска в последние годы были также зарегистрированы случаи гепатита, вызванные ВГА.

На основании филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей части генома ВГА, кодирующего район стыка капсидных белков с неструктурными белками VP1/2A (168 н.), все изоляты ВГА подразделяют на 6 генотипов (I–III вызывают ГА у людей, IV–VI циркулируют в популяции обезьян). В молекулярной диагностике в последнее время для генотипирования предлагается использовать последовательности и других районов генома, но выявленные случаи рекомбинации ВГА-геномов требуют для достоверности установления полной нуклеотидной последовательности геномов изолятов.

В 2011 г. нами были определены полные нуклеотидные последовательности геномов 2 июльских изолятов и 2 изолятов, выявленных в ноябре в г. Новосибирске. Ранее нами в 2001–2002 гг. в Сибири (Иркутск, Новосибирск, Барнаул) были выявлены изоляты ВГА IA генотипа. На основании проведенного филогенетического анализа 2 изолята IA генотипа из г. Новосибирска 2011 г. оказались близкими изолятам ВГА IA генотипа из Сибири (2001 г.) и изолятам из Германии (2007 г.). Вместе с тем геномные последовательности выявленных нами впервые в г. Новосибирске 2 изолятов ВГА III генотипа (июль, ноябрь 2011 г.) группировались с последовательностями изолятов из Норвегии, Индии (2008 г.) и Германии (2007 г.).

Таким образом, можно говорить об одновременной циркуляции ВГА I и III генотипа на территории г. Новосибирска в 2011 г., при этом изоляты III генотипа ВГА были впервые выявлены в данном регионе.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ СУБЪЕДИНИЧНЫХ,  
АДЬЮВАНТНЫХ, ЦЕЛЬНОВИРИОННЫХ И ЖИВЫХ  
ВАКЦИН ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА H5N1**

Е.Ю. Боравлева, Е.А. Кропоткина, Н.Ф. Ломакина,  
А.С. Гамбарян

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

Ежегодная вакцинация от гриппа должна учитывать два типа рисков: риск инфицирования текущими эпидемическими штаммами и риск возникновения новой пандемии.

Целью нашей работы было сравнение в одном эксперименте вакцин разных типов, а также испытания ряда экспериментальных штаммов и вируса дикой утки (H5N2) в качестве живых ветеринарных вакцин.

Материалы и методы. Вакцины: H5N1 Split-и цельновирионные, цельновирионная H1N1, Гриппол 2011 (трехвалентная субъединичная с полиоксидонием) и субъединичная H3N2.

Адьюванты: полиоксидоний, Al(OH)<sub>3</sub>, а также 4 экспериментальных, любезно предоставленных профессором А.П. Каплуном (МГАТХТ им. Ломоносова).

Экспериментальные штаммы содержали H5 гем-агглютинин либо от вакцинного штамма VN H5N1-PR8/CDC-RG (VN-PR8), либо от аттенуированного H5N1 вируса, полученного путем селекции из высоковирулентного A/chicken/Kurgan/3/2005. Внутренние гены и нейраминидаза экспериментальных штаммов были либо от холодоадаптированного донора аттенуации A/Leningrad/134/17/57 (H2N2), либо от непатогенного H6N2 вируса A/gull/Moscow/3100/2006. Челлендж проводили высокопатогенным H5N1 вирусом A/chicken/Kurgan/3/2005.

Исследования на мышах и курах показали, что:

– наиболее эффективными вакцинами против H5N1 вирусов являются живые холодоадаптированные штаммы; сравнимый по защите эффект достигается однократной иммунизацией высокой дозой цельновирионной вакцины. Split-вакцины менее эффективны. Добавление адьювантов может повышать иммуногенность Split-вакцины, но не до уровня цельновирионной;

– гетеросубтипическая вакцинация живой вакциной не предотвращает заболевания при последующем заражении H5N1 вирусом, но способствует выздоровлению и практически полностью предотвращает гибель мышей;

– гетеросубтипическая вакцинация инактивированной цельновирионной вакциной не обеспечивает никакой защиты от последующего заражения H5N1 вирусом;

– гетеросубтипическая субъединичная вакцина с полиоксидонием делает мышей уязвимее к последующему заражению H5N1 и H1N1 вирусами.

Получены аттенуированные реассортанты H5N1 вирусов, перспективные в качестве продуцентов инактивированных и живых вакцин. Выбран штамм, который можно рассматривать как кандидат ветеринарной живой вакцины против высоковирулентных H5N1 вирусов.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ  
CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE С ПОМОЩЬЮ  
МУЛЬТИЛОКУСНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ**

О.Ю. Борисова, И.А. Чагина, А.С. Пименова,  
В.А. Алешкин

ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

Генотипирование штаммов *C. diphtheriae* проводили с помощью мультилокусного секвенирования (MLST) согласно международному протоколу с последующей модификацией на основе секвенирования фрагментов 7 генов — *atpA*, *dnaE*, *dnaK*, *fusA*, *leuA*, *odhA* и *rpoB*. В работе изучены токсигенные штаммы *C. diphtheriae*, выделенные в России в течение последних 10 лет, а также штаммы, выделен-

ные в прошлые годы. Все изученные современные штаммы *C. diphtheriae* принадлежали к 8 ST — ST41, ST5, ST8, ST28, ST25, ST44 и двум новым ST-new1, ST-new2 с доминированием ST8 (50%), ST28 (17,9%) и ST-new1 (14,9%). Причем для большинства современных (70%) штаммов биовара *gravis* характерным был ST8. В то время как штаммы *C. diphtheriae* биовара *mitis* были более гетерогенны по аллельным профилям и принадлежали к трем сиквенс-типам — ST41, ST28 и ST5, из которых большинство штаммов были ST28. Интересным является то, что среди штаммов *C. diphtheriae* биовара *gravis* не зарегистрированы ST5 и ST28, а среди штаммов биовара *mitis* — ST8. Для анализа динамики формирования штаммов *C. diphtheriae* различных клональных комплексов нами дополнительно изучено 49 токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, выделенных в прошлые годы. Зарегистрировано 10 сиквенс-типов, из которых преобладающими (в 53% случаях) оказались штаммы *C. diphtheriae* ST25. Кроме того, в 10% случаях выделены штаммы с ST8 и ST24, причем штаммы с ST8 впервые зарегистрированы в циркуляции только в начале 1990-х гг. Филогенетический анализ полученных данных и визуализацию филогенетических отношений осуществляли путем построения дендрограммы с помощью eBurst version 3. Кластерный анализ показал клональную структуру популяции возбудителя дифтерии. Все изученные штаммы разделились на два клональных комплекса. В первый клональный комплекс вошли практически все штаммы *C. diphtheriae*, выделенные в прошлые годы, с доминированием среди них в 50% случаев штаммов ST25. Все современные токсигенные штаммы *C. diphtheriae* оказались объединенными в один клональный комплекс, в котором наиболее позднее в эволюционном плане происхождение имеют два доминирующих кластера — первый объединил ST12, ST8, ST5, ST9 и ST66, где преобладает ST8, и второй кластер объединил ST41, ST28 и ST45 с преобладанием ST28.

#### ОСОБЕННОСТИ ЭТИОЛОГИИ ГРИППА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2009–2012 гг.

Е.А. Брянцева<sup>1</sup>, М.А. Бичурина<sup>1</sup>, Н.И. Львов<sup>3</sup>,  
Т.И. Крайнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу

<sup>3</sup>ФГЗВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова  
МО РФ, Санкт-Петербург

Своеобразие вируса гриппа диктует необходимость постоянного слежения за антигенной изменчивостью возбудителя, что является необходимым условием в деле прогнозирования эпидемий и создании профилактических и диагностических препаратов.

Эпидемическая ситуация по гриппу в Санкт-Петербурге в 2009 г. была своеобразной. Имели место два эпидемических подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ: в феврале-марте и ноябре-декабре 2009 г. В зимний сезон 2009 г. в циркуляции преобладали штаммы вируса гриппа А/Брисбен/10/07(Н3N2) и В «Викторианской» разновидности. Осенью 2009 г. ситуация осложнилась в связи с появлением нового антигенного варианта вируса гриппа А(Н1N1)pdm09, который вызвал подъем заболеваемости гриппом

во всем мире. В эпидемию в осенний период, в основном, были вовлечены дети 0–2, 3–6 лет и школьного возраста, в то время как заболеваемость взрослых оставалась невысокой. Штаммы вируса гриппа, изолированные в период эпидемического подъема, были аналогичны новому антигенному варианту А(Н1N1)pdm09. Отличительной биологической особенностью этих штаммов явились хорошая адаптация к куриным эмбрионам и высокий процент выделения вирусов (70%).

Эпидемический подъем, имевший место в Санкт-Петербурге в 2011 г., был обусловлен не только пандемическим вариантом вируса гриппа А(Н1N1)pdm09, но и вирусом гриппа В. Штаммы вируса гриппа В, изолированные в этот период, по антигенной характеристике были близки эталонному штамму В/Брисбен/60/08 «Викторианской» разновидности.

В 2012 г. эпидемическая ситуация по гриппу была относительно спокойной, имел место сезонный подъем заболеваемости. Штаммы вируса гриппа, изолированные в Санкт-Петербурге, были близки эталону А/Виктория/361/11(Н3N2) и штаммам вируса гриппа В двух антигенных разновидностей: «Викторианской» и «Ямагатской» линий.

Особенность этиологии гриппа в указанный период времени состояла в том, что циркулировали штаммы вируса гриппа А двух антигенных вариантов: А(Н1N1)pdm09 и А(Н3N2), а также штаммы двух разновидностей вируса гриппа В — «Ямагатской» и «Викторианской» линий. Следует отметить, что появление пандемического варианта вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 привело к исчезновению из циркуляции сезонного варианта вируса гриппа А/Брисбен/59/07(Н1N1).

#### ОРГАНИЗАЦИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ, ГРИППОМ В РЕСПУБЛИКЕ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ — АЛАНИЯ

Т.М. Бутаев, Г.К. Гадзиева, Н.И. Отараева

Управление Роспотребнадзора по Республике Северная

Осетия — Алания, г. Владикавказ

Северо-Осетинская государственная медицинская академия,  
г. Владикавказ

ОРВИ с давних пор снискали не ослабевающий интерес общества, профессиональных кругов. Северная Осетия — участник всеобщего противостояния гриппозной инфекции на протяжении более чем четверти века. В структуре инфекционных заболеваний доля ОРВИ — свыше 80%. Рост заболеваемости в 2012 г. — с 35 недель с еженедельным подъемом до 22%, без превышения эпидемических порогов. Максимальный уровень заболеваемости регистрировался в год пандемии, вызванного А/Н1N1/09. Одновременно отслеживается этиологическая структура ОРВИ. В 2012 г. при обследовании больных в 2% случаев выявлен антиген гриппа А(Н1N1), А(Н3N2) и В. В структуре положительных находок преобладают вирусы негриппозной этиологии: парагрипп — 53,5%, РС-вирусы — 12,5%, аденовирусы — 26,7%. Весьма актуально изучение иммунитета к различным вариантам вируса гриппа. Более 10 лет сохраняется сравнительно высокий иммунитет к гриппу А(Н1N1), А(Н3N2) и В. Так, в 2012 г. исследовано 200 сывороток крови, из них серопозитивных к АГ гриппа А(sw1N1) — 80,5%; грип-

па А(Н1N1) — 88,5%; гриппа А(Н3N2) — 91%; гриппа В — 95%. Наиболее актуальным и ответственным фрагментом эпиднадзора является иммунизация населения, сложность которой отягощалась в 2003 г. прекращением поставок вакцин по линии федерального бюджета. С 2008 г. охват прививками против гриппа, в том числе в рамках приоритетного национального проекта «Здоровье», достигает 100% от плана. Начало работы по созданию надежной иммунной прослойки населения можно отнести к середине лета, когда по инициативе санэпидслужбы усиливается взаимодействие с главами административных образований республики по вопросам готовности лечебно-профилактических учреждений к работе в эпидсезон, дополнительных закупок иммунопрепаратов. Эпиданализ свидетельствует о примерной повторяемости эпидемических подъемов заболеваемости ОРВИ, гриппом, начало которых отнесено чаще к 7-й неделе года, с продолжительностью до трех недель. В 2012 г. эпидпорог превышен в группе 7–14 лет. Прерывание эпидемических цепочек в школах проводилось с прерыванием учебного процесса. Из года в год отрабатывается система организационных мероприятий, направленная на максимальную защиту населения от гриппа. Таким образом, только четко выстраиваемая всесторонняя защита населения от ОРВИ, гриппа позволяет управлять эпидемическим процессом в части снижения его интенсивности и продолжительности.

#### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ НАДЗОРЕ И КОНТРОЛЕ ЗА ГЕПАТИТОМ А

Т.Н. Быстрова, Е.И. Ефимов, А.А. Залесских, О.В. Парфенова, М.И. Попкова

ФБУН Нижегородский НИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной  
Роспотребнадзора

Несмотря на выраженную тенденцию к снижению официально регистрируемой заболеваемости гепатитом А (ГА) в России до настоящего времени, эта инфекция остается актуальной для большинства территорий страны. Разработка и использование молекулярно-генетических технологий открывает новые перспективы как в изучении эпидемического процесса (ЭП), так и в организации контроля за ГА.

Цель работы: оценка эпидемиологической значимости определения РНК и мониторинг генетической структуры ВГА для совершенствования методической базы эпидемиологического надзора за инфекцией. В результате работы получены новые знания о гепатит А-инфекции. Расширены представления о сроках эпидемической опасности больных ГА. Установлено, что при появлении желтухи РНК ВГА в фекалиях обнаруживаются у всех больных документированным ГА, при этом 93,3% представляют опасность не менее 25 дней с момента госпитализации. Использование метода ОТ-ПЦР при расследовании групповой и вспышечной заболеваемости ГА в очагах повысило результативность работы по выявлению источников инфекции и оценке интенсивности ЭП в них. Использование новых технологий на основе ОТ-ПЦР приобретает особое значение для определения ВГА в объектах внешней среды, в том числе в воде. Установлена связь между обнаружением РНК ВГА в водных объектах и развитием ЭП ГА в условиях sporadic и вспышечной заболеваемости.

Определены условия, влияющие на интенсивность циркуляции вируса в водных объектах. Применение метода ОТ-ПЦР по сравнению с ИФА повысило выявляемость ВГА в воде более чем в 23 раза. Во время вспышки в Нижнем Новгороде (2005 г.) только с помощью метода ОТ-ПЦР ВГА был обнаружен в 2 пробах водопроводной воды из распределительной сети микрорайона, в котором регистрировались максимальные показатели заболеваемости, что позволило подтвердить роль водного пути передачи инфекции. Методом филогенетического анализа установлено, что на территории Нижнего Новгорода в основном (97%) циркулирует IA субтип ВГА. В единичных пробах выделены редко встречающиеся на Европейской части России IB и IIIA субтипы ВГА. Методы молекулярной биологии являются необходимой составляющей надзора и контроля за гепатит А-инфекцией.

#### ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ ESAT-6 ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Е.В. Васильева<sup>1</sup>, В.Н. Вербов<sup>1</sup>, С.А. Еремин<sup>2</sup>, И.А. Перемолотова<sup>3</sup>, А.А. Колобов<sup>3</sup>, Арег А. Тотолян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>ФГУП ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург

Метод поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) является одним из современных и перспективных видов иммуноанализа. Главные его достоинства — экспрессность, высокая чувствительность и специфичность, малое количество исследуемого образца, отсутствие стадии прободготовки, полная автоматизация качественного и количественного анализа. За рубежом ПФИА хорошо известен и широко используется как для мониторинга лекарственных средств, так и в контроле за употреблением наркотических и одурманивающих веществ. Упоминания о разработке ПФИА для диагностики туберкулеза (ТБ) у людей к настоящему времени не встречается.

Цель работы заключалась в изучении возможностей применения ПФИА при разработке тестов для диагностики ТБ.

Результаты. Методом компьютерного моделирования иммунодоминантный белок *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 был разбит на фрагменты с областью перекрытия 9 аминокислотных остатков. Для выделенных фрагментов было синтезировано 18 пептидов. Длина каждого пептида составляла 13–15 аминокислотных остатков. На основе полученных пептидов были получены трейсеры с флуоресцентно-эпитопом. После проведения очистки методом ТСХ было выделено по одной основной фракции из каждой реакционной смеси с Rf 0,01, подобрано оптимальное разведение трейсера и сыворотки и проведен ПФИА с положительным и отрицательным пулом сывороток крови больных туберкулезом на основании результатов ИФА с применением рекомбинантного белка ESAT-6. В результате были выбраны 7 трейсеров, для которых разница между

поляризацией положительного и отрицательно пула была максимальна, и повторили анализ с отдельными сыворотками. Результаты тестирования выявили трейсер, применение которого при выбранном пороговом значении позволило правильно идентифицировать 7 из 10 больных (чувствительность 70%) и 9 из 10 здоровых (специфичность 90%),  $p = 0,011$ . Данный подход может быть использован для разработки экспресс-теста для диагностики ТБ.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ БОРРЕЛИЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ КИЕВСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.А. Виноград<sup>1</sup>, Н.С. Комаренко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Львовский национальный университет  
им. Данила Галицкого МЗ Украины

<sup>2</sup>ГУ Киевский областной Лабораторный Центр  
Госсанэпидслужбы Украины

Изучение медицинских аспектов иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) на Украине началось в 1989 г., что позволило определить эколого-эпидемиологические характеристики и медико-социальное значение ИКБ как наиболее распространенного природно-очагового заболевания по всей территории страны с тенденцией к ежегодному приросту показателей заболеваемости и расширением ареалов циркуляции возбудителей. В Киевской области также наблюдается увеличение интенсивного показателя заболеваемости ИКБ: с 0,5 на 100 тыс. населения в 2000 г. до 5,42 — в 2011 г. Климато-географические и флоро-фаунистические особенности в этом регионе оптимальные для циркуляции *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

Цель: определение уровня боррелиофорности иксодовых клещей и генотипирование боррелий, циркулирующих в биотических объектах на территории Киевской области.

Материалы и методы. Методом ПЦР в реальном времени исследован 3551 экз. иксодовых клещей, объединенных в 380 проб, с использованием тест-систем «АмплиСенс *Borrelia burgdorferi sensu lato*-FL» («АмплиСенс», ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ); «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s. l. (комплект 2/RG)» («ВекторБест», РФ). Идентификация видов боррелий в 30 пулах клещей была проведена в ПЦР в агарозном геле («GenePak PCR»: «*Borrelia burgdorferi*», «*Borrelia garinii*», «*Borrelia afzelii*», «Изоген», РФ).

Основные результаты. По данным детекции генетического материала боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* обнаружено 43 (11,31±0,25%) положительных пула клещей. Средний показатель боррелиофорности для всех исследованных видов клещей составил 1,21±0,03%. Установлено, что основным вектором боррелий в области являются клещи *I. ricinus* с показателем боррелиофорности 3,09±0,02%. Боррелии идентифицированы до вида в 27 пробах иксодовых клещей. Впервые установлена циркуляция на территории Киевской области *B. afzelii* — 90±12,14% и *B. garinii* — 10±0,91%, в том числе и как миксты.

Заключение. Таким образом, территория Киевской области является эндемической по *Borrelia burgdorferi* s.l., о чем свидетельствуют высокие показатели боррелиофорности основного вектора *I. ricinus*, а доминирующими в биотических объектах геновидами боррелий являются *B. afzelii* и *B. garinii*.

## ЭКСПРЕССИЯ КАСПАЗ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПРИ РАЗВИТИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ У ВПЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЖЕНЩИН

Т.О. Волкова, О.В. Курмышкина, П.И. Ковчур,  
И.Е. Бахлаев

ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет

Развитие рака шейки матки (РШМ) является следствием многосторонних нарушений в иммунной системе организма, вызываемых папилломавирусной инфекцией (ВПЧ-инфекцией). В течение двух последних десятилетий в России отмечается существенный прирост показателей инфицированности населения ВПЧ и числа заболевших РШМ, особенно среди женщин моложе 35 лет. Развитие скрининговых программ способствует снижению смертности от РШМ, в первую очередь, за счет увеличения частоты выявления ранних форм рака и дисплазий, которые легко устраняются стандартными хирургическими методами. Поэтому разработка и внедрение новых методов молекулярно-генетической диагностики, основанной на анализе экспрессии тканевых биомаркеров, состав которых изменяется в процессе развития заболевания, является одной из наиболее актуальных проблем онкогинекологии. В настоящей работе была изучена экспрессия каспаз (базовых ферментов реализации программы апоптоза) в опухолевой ткани при развитии РШМ. Обследовано 105 пациенток с CIN III и РШМ в возрасте от 20 до 69 лет. С CIN III — 35 пациенток, с I стадией злокачественного процесса — 28, со II стадией — 27, с III–IV стадией — 15. Диагноз поставлен на основании клинических данных и подтвержден кольпоскопически, цитологически и гистологически. Контрольную группу составили 30 здоровых небеременных женщин, сопоставимых по возрасту, данным анамнеза и не имеющих патологии шейки матки. Показано, что в образцах патологической ткани при CIN III однозначной тенденции в изменении уровня мРНК и активности каспаз-3, -6 и -9 не выявлено, по сравнению с образцами здорового эпителия. Повышение экспрессии отмечено только для каспазы-6. На St I–IV наблюдалось достоверное уменьшение протеолитической активности исследуемых каспаз, но в отношении содержания соответствующих мРНК были получены противоположные результаты. Подобное разделение функциональных активностей каспаз при CIN III и РШМ предполагает возможное использование этой группы ферментов в качестве дополнительных диагностических маркеров при развитии данной онкопатологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Правительства РФ ГК № 11.G34.31.0052 и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК № 14.B37.21.0212.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ТЕХНОГЕННОЙ И ВНУТРИБОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЕ

О.Л. Воронина, А.Л. Гинцбург

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

Условно-патогенные микроорганизмы часто являются причиной как внебольничных, так и внутрибольничных инфекций, представляя особую опасность для больных с иммунодефицитами. Оценка

генетического разнообразия и путей формирования эпидемически значимых штаммов была проведена в отношении нескольких таксономических групп микроорганизмов, интенсивно исследующихся в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи.

*Legionella pneumophila*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex из коллекций лабораторий института были выбраны для изучения методами мультилокусного (Multilocus Sequence Typing, MLST) и полногеномного секвенирования. Бактерии различались по размеру генома (2,50–8,06 Mb), его организации, по GC-составу (32,2–67,3%).

Подход MLST, разработанный M. Maiden, позволяет оценить разнообразие генотипов бактерий по семи локусам генома. Анализ собственных результатов MLST, а также данных, собранных в международных базах MLST-Home, PubMLST, EWGLI, выполненный с помощью программ BURST и START2, показал тесную взаимосвязь более 80% генотипов для бактерий с меньшим размером генома. У бактерий с большим размером генома только 10–47% генотипов объединялось в единую клональную группу, что позволяет констатировать большее разнообразие геномных вариантов.

Наблюдение за популяциями бактерий в динамике позволило выявить стабильно существующий генотип, а сравнение с международными базами данных — оценить его эпидемическую значимость. При нарушении санитарных норм эксплуатации инженерных сооружений в техногенной среде происходит отбор генотипов бактерий, представляющих потенциальную опасность. Генотипы, выявленные в технических водах разных округов России, идентичны или относятся к одной клональной группе.

Для бактерий внутрибольничной среды также выявлены ведущие генотипы (ST). Штаммы *S. epidermidis* ST59 выделены в 3-х стационарах Москвы и в роддомах Нижнего Новгорода. Как правило, штаммы генотипов, отобранных внутрибольничной средой, сложно поддаются элиминации: *P. aeruginosa* ST235 циркулирует в отделении реанимации ФНЦТИО им. В.И. Шумакова в течение 7 лет. Сравнение штаммов одного генотипа, выделенных в разное время, показало, что *S. epidermidis* и *P. aeruginosa* используют разную стратегию адаптации. Результаты полногеномного секвенирования позволили проанализировать участие в этом процессе мобильных элементов, транспортных систем и систем вторичного метаболизма. Полученные данные могут стать основой для разработки специализированных лекарственных препаратов.

#### ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

А.А. Вязовая<sup>1</sup>, И.В. Мокроусов<sup>1</sup>, Н.С. Соловьева<sup>2</sup>,  
О.А. Маничева<sup>2</sup>, Т.Ф. Отген<sup>2</sup>, Б.И. Вишневецкий<sup>2</sup>,  
О.В. Нарвская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург

Одной из причин неблагоприятной эпидемической ситуации по туберкулезу в мире является распространение штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с множествен-

ной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Популяция *M. tuberculosis* неоднородна и представлена штаммами, различающимися по ряду генетических маркеров и профилю лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам.

Анализ DR-области хромосомы *M. tuberculosis* выявил принадлежность 300 штаммов, выделенных от больных туберкулезом в 2010–2012 гг., к 42 сполиготипам восьми генетических семейств: Beijing, T, LAM, Ural, Haarlem, X, MANU2 и S. МЛУ обладала 202 (67%) штамма *M. tuberculosis*. У штаммов Beijing (сполиготип SIT1 — 94%), доминирующих в изученной популяции (70%), МЛУ встречалась чаще, чем у штаммов других генотипов (суммарно), составляя 84% (169 из 202) и 37% (33 из 90) соответственно.

К семейству T принадлежали 26 штаммов (8% МЛУ) 12 сполиготипов, из них SIT267 и SIT53 представлены кластерами, включавшими 4 и 12 штаммов соответственно. При этом более половины (58%) штаммов SIT53 были лекарственно-чувствительными (ЛЧ). Семейство LAM представлено 25 (МЛУ — 56%) штаммами, входящими в состав четырех кластеров (SIT42, SIT252, SIT254, SIT496); 11 из 14 (79%) штаммов SIT42 были ЛУ. Споллигопаттерны 19 штаммов (МЛУ — 68%) генотипа Ural были отнесены к SIT35, SIT262, SIT777, SIT1134, при этом 10 из 12 (83%) штаммов SIT262 обладали ЛУ. К семейству Haarlem отнесены 10 штаммов (МЛУ — 50%) шести сполиготипов; три из четырех штаммов SIT50 были ЛЧ.

Самыми малочисленными в изученной выборке были штаммы генетических семейств X (три штамма — SIT92, SIT119, SIT1564), MANU2 (два штамма) и S (один штамм), последние из которых представлены ЛЧ штаммами редких споллиготипов (Orphan). Принадлежность четырех ЛЧ штаммов к определенному генотипу, согласно международной базе SITVITWEB, не установлена.

Таким образом, среди МЛУ штаммов *M. tuberculosis* преобладали (84%) представители генетического семейства Beijing (SIT1). Среди штаммов других генотипов — SIT42 (LAM) и SIT262 [H3 (Ural)] — МЛУ обладали 57 и 75% соответственно.

#### ПРОГРАМА ЗАЩИТЫ ОТ ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ ДЛЯ ВЫСОКОРИСКОВЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ БОЛГАРИИ

А. Галев<sup>1</sup>, Ж. Стайкова<sup>2</sup>, А. Кунчев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Центр прикладной науки Военной эпидемиологии и гигиены Военно-медицинской академии, Болгария

<sup>2</sup>Региональная Инспекция Здравоохранения Кърджали, Болгария

<sup>3</sup>Министерство Здравоохранения, Болгария

Инфекция *S. pneumoniae* поражает главным образом маленьких детей и пожилых людей старше 65 лет. В мировом масштабе это является причиной почти 1,6 млн смертей в год.

Развитие резистентности к антибиотикам приводит к устойчивости *S. pneumoniae*. Вакцинация является наиболее эффективным методом профилактики. В Болгарии обязательная иммунизация пневмококковой вакциной для новорожденных детей была введена в 2010 г. В 2012 г. было сообщено о снижении числа инфекционных заболеваний и госпитализаций, связанных со штаммами, содержащимися в вакцине. Данные других стран показывают, что в результате такого изменения в календаре прививок заболеваемость детей резко снижается,

также как и носительство штаммов, содержащихся в вакцине. Носительство и заболеваемость от соответствующих штаммов снижаются также и среди взрослого населения. Одновременно наблюдается увеличение носительства и заболеваемости от других штаммов, не содержащихся в вакцине. Это означает, что взрослое население необходимо прививать другими вакцинами, которые имеют намного больший диапазон штаммов, особенно тех, которые вызывают большинство смертных случаев. В данном случае РРV23 — это правильный выбор. Также уязвимы и люди старше 65 лет, и пациенты с хроническими заболеваниями.

Заболеваемость от инвазивной пневмококковой инфекции увеличилась в 3 раза у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в 6 раз — у пациентов с заболеваниями легких и с диабетом, в 11 раз у больных с алкоголизмом, от 23 до 48 раз у пациентов с иммунодефицитом. Болгарская ассоциация профилактической медицины, вместе с Региональной Инспекцией Здравоохранения Кърджали, при поддержке компании Sanofi-Pasteur, начала программу для долгосрочной защиты взрослых от пневмококковой инфекции. Были проведены региональные совещания в Варне, Пловдиве, Старой-Загоре и Кърджали. Целью, которую мы поставили, является развитие культуры иммунизации среди ведущих врачей общей практики и среди пациентов из групп высокого риска. Было проведено исследование/опрос среди врачей относительно пневмококковой вакцины для взрослых. Исследованием были охвачены 48 врачей общей практики, работающих в регионе Кърджали. Общее число пациентов старше 65 лет, находящихся под наблюдением этих врачей — 18 748. Среди них — 16 329 пациентов, страдающих хроническими заболеваниями: сердечно-сосудистыми — 11 699, болезнями обмена веществ — 3264, болезнями крови — 341, заболеваниями почек — 975 и 50 пациентов со спленэктомией. В целом очевидно положительное отношение врачей к применению пневмококковой вакцины у взрослых.

Препятствием для увеличения вакцинального охвата остается затрудненное финансовое положение многих пожилых людей, которые не могут себе позволить оплату вакцины. Министерство здравоохранения Болгарии разрабатывает Национальную программу по защите высокорисковых групп населения, которая включает вакцинальную защиту во время сезонных эпидемий гриппа и вакцинацию против пневмококковой инфекции среди высокорисковых групп населения. Национальная программа будет обеспечивать финансирование применения вакцины в амбулаторной и стационарной практике.

### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МАРСЕЛЬСКОЙ ЛИХОРАДКИ В СЕВАСТОПОЛЕ

М.Т. Гафарова<sup>1</sup>, Е.А. Вербенец<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, г. Симферополь, Украина

<sup>2</sup>Городская инфекционная больница, г. Севастополь, Украина

Марсельская лихорадка в Украине распространена только в Крыму и в том числе — в г. Севастополь, заболеваемость в котором в 5–6 раз выше по сравнению с Крымом.

Обследовано 125 больных марсельской лихорадкой и 45 очагов этой инфекции. Методом флюоресцирующих антител в клещах (*Rhipicephalus sanguineus*), собранных из очагов, обнаружены *R. conorii* (38,4%). Установлено, что в 77% случаев основным резервуаром для клещей были собаки, зараженные клещи были сняты и с кошек, коз и коров (5%). Сезонность заболеваемости носила весенне-летний характер, с преобладанием среди заболевших людей преклонного возраста (60,8%), содержащих животных по месту жительства.

С предварительным диагнозом «марсельская лихорадка» было направлено 64% больных, во всех остальных случаях — лихорадка неясной этиологии, аллергодерматит, реакция на укусы клеща. Предполагалось, что часть населения переболела в субклинической форме. Для подтверждения этой гипотезы методом РСК с антигеном из *R. sibirica* были исследованы сыворотки крови у 250 здоровых людей (доноров крови). У 28 обследованных лиц (11,1%) были выявлены антитела в титрах от 1:5 до 1:20.

Установлено, что реализуется классический трансмиссивный механизм передачи, и он преобладал над другими (контактный и аэрогенный).

Заболевание начиналось остро, преобладали больные со средней степенью тяжести. Средний инкубационный период составил  $8 \pm 0,3$  дней. Преобладающими жалобами были: повышение температуры тела, головная боль (77,6%), слабость (97,6%), снижение аппетита (23%), миалгии (37,6%), артралгии (50%). Характерна клиническая триада: сыпь, первичный аффект и регионарный лимфаденит. Сыпь встречалась у 99,2%, держалась в среднем от 6 до 10 дней, носила пятнисто-папулезный характер. У 70,04% наших больных наблюдался первичный аффект, представлявший собой некротический струп черного, реже серого или коричневого цвета, окруженный валиком гиперемии, самой разнообразной локализации.

Увеличение лимфоузлов встречалось только у 45% больных, поступивших в разные сроки болезни. Увеличивались подмышечные, паховые, подчелюстные лимфоузлы; изменений в окружающих лимфоузлах тканей и спаянности лимфоузлов между собой не было.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ЦЕНТРАЛЬНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИИ

С.Г. Герасимов, Г.В. Маленко, Л.С. Левина, Л.С. Карань, Н.М. Колясникова, В.В. Погодина

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

ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

В ряде регионов России прослежены эволюционные преобразования в структуре популяции вируса клещевого энцефалита (ВКЭ). Изменения в популяции возбудителя мало изучены на эндемичных территориях Центрального федерального округа (ЦФО) РФ, в частности, в Ярославской области. На территории другого эндемичного по КЭ региона — Костромской области — структура популяции ВКЭ не исследовалась.

Для изучения молекулярной эпидемиологии КЭ на территории ЦФО исследовали клещей *I. persulcatus*, собранных в природных очагах КЭ

Ярославской и Костромской областей, а также участки ЦНС погибших больных из Ярославской области. Для изучения структуры популяции возбудителя КЭ в Ярославской области исследована коллекция штаммов ВКЭ, созданная в ИПВЭ им. М.П. Чумакова, а также штаммы ВКЭ, выделенные в период исследований. Детекцию ВКЭ в материале проводили методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией с генотипспецифическими зондами.

На территории Ярославской области впервые проведен мониторинг структуры популяции ВКЭ за 1983–2012 гг. Осуществлен анализ хронологических рядов штаммов, выделенных на территории региона из клещей и от больных людей, генотипированы 35 штаммов и изолятов РНК ВКЭ. Показано, что в 80-е годы (1988, 1989 гг.) в популяции присутствовал дальневосточный подтип (штаммы Яр-10 и Яр-90). Период 1990–1993 гг. характеризовался выделением политиповых штаммов ВКЭ, содержащих фрагменты геномов дальневосточного и сибирского подтипов ВКЭ. За этот относительно короткий временной отрезок были изолированы 6 таких штаммов (Яр-12, Яр-13, Яр-29, Яр-83, Яр-193, Яр-240). Начиная с 1998 г. из клещей, а также от больных и умерших людей выделялись штаммы и изоляты РНК только сибирского подтипа ВКЭ. Данный подтип выделен от 9 умерших больных на территории области за период 2001–2012 гг. (4 штамма и 16 изолятов РНК ВКЭ). РНК ВКЭ выявлена в различных участках головного и в шейном отделе спинного мозга.

В клещах *I. persulcatus*, собранных в природных станциях на территории Ярославской области за 2009–2011 гг., обнаружены такие клещевые патогены, как боррелии (*B.b.s.l*), эрлихии, анаплазмы.

При исследовании 691 особи клещей из Костромской области (2009 и 2011–2012 гг.) в ОТ-ПЦР в 8 пробах был выявлен ВКЭ. Средняя вирусофорность клещей составила 1,16%. Впервые установлена циркуляция сибирского подтипа вируса на данной территории. В остальных пробах ВКЭ генотипировать не удалось. Выявлена циркуляция других патогенов — боррелии, эрлихии, анаплазмы.

Таким образом, показано, что за 30-летний период на территории Ярославской области произошло изменение генетической структуры популяции ВКЭ — исключение дальневосточного подтипа и абсолютное доминирование сибирского подтипа. Расширены представления о распространении последнего на территории ЦФО России (Костромская область). Выявлена циркуляция 3-х бактериальных клещевых патогенов (боррелии, анаплазмы, эрлихии) на территории ЦФО.

#### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА А, ВЫДЕЛЕННЫХ В г. АТЫРАУ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2012 г.

Т.И. Глебова, Н.Г. Ишмухаметова, Б.Б. Баймаханова, Т.В. Кузнецова, М.Г. Шаменова, Ш. Таубаева

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

Представлены результаты секвенирования фрагментов генов гемагглютинаина (НА) и нейраминидазы (NA) казахстанских изолятов вирусов гриппа А/Н1N1: А/Атырау/874/12, А/Атырау/876/12 и А/

Атырау/880/12. Выравнивание секвенированных последовательностей, филогенетический анализ и построение древ проведены с помощью компьютерных программ BLAST, Lasergene 6.0 (DNAStar Inc., Madison, WI) и «Neighbour-joining» с использованием последовательностей из GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Филогенетический анализ генов НА и NA казахстанских изолятов вируса гриппа с подтипом НА Н1 показал, что все изоляты проявляют идентичность между собой, что указывает на однородность их популяции.

По гену НА все изоляты проявляли высокую степень родства со свиным штаммом А/swine/Guangdong/L3/2009 (H1N1) и входят в кластер евразийской линии.

Для оценки идентичности атырауских изолятов по гену NA из GenBank были взяты вирусы гриппа А/Н1N1, выделенные от человека и свиньи из различных географических регионов, включая Америку, Азию, и изоляты, выделенные на территории Казахстана ранее. Так, установлено, что по последовательности гена NA вирусы гриппа А/Атырау/874/12 и А/Атырау/876/12 проявляли 99% идентичности с А/swine/Changhua/199–3/2000 (H1N1), А/swine/USA/1976-M/1931 (H1N1) и А/swine/Guangdong/L3/2009 (H1N1) и на 98% гомологии — с А/swine/Iowa/1973 (H1N1). Изолят А/Атырау/880/12 по нуклеотидным последовательностям гена NA в сравнении с классическими вирусами свиней А/swine/Jamesburg/1942 (H1N1), А/swine/1931 (H1N1) и А/swine/Iowa/1973 (H1N1) идентичен на 99%. Все исследуемые вирусы образуют отдельный кластер, в который входят изоляты, выделенные от свиньи в Китае в 2009 г. А/swine/Guangdong/L3/2009 (H1N1). По гену NA изоляты значительно отличались от штаммов, выделенных ранее в 2009 г. в городах Алматы и Астана, которые представляют отдельную линию генетического кластера. Все изученные атырауские изоляты 2012 г. имеют общий корень с вирусами, выделенными в 2001–2003 гг. в Нью-Йорке.

#### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ЭНТЕРОВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.А. Гордиенко<sup>1</sup>, Л.Н. Гришина<sup>1</sup>, Л.А. Шишко<sup>2</sup>, Н.И. Романенкова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Управление Роспотребнадзора по Архангельской области, г. Архангельск

<sup>2</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области, г. Архангельск

<sup>3</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Анализ эпидемической ситуации с энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) в Архангельской области в 2006–2011 гг. свидетельствует о том, что в течение четырех из шести анализируемых лет показатель заболеваемости ЭВИ в Архангельской области превышал показатель заболеваемости этой инфекцией в Российской Федерации: в 2006 г. — на 4,7%, в 2008 г. — в 5,1 раза, в 2009 г. — на 47%, в 2010 г. — в 2,1 раза. В 2007 и 2011 гг. заболеваемость ЭВИ в Архангельской области была ниже среднего по Российской Федерации уровня на 16,3 и 12,8% соответственно.

Структура нозологических форм ЭВИ характеризовалась преобладанием энтеровирусного менингита (ЭВМ), удельный вес которого составлял в раз-

ные годы от 63,5% в 2009 г. до 98,9% в 2006 г. В целом за анализируемый период в общей структуре нозологических форм ЭВИ доля ЭВМ составила 88,3%. При этом ежегодно уровень заболеваемости ЭВМ определял г. Архангельск, доля которого в общем числе зарегистрированных случаев ЭВМ составляла от 72,2% в 2009 г. до 91,5% в 2006 г.

Возрастная структура ЭВИ характеризовалась преобладанием детей 3–6 лет (32,8%) и 7–14 лет (43%). В целом за 2006–2011 гг. доля детей до 17 лет в возрастной структуре заболевших ЭВИ составила 91,7%. Преимущественное вовлечение в эпидемический процесс детей организованных коллективов и школьников отмечается в период формирования детских коллективов, в которых активно реализуется передача возбудителей контактно-бытовым и воздушно-капельным путями.

ЭВИ имели выраженную осеннюю сезонность, максимальные показатели заболеваемости регистрировались в сентябре и октябре, когда уровень заболеваемости превышал среднемноголетний показатель в среднем в 3,3 раза.

Анализ причин ежегодных подъемов заболеваемости ЭВИ свидетельствует о преобладании фекально-орального механизма передачи инфекции, реализуемого водным и контактно-бытовым путем: более 50% пациентов связывали заболевание с употреблением некипяченой питьевой воды, купанием в загрязненных водоемах. Удельный вес проб питьевой воды из распределительной сети водопроводов, не соответствующих гигиеническим нормативам, составил в среднем 7,4% по микробиологическим и 40,8% по санитарно-химическим показателям.

Подъемы и спады заболеваемости ЭВИ объясняются циклическостью в проявлении эпидемического процесса и сменой циркулирующих серотипов энтеровирусов. В течение анализируемого периода частота выделения неполиомиелитных энтеровирусов от больных составила в среднем 7,8%. В структуре энтеровирусов вирусы серотипов ЕСНО 6, ЕСНО 9, ЕСНО 25 и ЕСНО 30 составили 55,7%, вирусы Коксаки В 1–6, представленные преимущественно серотипом Коксаки В5, составили 44,3%. В структуре энтеровирусов, выделенных из проб сточной воды, преобладали вакцинные полиовирусы (66,7%), энтеровирусы серотипов ЕСНО 6, ЕСНО 25, ЕСНО 30 составили 25%, вирусы Коксаки В 1–6 — 8,3%. Выявленные сезонные подъемы заболеваемости ЭВИ в 2008 и 2010 гг. были обусловлены энтеровирусами серотипов ЕСНО 6 и ЕСНО 30.

Совершенствование системы эпидемиологического надзора за энтеровирусной инфекцией, включающей использование вирусологических и молекулярно-генетических методов исследований, способствует рационализации профилактических и противоэпидемических мероприятий.

#### **АПРОБАЦИЯ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ БРУТОНА**

**М.Н. Гусева, Ю.В. Останкова, А.А. Кочегура, А.В. Семенов**

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

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИД) — группа тяжелых, генетически обусловленных заболеваний. Частота встречаемости — 1 на 400–

800 человек (в европеоидной популяции). Исходя из этих цифр, в РФ одним из ПИД больны более полутора десятков тысяч человек. Однако, можно предположить, что реальная частота встречаемости ПИД в РФ значительно выше, так как заболевания имеют различные клинические проявления, а низкая осведомленность медицинских работников о ПИД приводят к тому, что лишь небольшой процент больных получают этот официальный диагноз и адекватное лечение.

Одним из наиболее тяжелых ПИД является X-сцепленная агаммаглобулинемия (болезнь Брутона). Заболевание представляет собой высокую подверженность инфекционным агентам в сочетании с аутоиммунными заболеваниями и характеризуется нарушением созревания В-лимфоцитов. Причиной заболевания являются мутации в гене, кодирующем рецепторную тирозинкиназу Брутона (ВТК), играющую важную роль в созревании и функционировании В-лимфоцитов и других клеток крови. Ген ВТК картирован на Xq21.3–22.2, имеет протяженность 37,5 тыс. п.о. и содержит 19 экзонов, где показаны сотни мутаций, приводящих к болезни Брутона. Летальность и инвалидизация очень высоки и только установленный вовремя диагноз и соответствующая терапия позволяют говорить об относительно благоприятном прогнозе. Очевидна значимость своевременного определения болезни Брутона.

Целью нашей работы была апробация молекулярно-генетического метода диагностики заболевания.

Материалом служила кровь пяти человек, двоим из которых диагностирована болезнь Брутона, подтвержденная за рубежом молекулярными методами. Геномную ДНК выделяли фенол-хлороформной экстракцией с модификациями, проводили серию амплификаций по 19 экзонам со специфичными праймерами, детектировали в акриламидном геле и элюировали интересующие фрагменты с последующей постановкой секвенирующей реакции.

Использовался «слепой» метод, при котором проводящий диагностику специалист не знал, сколько и каких образцов принадлежат больным и где локализована мутация в каждом случае.

Полученные в результате секвенирования нуклеотидные последовательности в трех случаях не имели особенностей, а в двух имели мутации в 5 и 10 экзонах соответственно, что полностью совпадало с результатами иностранных коллег.

#### **ЧАСТОТА ИНДИКАЦИИ АНТИГЕНА РОТАВИРУСОВ В КЛИНИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)**

**М.А. Данилова**

*Управление Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия), г. Якутск*

Проблема этиологической расшифровки острых кишечных инфекций является весьма актуальной для Республики Саха (Якутия) и требует дальнейшего совершенствования. В последние годы, в связи с внедрением в клиническую практику лабораторных методов обнаружения ротавируса, удельный вес ротавирусной инфекции в структуре острых кишечных инфекций установленной этиологии составляет до 70%. В то же время при сравнении соотношения

острых кишечных инфекций установленной и неустановленной этиологии отмечается преобладание не верифицированных кишечных инфекций, удельный вес которых составил по итогам 2012 г. 75,2%.

В связи с указанным, целью настоящего исследования явилось изучение частоты выявления антигена ротавирусов у пациентов с клинической картиной острой кишечной инфекции, обследованных в вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Саха (Якутия)» в 2007–2012 гг. Группоспецифический антиген ротавирусов человека в экстрактах фекалий определяли методом иммуоферментного анализа с использованием коммерческой тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест» «Ротавирус-антиген-ИФА-Бест».

По результатам исследований антиген ротавирусов выявлен у 1815 больных (57,7%) из 3146 обследованных. При этом наибольшая частота обнаружения антигена ротавирусов отмечалась в возрастной группе детей до 2 лет — 65,7% и с 3 до 6 лет — 32,8%. У детей школьного возраста 7–14 лет аналогичный показатель составил 22,5%, среди лиц в возрасте 15 лет и старше антиген ротавирусов обнаруживался с частотой 7,4%. Полученные результаты исследования свидетельствуют о широком распространении ротавируса среди детского населения Республики Саха (Якутия) в эпидемический сезон заболеваемости.

По данным авторов (Битиева Р.Л., 2008) эффективность лабораторной верификации ротавируса повышается в 1,5 раза при одновременном использовании общепринятого рутинного иммуоферментного анализа и современных методов диагностики, в частности, полимеразной цепной реакции. Поэтому следующей задачей является расширение в республике лабораторной сети и внедрение новых молекулярно-биологических технологий для детекции не только ротавируса, но и других кишечных вирусных агентов.

### **РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ В НАДЗОРЕ ЗА АКТУАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ**

Г.М. Дмитриева, Н.Д. Орешкина

*Управление Роспотребнадзора по Красноярскому краю, г. Красноярск*

Актуальными инфекционными заболеваниями среди населения Красноярского края являются острые кишечные инфекции (ОКИ), энтеровирусные инфекции (ЭВИ). В эпидемиологической диагностике очагов названных выше инфекционных болезней ведущая роль принадлежит молекулярной эпидемиологии.

В последние годы в Красноярском крае получили широкое практическое применение молекулярно-генетические методы исследований как биологического материала от людей, так и объектов среды обитания в ходе эпидемиологического надзора за ОКИ и ЭВИ.

В эпидемиологии ОКИ на территории Красноярского края в последние 5 лет произошли существенные изменения, обусловленные сменой циркулирующих возбудителей с превалированием кишечных вирусов, следствием чего явилось наличие во внутригодовой динамике ОКИ двух волн эпидемического подъема заболеваемости: зимне-весеннего —

наиболее интенсивного, связанного с циркуляцией кишечных вирусов, и летне-осеннего — низкой интенсивности, обусловленного циркуляцией бактериальной микрофлоры.

В Красноярском крае с целью этиологической расшифровки в групповых очагах ОКИ с 2-мя и более случаями назначается и проводится лабораторная диагностика с применением ПЦР-метода на все виды кишечных вирусов, количество обследованных лиц (к уровню 2009 г.) на ротавирусы возросло в 2,7 раза (с 177 до 472 человек), на норовирусы — в 2,8 раза (с 215 до 612 человек), на астровирусы — в 197,5 раза (с 2 до 395 человек), что позволило несколько увеличить удельный вес этиологической расшифровки случаев ОКИ в крае до 16,8% против 13,9% в 2009 г. При этом доля положительных находок при исследовании биологического материала на кишечные вирусы методом ПЦР существенно превышает аналогичный показатель при использовании традиционных бактериологических исследований: в 2012 г. показатель выявляемости возбудителей вирусных ОКИ вырос практически в 2 раза и составил 18,1%, тогда как доля положительных находок при исследовании на сальмонеллы, шигеллы и энтеропатогенные палочки не превышала 1%.

Неоценима роль ПЦР-метода в эпидемиологическом надзоре за ЭВИ: в крае отработана система лабораторной диагностики и алгоритм тактики ведения больных серозными менингитами — стерильный материал по результатам спинно-мозгового пунктирования направляется в Центр гигиены и эпидемиологии для исследования ПЦР-методом на наличие энтеровирусов; удельный вес подтверждения энтеровирусной этиологии в ПЦР-методе выше, чем при вирусологическом методе до 39,1% против 18,3% соответственно.

### **УСТОЙЧИВОСТЬ К КАРБАПЕНЕМАМ У ШТАММОВ *K. PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ В СТАЦИОНАРАХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**

С.А. Егорова, Л.А. Кафтырева, Ю.А. Савочкина, Л.В. Липская, И.Б. Коноваленко, Л.Н. Попенко, М.И. Любушкина, З.Н. Матвеева, Ю.В. Останкова

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

*ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, Москва*

*ГКБ № 40 и № 31, Санкт-Петербург*

*НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург*

В настоящее время для стационаров Санкт-Петербурга актуальна проблема возбудителей, обладающих множественной устойчивостью к антимикробным препаратам, включая карбапенемы. Наиболее важным механизмом резистентности к этой группе препаратов является продукция карбапенемаз. Эпидемиологическая значимость этого механизма обусловлена локализацией генов на мобильных генетических элементах, что способствует быстрому горизонтальному распространению резистентности.

В 2012–2013 гг. 48 штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к карбапенемам, были выявлены в четырех стационарах Санкт-Петербурга. Устойчивость была обусловлена продукцией карбапенемаз KPC (2 штамма) и металло-бета-лактамаз NDM-1 (46 штаммов). Все штаммы также характеризовались множественной устойчивостью к препаратам

других групп. Полученные данные свидетельствуют о том, что в настоящее время резистентность к карбапенемам, обусловленная продукцией карбапенемазы, в стационарах Санкт-Петербурга стала реальной проблемой не только для штаммов *Pseudomonas spp.* и *Acinetobacter spp.*, что было описано ранее, но и для *Klebsiella spp.* — энтеробактерий, являющихся ведущими возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli*, продуцирующие металло-бета-лактамазы NDM, были впервые описаны в 2008 г. и в настоящее время выделены во многих странах Европы, США, Австралии, Канаде. При этом большинство европейских случаев связаны с посещением стран Индийского субконтинента, где NDM-продуцирующие штаммы широко распространены не только в больничной, но и во внешней среде. В России ранее описана продукция металло-бета-лактамаз NDM-1 у штамма *Acinetobacter spp.* Штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы KPC, широко распространены в Италии, Греции, Израиле и на Кипре, где их доля в стационарах достигает 50%. В России такие штаммы описаны впервые. Дальнейшее эпидемиологическое расследование позволит выявить источники штаммов, продуцирующих карбапенемазы, и пути их распространения в стационарах Санкт-Петербурга.

#### ПОПУЛЯЦИИ CD4<sup>+</sup> КЛЕТОК ПАМЯТИ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Д.С. Елезов<sup>1</sup>, Н.А. Арсентьева<sup>1</sup>, И.В. Кудрявцев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН,  
Санкт-Петербург

Цель работы. Изучение изменения популяций CD4<sup>+</sup> клеток памяти при хроническом гепатите С.

Материалы и методы. Объектом исследования служила венозная кровь 19 больных хроническим гепатитом С, ранее не проходивших лечение, и 24 практически здоровых лиц. Измерение количества клеток в популяциях проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием прибора Navios™ (Beckman Coulter, США). Для окрашивания лимфоцитов использовали следующие меченые флуорохромами моноклональные антитела: CD45RA-FITC, CD62L-PE, CD3-ECD, CD4-APC-Cy7. Анализ и математическую обработку данных осуществляли с применением программ Caluza™ (Beckman Coulter, США), GraphPad Prizm 6 (GraphPad Software, США). Переменные сравнивали, используя непараметрический тест Манна–Уитни.

Результаты. CD4<sup>+</sup> клетки разделили на 4 популяции на основании экспрессии молекул CD62L и CD45RA: наивные клетки (CD62L<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>), эффекторные клетки памяти (CD62L<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>), «терминально-дифференцированные» эффекторные клетки памяти (CD62L<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>) и центральные клетки памяти (CD62L<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>). В процентном отношении к Т-хелперам эффекторные CD4<sup>+</sup> клетки памяти в периферической крови больным хроническим гепатитом С были увеличены в 1,5 раза (p = 0,001) по сравнению с контролем, «терминально-дифференцированные» эффекторные CD4<sup>+</sup> клетки

в 2,8 раза (p = 0,01); в абсолютных значениях эти популяции клеток были повышены в 1,7 раза (p < 0,001) и 3 раза (p = 0,004) соответственно. Изменение популяции центральных CD4<sup>+</sup> клеток памяти не было статистически значимым. Наивные CD4<sup>+</sup> клетки были понижены в 1,5 раза (p = 0,002) в процентном отношении к Т-хелперам; в абсолютных значениях это изменение не было статистически значимым, видимо, за счет повышения общего количества CD4<sup>+</sup> клеток в 1,2 раза (p = 0,042).

Выводы. Определено значительное повышение популяций эффекторных и «терминально-дифференцированных» эффекторных CD4<sup>+</sup> клеток памяти при понижении популяции наивных CD4<sup>+</sup> клеток.

#### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ НОРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Н.В. Елифанова, Л.Б. Луковникова, Н.А. Новикова

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

Норовирусы относятся к роду *Norovirus* семейства *Caliciviridae*, вызывают острые кишечные инфекции и характеризуются существенным генетическим разнообразием, отражением которого является наличие, как минимум, пяти геногрупп, которые дифференцируются на генотипы, а те, свою очередь — на геноварианты (Phan T.G. et al., 2007). Целью данной работы явилось генотипирование норовирусов, циркулирующих на территории России.

Методом частичного секвенирования определены нуклеотидные последовательности участков генома, кодирующих РНК-полимеразу и/или капсидный белок, 140 изолятов норовирусов, выявленных в образцах копроматериала больных острой кишечной инфекцией в Нижнем Новгороде и Нижегородской области в 2004–2012 гг. Генотипирование проводили с использованием веб-сервиса *Norovirus Genotyping Tool Version 1.0* (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>], пакетов программ BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) и MEGA 5.05 (<http://megasoftware.net>). Установлена принадлежность норовирусов, циркулирующих в Нижегородском регионе, к трем геногруппам — GI, GII, GIV. Наиболее распространенная геногруппа GII представлена десятью генотипами — GII.1, GII.2, GII.3, GII.4, GII.6, GII.7, GII.12, GII.13, GII.b, GII.g. Показано преобладание норовирусов генотипа GII.4, зафиксирована смена доминирующих геновариантов данного генотипа с GII.4 2006b (2006–2008 гг.) на GII.4 2008 (2008–2009 гг.) и GII.4 2010 (2010–2012 гг.), что соответствует глобальным тенденциям молекулярной эволюции норовирусов (Hoa Tran T.N. et al., 2013). Отмечена циркуляция рекомбинантных норовирусов — GII.b/GII.2, GII.g/GII.12, GII.b/GII.13.

С помощью указанных выше онлайн-ресурсов были проанализированы 215 представленных в базе данных GenBank последовательностей участков генома норовирусов, обнаруженных в 2002–2008 гг. в ряде городов России — Москве, Санкт-Петербурге, Челябинске, Нижнем Новгороде, Пензе, Подольске, Махачкале, Тюмени [submitted Podkolzin A. et al., 2008] и Новосибирске [submitted Bodnev S. et al., 2009; Zhirakovskaya E. et al., 2009]. Установлено, что кроме выявленных нами, в России циркулировали норовирусы генотипов GI.a, GI.b., GI.1, GI.2, GI.3, GI.4,

GI.5, GI.7, GII.5, GII.8, GII.12, GII.14, GII.16, GII.17, геновариантов GII.4 2002, GII.4 2004, а также рекомбинанты GI.b/GI.6, GII.5/GII.16, GII.b/GII.3, GII.12/GII.10, GII.b/GII.3, GII.b/GII.21.

Полученные данные могут служить информационной базой для эпидемиологического надзора за нововирусной инфекцией на территории Российской Федерации.

### ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ ГЕНИТАЛЬНОГО ГЕРПЕСА С МОНОТОННЫМ ТИПОМ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ

Д.К. Ермоленко, В.А. Исаков

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Эпидемиологические исследования, проведенные в различных регионах земного шара в последнее десятилетие, свидетельствуют о продолжающемся увеличении удельного веса вирусных инфекций среди заболеваний, передаваемых половым путем. В Европе серопозитивность к основному этиологическому фактору ГГ, вирусу герпеса 2 типа (ВПГ 2), отмечена у 20–40% женщин репродуктивного возраста, в России — у 20–31%, в Южной Африке — у 80%. В данном случае это не только острые и хронические заболевания мочеполовой сферы человека, но и неблагоприятное, вплоть до фатального, влияние на течение беременности и родов, патология новорожденности. Поэтому очевидна необходимость разработки эффективных способов лечения такой патологии. Особенно актуальна эта проблема при ГГ с тяжелым течением и монотонным типом рецидивирования — наиболее сложно курируемой разновидностью заболевания.

Целью исследования явилось изучение иммунологических особенностей тяжелой формы ГГ с монотонным типом рецидивирования для оптимизации тактики ведения больных.

Для проведения работы методом случайной выборки было отобрано 100 женщин без нарушения менструального цикла в возрасте от 26 до 37 лет, страдающих ГГ с частотой рецидивирования не реже 1 раза в месяц и длительностью заболевания от 3 до 8 лет. Оценка основных показателей клеточного иммунитета выявила уменьшение по сравнению с физиологической нормой количества Т-лимфоцитов с кластерами дифференцировки CD3<sup>+</sup> (до  $0,333 \pm 0,056 \times 10^9$  кл/л), CD8<sup>+</sup> (до  $0,368 \pm 0,033 \times 10^9$  кл/л). Уровень CD16<sup>+</sup> клеток, CD19<sup>+</sup> клеток и CD25<sup>+</sup> клеток находился у нижней границы физиологической нормы, содержание CD20<sup>+</sup> клеток соответствовало нормальным значениям. Отмечено также снижение способности лейкоцитов периферической крови к выработке интерферонов (IFN) I и II типов. Отслеживание уровня IFN $\gamma$  показало, что его титры составили  $1,94 \pm 0,26$  пг/мл, а IL-4 —  $5,34 \pm 0,73$  пг/мл, что опять же соответствовало нормальным показателям. Однако значение коэффициента IFN $\gamma$ /IL-4 было равно 0,36, что свидетельствует о преобладании у подобных больных иммунного ответа по Th2-зависимому типу.

Полученные результаты позволяют обосновать необходимость включения в схемы комплексной терапии иммуноотропных препаратов, способствующих его переводу в Th1-зависимый тип.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭШЕРИХИЙ И ЭНТЕРОКОККОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗЕ

Е.И. Ермоленко<sup>1</sup>, С.И. Бахолдина<sup>2</sup>, М.П. Исаева<sup>2</sup>, Т.Ф. Соловьева<sup>2</sup>, Е.А. Тарасова<sup>1</sup>, А.Н. Суворов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток

Псевдотуберкулез — заболевание широко распространенное в мире. Для него характерно длительное сохранение возбудителя в организме, нарушения иммуногенеза и генерализация инфекции. Это обуславливает необходимость длительной терапии антибиотиками. Поиск эффективных мер профилактики псевдотуберкулеза до сих пор остается актуальной задачей. Лечебно-профилактический потенциал пробиотических средств при этой инфекции изучен недостаточно. Целью данного исследования явилось изучение влияния пробиотических эшерихий и энтерококков на размножение *Y. pseudotuberculosis in vitro* и при экспериментальной транзитной инфекции. В работе были использованы пробиотические штаммы *Escherichia coli* M17 (бифидол, «Биомед», Россия) и *Enterococcus faecium* L3 (ламинолакт, ООО «Авена», Россия), а также штамм *Y. pseudotuberculosis* 3295 серовара O1b, несущий рекомбинантную плазмиду с репортерной системой на основе зеленого флюоресцирующего белка. Методом двухслойного агара доказано наличие высокой антагонистической активности в отношении иерсиний *E. faecium* L3 и несколько меньшей — *E. coli* M17 (минимальные ингибирующие количества антагониста 4,5 IgКФЕ/мл и 6,3 IgКФЕ/мл соответственно). Для исследования влияния данных пробиотических бактерий на выживаемость иерсиний в организме хозяина самцам беспородных белых мышей вводили перорально в течение 5 дней по 50 мкл  $5,5 \times 10^8$  КФЕ/мл суспензии эшерихий (группа 1), по такой же схеме энтерококки (группа 2) или фосфатно-солевой буфер (ФСБ) [контроль 1 (К1) и контроль 2 (К2)]. Затем мыши из групп 1, 2 и К1 получали иерсинии в количестве 50 мкл  $1,4 \times 10^7$  КФЕ/мл, группа К2 — повторно ФСБ. В результате ежедневного наблюдения за весом мышей обнаружено нарастание веса в течение всего периода наблюдений в группе К2, в первые пять суток — в группе 1 и К1. Снижение веса животных наблюдалось только после введения иерсиний животным группы К1. Анализ высевов проб химуса на питательные среды выявил наличие флюоресцирующих бактерий ( $1-3,5$  КФЕ/мл) в группах К1 у всех мышей, в группах 1 и 2 — в 25 и 8,33% случаев соответственно.

Таким образом, выявлена способность *E. faecium* L3 и (несколько меньше) *E. coli* M17 ингибировать рост *Y. pseudotuberculosis in vitro* и в условиях моделирования первых этапов развития псевдотуберкулеза.

### ИЗМЕНЕНИЯ ЦЕРВИКАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ПРОДУКТИВНОЙ И ИНТЕГРАТИВНОЙ ФОРМАХ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.А. Ершов<sup>1</sup>, А.А. Вязовая<sup>2</sup>, О.В. Нарвская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>СПб ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер

<sup>2</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Вирус папилломы человека — основной этиологический фактор цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) и рака шейки матки.

Проанализированы результаты цитологических, гистологических, иммуноморфологических и молекулярно-генетических исследований эпителия шейки матки 171 ВПЧ-инфицированной женщины 19–74 лет, находившейся на стационарном лечении по поводу цервикальной неоплазии в 2010–2011 гг. Цитологические препараты готовили методом жидкостной цитологии, окрашивали по Папаниколау; гистологические препараты окрашивали гематоксилином и еозинном. В 100 случаях проводили иммуноцит- и/или иммуногистохимические исследования с моноклональными антителами к L1 ВПЧ 16, Ki-67, p53, CK5, CK10. ДНК ВПЧ выявляли и генотипировали методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени. Физический статус ДНК ВПЧ 16 генотипа оценивали в 87 случаях по соотношению количества вирусных генов E2/E7. Экспрессию капсидного белка L1 ВПЧ 16 наблюдали в препаратах эктопии и CIN I только в дифференцированных клетках плоского и метаплазированного цервикального эпителия. L1 ВПЧ 16 в атипичных клетках выявлен в 2,3% случаев высокой степени интраэпителиального повреждения плоского эпителия (HSIL). В остальных наблюдениях HSIL и в случаях плоскоклеточного рака (SCC) белок L1 экспрессировали клетки плоского и метаплазированного эпителия смежных с CIN участков и паратуморальных зон. У женщин с фоновыми процессами шейки матки ДНК ВПЧ 16 чаще обнаруживали в эпизомной форме, при CIN и SCC — в смешанной форме с различной степенью интеграции в клеточный геном. Частота выявления маркеров клеточной пролиферации не связана с выраженностью интеграции ДНК ВПЧ 16 генотипа, но количество клеток, экспрессирующих Ki-67 (и в сочетании с CK5), коррелировало с тяжестью повреждения эпителия. При HSIL, ассоциированных с ВПЧ группы  $\alpha 9$ , экспрессия CK5 в поверхностных и промежуточных клетках плоского эпителия свидетельствует о замедлении клеточной дифференцировки; в случаях SCC отсутствие CK10 в базальных клетках подтверждает нарушение их дифференцировки. При эктопии и CIN I независимо от генотипа ВПЧ нарушения митоза проявляются нарушением цитотомии. В случаях HSIL и SCC, ассоциированных с ВПЧ 16, их дополняют повреждения митотического аппарата. Экспрессия p53 отмечена в единичных клетках лишь при эпизомной форме и низкой степени интеграции ДНК ВПЧ 16. Частота выявления p53 уменьшалась при утяжелении цервикального поражения.

### ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ГЕНОТИПЫ *Mycobacterium tuberculosis* В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

С.Н. Жданова<sup>1</sup>, Г.И. Алексеева<sup>2</sup>, О.Б. Огарков<sup>1,3</sup>,  
А.Ф. Кравченко<sup>2</sup>, Е.Д. Савилов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФБГУ Научный центр проблем семьи и репродукции человека СО РАМН, г. Иркутск

<sup>2</sup>ГБУ РС (Я) НПЦ «Фтизиатрия», г. Якутск

<sup>3</sup>ГОУ ДПО Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования

В рамках мониторинга и раннего выявления маркеров множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) проведено исследование 130 случайно отобранных штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ), выделенных от впервые выявленных больных с различными формами туберкулеза легких в Республике Саха (Якутия) [РС(Я)]. Для сравнительной характе-

ристики изучаемой популяции МБТ в РС(Я) были также оценены аналогичные данные по Иркутской области (ИО) — 105 штаммов.

В результате мы обнаружили, что более 25% штаммов в исследуемых группах из ИО и РС(Я) связано с МЛУ: в 36 (28%) случаях — из РС(Я) и 25 (24%) — из ИО. При этом выявлена региональная специфика генотипических профилей изолятов МБТ. Штаммы семейства Beijing были основной причиной впервые выявленного туберкулеза в обеих группах, но значительно более распространены среди больных из ИО — 70 (67%), чем в Якутии — 40 (31%) ( $p < 0,01$ ). Кроме того, генетическая группа S256 (11%) обнаружена только среди больных в РС(Я). Важно отметить, что кластер S256 (MIRU профиль 233325153325), ранее не рассматриваемый как эпидемический штамм в России, был самым распространенным среди впервые выявленного туберкулеза с МЛУ из РС(Я) — 86% изолятов. Штаммы S256 были устойчивы к стрептомицину во всех случаях и к канамицину — в 4-х (29%), что существенно отличает их от других якутских изолятов, у которых устойчивость к канамицину отмечена только в 9 (8%) случаев ( $p = 0,035$ ).

Доминирование штаммов Beijing, которое обнаружено среди штаммов ИО, проявляется и других регионах России. В противовоположность этому, на территории РС (Я) был обнаружен генотип, ранее не считавшийся эпидемическим — S256. В определенной степени наши данные согласуются с результатами недавнего исследования в Новосибирской области, где в популяционной структуре штаммов, не относящихся к генотипу Beijing, описано также S-семейство штаммов. Такие специфические проявления первичного туберкулеза с МЛУ в географически изолированных популяциях требуют разработки территориально обоснованных стратегий диагностики и лечения.

### ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К РАЗЛИЧНЫМ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМ СЕМЕЙСТВА *HERPESVIRIDAE* В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЖИТЕЛЕЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

А.Б. Жебрун, Л.Б. Куляшова, К.Д. Ермоленко,  
А.В. Закревская

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Анализ результатов сероэпидемиологических исследований свидетельствует о прогрессирующем росте инфицированности вирусами, принадлежащими к семейству *Herpesviridae*. Закономерно повышается и количество манифестных форм данной группы заболеваний. При этом сравнительно мало внимания уделяется роли различных сочетаний вирусов герпеса в структуре общей инфекционной заболеваемости.

Целью данной работы явилось изучение частоты выявления различных комбинаций антител к вирусам герпеса (ВГ) 1, 2, 4, 5, 6 и 8 типов среди жителей Санкт-Петербурга.

В период с сентября 2006 г. по май 2012 г. было проведено исследование крови 1000 взрослых жителей Санкт-Петербурга. Всего было обследовано 515 мужчин и 485 женщин. Средний возраст составил 36,5 лет. В исследование включались здоровые люди в возрасте от 18 до 62 лет, не имевшие на момент обследования клинических проявлений герпетических инфекций.

Методом иммуноферментного анализа определялись специфические противовирусные IgG-антитела к вирусам простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ 1,2), цитомегаловирусу (ЦМВ), вирусу Эпштейна–Барр (ЭБВ), вирусу герпеса человека 6 и 8 типов (ВГЧ 6,8).

У большинства обследованных (86,6%) отмечалась сочетанная серопозитивность к ВГ двух–пяти типов. Серонегативными ко всем ВГ оказались 7 обследованных. Антитела к одному типу ВГ выявлялись только в 12,9% случаев, наиболее часто к ЦМВ — 7,2% случаев. Почти у трети обследованных, в 28,2% случаев, была установлена серопозитивность к ВГ 1, 2, 4, 5 и 6 типов. Примерно с одинаковой частотой выявлялись антитела к сочетанию ВПГ 1,2 и ЦМВ и их комбинациям с ЭБВ и ВГЧ 6 типа — 9,3; 8,1 и 9,9%, соответственно. Серопозитивными ко всем исследованным типам ВГ оказались только 2 человека. Минимальные уровни серопозитивности у всех обследованных контингентов были отмечены к ВГЧ-8 (3,3%). Максимальными оказались показатели серопозитивности к ВПГ, ЦМВ и ЭБВ (74,8; 81; 61,7% соответственно).

Таким образом, на настоящий момент в Санкт-Петербурге подавляющее большинство клинически здоровых людей серопозитивны не менее чем к двум типам ВГ. Причем, почти у трети из них одновременно выявляются антитела к ВПГ 1,2, ЭБВ, ЦМВ и ВГЧ 6. Это следует учитывать при диагностике и лечении герпесвирусных инфекций.

#### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ *E. COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ГОВЯДИНЫ

А.В. Забровская<sup>1</sup>, Л.И. Смирнова<sup>2</sup>, Е.И. Приходько<sup>2</sup>, В.Э. Ярикова<sup>2</sup>, Д.М. Гегирова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФБГУН ВПО Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины

В последние десятилетия одной из проблем здравоохранения разных стран стали заболевания, вызванные энтерогеморрагическими *E. coli* (ЭГКП). Главный резервуар данных микроорганизмов — сельскохозяйственные жвачные животные, являющиеся бессимптомными носителями.

При вспышке в мае 2011 г. в Европе, общее число заболевших достигло 4075 человек, из них 50 — со смертельным исходом. Возбудителем являлась *E. coli* O104:H4, принадлежащая к группе ЭГКП. Приобретенным свойством данного микроорганизма была множественная устойчивость к антимикробным препаратам (АМП).

Таким образом, *E. coli* в пищевых продуктах может представлять серьезную опасность не только как источник инфекции, но и как резервуар генетических детерминант резистентности к АМП.

Целью нашего исследования было выявление обсемененности говядины, реализуемой в сети розничной продажи Санкт-Петербурга, бактериями группы кишечной палочки и определение чувствительности выделенных микроорганизмов к АМП.

Нами были исследованы 210 проб охлажденной говядины, не подвергавшейся замораживанию, приобретенной в предприятиях розничной торговли Санкт-Петербурга. Исследование проводили согласно действующим нормативным документам. Диско-

диффузионным методом была определена чувствительность полученных культур *E. coli* к следующим АМП: левомецетину, ампициллину, полимиксину, гентамицину, тобрамицину, канамицину, стрептомицину, тетрациклину, налидиксовой кислоте, фуразолидону, цефтазидиму, цефотаксиму, цефтриаксону, ципрофлоксацину, энрофлоксацину, меропенему.

В 32 (15,2%) пробах мяса установлено наличие *Escherichia coli*. Было выявлено 7 штаммов, устойчивых к АМП, что составляет 21,8% от всех выделенных. Один из штаммов обладал множественной устойчивостью к препаратам различных фармакологических групп: β-лактамам (установлено наличие бета-лактамазы расширенного спектра), аминогликозидам, хинолонам — ципрофлоксацину и энрофлоксацину, широко применяющимся в медицине и в ветеринарии, и к тетрациклину. Остальные шесть устойчивых штаммов были резистентны к 1–3 препаратам, принадлежащим к различным фармакологическим группам: β-лактамам, аминогликозидам, тетрациклинам, хинолонам, амфениколам.

Обнаружение устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий свидетельствует о том, что микроорганизмы, находящиеся в сыром мясе, могут быть не только возбудителями инфекционных заболеваний человека и животных, но и источником генетических детерминант устойчивости к АМП.

#### ИЗУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

И.А. Зайцева, П.Г. Алексюк, А.П. Богоявленский, А.Ф. Артамонов, В.Э. Березин

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

Разработка вакцин нового поколения тесно связана с попытками использования в качестве антигенов пептидов или рекомбинантных белков. Но, в основном, подобные структуры имеют низкий уровень иммуногенности и требуют применения иммуностимулирующих препаратов, способных увеличивать уровень специфического иммунного ответа. Наиболее перспективным направлением является создание вакцин на основе корпускулярных наночастиц (иммуностимулирующих комплексов), содержащих сапонины, фосфолипиды и холестерол. К настоящему времени получен ряд вакцин на основе иммуностимулирующих комплексов, применяемых в ветеринарии и проходящих клинические испытания для медицины. Подобные комплексы получают с применением поверхностно-активных веществ, таких как октилглюкозид и МЕГА10, обладающих способностью к диализу. Вместе с тем, данные детергенты могут изменять структуру антигенных детерминант пептидов и белков, что отрицательно влияет на эффективность вакцин.

В наших исследованиях было проведено изучение возможности получения иммуностимулирующих комплексов с помощью нового поверхностно-активного соединения — неионного детергента МЭСК.

Имуностимулирующие комплексы гликопротеидов вируса гриппа с коммерческим препаратом сапонины Квил А получали методом экстенсивного

диализа. Для этого смесь фосфолипидов, холестерина и Квил А, растворенных в 5%-ном детергенте МЭСК, 1%-ном октилглюкозиде или 2%-ном МЕГА10 в соотношении 1:1:1 подвергали экстенсивному диализу.

Полученные комплексы изучали с помощью электронной микроскопии. Показано, что иммуностимулирующие комплексы, собранные с помощью использования всех трех поверхностно-активных веществ, представляют собой стабильные наночастицы размером 60–80 нм, обладающие характерной «корзинчатой» структурой. При этом неионный детергент МЭСК не оказывал какого-либо воздействия на биологические свойства вирусных антигенов, что является одним из важнейших требований для создания вакцинных препаратов.

Таким образом, установлено, что неионный детергент МЭСК может быть использован для сборки иммуностимулирующих комплексов, содержащих антигены вируса гриппа, липиды и растительные сапонины. Подобные комплексы являются перспективной структурой для конструирования субъединичной гриппозной вакцины на основе наночастиц.

### ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ВИЧ К АНТИРЕТРОВИРУСНЫМ ПРЕПАРАТАМ В ПФО ЗА ПЕРИОД 2008–2012 гг.

Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева

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

Учитывая, что резистентность ВИЧ — одна из основных проблем антиретровирусной терапии, являющаяся основной причиной ее неудач, разработка подходов, позволяющих предупредить устойчивость вируса к лекарственным препаратам, является крайне важной задачей здравоохранения.

В связи с этим, изучение уровня распространенности мутаций устойчивости через два года от начала масштабного применения терапии, их связь с гендерными характеристиками пациентов, выявление доминирующих мутаций в общем пейзаже лекарственной устойчивости и изучение полученных данных за пятилетний период наблюдения (2008–2012 гг.) в масштабе Приволжского федерального округа (ПФО) является актуальным.

Исследован 571 образец плазмы крови ВИЧ-инфицированных пациентов, как получающих терапию, так и «наивных», из 14 регионов ПФО. Результаты показали, что 14,9% женщин и 19,3% мужчин из общего количества обследованных приобрели устойчивость к антиретровирусным препаратам. В среднем 0,8 мутаций было зарегистрировано на одну обследованную женщину, в то время как соответствующий результат для мужчин был чуть больше — одна мутация. Среднее количество мутаций, выявленных среди лиц с резистентностью, для женщин составляло 2,7 мутаций, а для мужчин — 2,8. Тогда, как среднее число препаратов, к которым есть устойчивость, среди женщин с резистентностью составляет — 5, а среди мужчин — 5,2. Устойчивость в среднем к 1,6 и 1,9 препаратам была отмечена для женщин и мужчин соответственно.

Наиболее распространенными мутациями были M184V, G190S/A, K103N, и M46I, определяющие резистентность к ламивудину, эмтрицитабину, зальцитабину, ставудину, делавердину, эфавиренцу и невирапину. Существует разница в диапазоне

антиретровирусной лекарственной устойчивости с 2008 по 2012 гг.: в первый год исследования — наименьший общий спектр антиретровирусной резистентности с увеличением в последующие годы, наибольший — в 2012 г. Обсуждаются различия для мутаций лекарственной устойчивости между мужчинами и женщинами и изменения в тенденциях развития резистентности ВИЧ.

### ОДНОВРЕМЕННОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *UREAPLASMA* *UREALYTICUM* И *MYCOPLASMA HOMINIS*

О.В. Заручейнова, В.В. Рока, В.Н. Вербов

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Среди заболеваний, передающихся половым путем, все большее значение приобретают воспалительные процессы, этиологическим агентом которых выступают условно-патогенные бактерии и грибы, являющиеся составной частью нормального биоценоза урогенитального тракта. Наиболее значимыми среди них являются микоплазменные инфекции.

В настоящее время идентификацию *M. hominis* и *U. urealyticum* осуществляют культуральным (бактериологическим) исследованием с количественным выделением микроорганизмов и исследованием методом ПЦР (в режиме реального времени). Клинически значимым является обнаружение *M. hominis* и *U. urealyticum* в количестве  $10^4$  КОЕ/мл. Предварительное определение антибиотикочувствительности при назначении лечения микоплазменных инфекций позволяет снизить удельный вес положительных результатов при повторном обследовании после курса антибиотикотерапии.

Целью работы стала разработка способа одновременного выявления, полуколичественной оценки титра и определения антибиотикочувствительности *M. hominis* и *U. urealyticum* с использованием универсальной питательной среды культуральным методом.

Для выявления и определения антибиотикочувствительности *M. hominis* и *U. urealyticum* использовали разработанную микротест-систему, позволяющую избавиться от трудоемких работ и получать стандартные, воспроизводимые результаты. В работе использовали универсальную и транспортную питательные среды производства ФБУН НИИЭМ имени Пастера (ФСР 2009/05987), а также антибиотики различных групп, которые зарегистрированы на территории РФ и используются в лечении микоплазмозов практикующими врачами. Испытания микротест-системы проводились на расширенном наборе клинических изолятов *M. hominis* и *U. urealyticum*.

В основе идентификации микроорганизмов на жидких питательных средах лежит характерный для *M. hominis* гидролиз аргинина, для *U. urealyticum* гидролиз мочевины с выделением аммиака и защелачиванием среды. Визуализация реакции фиксируется при смене цвета pH-индикатора. Полуколичественное определение титра для *M. hominis* и *U. urealyticum* базируется на принципе разведения в жидкой питательной среде. Разработанный способ позволяет объединить в одном опыте выявление *M. hominis* (или *U. urealyticum*), полуколичественное определение титра микроорганизмов, определение чувствительности к антибиотикам по уже имеющимся и новым данным и использование универсальной среды.

## ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА КОРИ, ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА И КРАСНУХИ В РОССИИ: ПРОБЛЕМЫ И РЕАЛИИ

В.В. Зверев, Н.В. Юминова, Н.А. Контаров,  
С.К. Александр, Е.О. Контарова, И.В. Погарская,  
Г.В. Архарова, Д.А. Ефремов

ФГБУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН,  
Москва

ГБОУ ВПО Первый московский государственный медицинский  
университет им. И.М. Сеченова

Борьба с вирусными заболеваниями активно осуществляется во всем мире, но до сих пор огромное количество людей страдает как от самих инфекций, так и от их последствий. К таким инфекциям относятся корь, эпидемический паротит (ЭП) и краснуха. В нашей стране активная борьба с этими инфекциями началась в 1967, 1981 и 1998 гг. соответственно. До начала массовой иммунизации против ЭП все дикие штаммы вируса не были генетически гомогенны, в отличие от штаммов вируса кори (всего 1 генотип А) или вируса краснухи (1 и 2 генотипы), существовали разные генетические линии (в России свой генотип, который нигде больше не встречался). Проводимая в мире вакцинация против этих антропонозных инфекций ускорила процессы эволюции вирусов кори, ЭП и краснухи. Сейчас как в мире, так и в нашей стране существует вероятность того, что благодаря вмешательству массовой иммунизации при высоком пороге привитости населения, может происходить смена генотипов штаммов этих вирусов с достоверным увеличением показателя генетической дивергенции. В этой связи мониторинг эффективности противовирусных вакцин против кори, ЭП и краснухи просто необходим.

Несмотря на то, что вирусы кори, ЭП и краснухи в антигенном отношении стабильны, уже существует множество заметных антигенных вариаций. Вирус кори — 23 генотипа, 16 из которых были идентифицированы после 1990 г., вирус ЭП — 12 генотипов, вирус краснухи — 9 основных и 5 временных генотипов.

В течение двадцати последних лет накопились факты, свидетельствующие о наличии вариабельности биологических свойств у диких и вакцинных штаммов вирусов кори, ЭП и краснухи. Представляется важным слежение за частотой спонтанных мутаций этих вирусов и изменениями их биологических свойств, особенно по характеру цитопатической активности и степени нейровирулентности. Массовая вакцинопрофилактика ускорила эволюцию вирусов кори, ЭП и краснухи, что в свою очередь требует постоянного мониторинга этого процесса.

## ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИОЗА И МИКОПЛАЗМОЗА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ

Л.О. Землянская<sup>1,2</sup>, М.Г. Газазян<sup>1</sup>, П.В. Калуцкий<sup>1</sup>,  
О.А. Землянский<sup>3</sup>

<sup>1</sup>МБУЗ Городская клиническая больница № 2 г. Белгорода

<sup>2</sup>ВПО Курский государственный медицинский университет

<sup>3</sup>ФГАОУ ВПО Белгородский государственный научный  
национальный университет

Широкое распространение хламидийной и микоплазменной инфекций, многоочаговость патологических проявлений, склонность к диссеми-

нированию позволяют рассматривать их как одну из важнейших проблем. Однако, несмотря на большое количество научных исследований, посвященных хламидиозу и микоплазмозу, до последнего времени не решены многие вопросы их лабораторной диагностики.

Целью настоящего исследования является изучение эффективности используемых в настоящее время методов лабораторного обследования женщин с привычным невынашиванием. Были обследованы 60 женщин с привычным невынашиванием. Метод ИФА был использован в качестве скринингового для обнаружения антител классов IgA, IgM и IgG к *S. trachomatis*, *M. genitalium* и *M. hominis*. Для подтверждения хламидиоза и микоплазмоза были использованы ПЦР в реальном времени и дополнительно культуральный метод для диагностики *M. genitalium*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis*. Анализ результатов серологического и молекулярно-биологического методов исследования (ИФА и ПЦР в реальном времени) показал, что *S. trachomatis* обнаружены у всех 60 пациентов основной группы, при этом в сочетании с генитальными микоплазмами (*M. genitalium*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis*) — у 30 обследованных женщин. Группу сравнения составили 40 здоровых женщин. Выявленные возбудители находились в ассоциации с патогенной (*S. trachomatis*) и условно-патогенной микрофлорой.

Иммуноглобулины класса IgG к *S. trachomatis* выявлены в диагностических титрах у 23,6±2,6% из 60 женщин. У 22,8±2,6% пациенток были определены IgA в сыворотке крови в диагностических титрах в сочетании с IgG, что позволило предположить у них активную инфекцию. Одновременно диагностические титры двух указанных иммуноглобулинов и хламидии в ПЦР были выявлены у 77±1% пациенток. У 7,7±1,7% женщин диагностические титры IgG при отсутствии IgA сочетались с положительным ПЦР-тестом. Еще у 6 женщин диагностические титры IgA определялись при отсутствии IgG и положительном результате ПЦР, что может свидетельствовать о ранней позитивации титров IgA при инфицировании *S. trachomatis* и очередной раз подтверждает ценность указанного лабораторного теста при диагностике хламидийной инфекции.

Нами была также проанализирована сравнительная эффективность основных методов диагностики микоплазменной инфекции — культурального метода и ПЦР — у 30 женщин с привычным невынашиванием. Микоплазмы (*M. hominis*) в половых путях в изолированном виде были выявлены с помощью ПЦР у 10 женщин и уреоплазмы (*U. urealyticum*) — у 13 женщин. Если при положительной ПЦР диагностически значимый уровень обсемененности микоплазмами имел место в 62,5±9,9% случаев, то применительно к уреоплазмам этот показатель составил 71,8±5,1% ( $p > 0,05$ ). Присутствие одновременно обеих разновидностей микоплазм в ПЦР (*M. hominis* и *U. urealyticum*) было выявлено у 7 женщин. Следует также обратить внимание на то обстоятельство, что диагностически значимый уровень контаминации половых путей микоплазмами и уреоплазмами у лиц с положительным результатом ПЦР выявлялся не всегда. При уреоплазмозе диагностически значимая обсемененность была заре-

гистрирована только у  $9,3 \pm 1,8\%$  женщин ( $p < 0,001$ ), а при микоплазмозе у  $33,5 \pm 2,1\%$  женщин ( $p < 0,001$ ). Полученные данные подтверждают необходимость верификации диагноза уреаплазмоза и микоплазмоза с помощью и молекулярно-биологического, и культурального методов.

В связи с важностью наличия хронических воспалительных процессов в органах малого таза для установления диагноза урогенитального хламидиоза и уреаплазмоза, на следующем этапе исследования была проанализирована хроническая органная инфекционная патология, наиболее часто встречающаяся при данных диагностированных возбудителях у женщин.

Дополнительно нами была сопоставлена выявляемость наиболее значимых лабораторных тестов на хламидийную и микоплазменную инфекции в зависимости от наличия или отсутствия патологического процесса в органах мочеполовой системы. IgG и IgA к хламидиям в 2 раза чаще выявлялись у женщин с хроническим сальпингоофоритом по сравнению с группами больных без урогенитальной патологии ( $p < 0,05$ ). ДНК хламидий в 3,7 раза чаще (по сравнению с контрольной группой) определялась у пациенток с бактериальным вагинозом (у  $29,3 \pm 4,6\%$  против  $8,0 \pm 2,9\%$ ) и, особенно, при вагинозе на фоне хронического сальпингоофорита (у  $32,5 \pm 7,4\%$ ) при  $p < 0,001$ . При хроническом сальпингоофорите без дисбиоза влагалища хламидии идентифицировались только в  $15,0 \pm 7,9\%$  случаев.

Уточнена значимость различного сочетания микоплазм и уровней обсемененности ими половых путей при формировании указанных вариантов вагиноза. Выявляемость *M. hominis* в количестве  $10^4$  ЕИЦ/мл и более (как моноинфекция) преобладала над всеми остальными представленными группами только у женщин с «классическим» вагинозом ( $26,0 \pm 5\%$ ), сочетание *M. hominis* и *U. urealyticum* в количестве более  $10^4$  ЕИЦ/мл преобладало в группе женщин с вагинозом и лейкоцитами.

Для диагностики хламидиоза на начальном этапе нами использована кровь на серодиагностику: поиск IgA и IgG в сыворотке крови с помощью ИФА. Однако при получении отрицательного результата нами проводилось исследование материала в ПЦР. Диагностику микоплазмоза и уреаплазмоза при наличии клинических проявлений лучше начинать с ПЦР, так как этот метод позволяет совместить взятие материала с таковым для диагностики хламидиоза. Однако, в отличие от хламидийной инфекции, обнаружение ДНК возбудителя еще не может однозначно свидетельствовать о необходимости терапии. В этом случае обязательно проведение культурального исследования с целью определения уровня контаминации половых путей микоплазмами или уреаплазмами.

#### ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕНИТАЛЬНОЙ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

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

ГБОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия МЗ РФ

Международная организация по исследованиям в области рака (IARC) декларировала, что предотвращение заражения и персистенции вируса папил-

ломы человека однозначно можно считать профилактикой рака шейки матки.

Цель: оценить частоту встречаемости и спектр онкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ ВР) при цитологической норме и эктопии шейки матки.

Материал и методы. В исследование вошли 141 женщина, которые по результатам анамнестических, клинических, цитологических, по показаниям кольпоскопических и гистологических методов исследования были разделены на две группы: I группа — 67 пациенток без клинико-морфологических изменений цервикального эпителия и иной гинекологической патологии, II группа — 74 пациентки с эктопией шейки матки. Средний возраст женщин  $25,71 \pm 0,67$  лет. Выявление онкогенных типов ВПЧ в цервикальных соскобах проводили методом Real-time ПЦР на тест-системах «Амплисенс ВПЧ ВКР — ГЕНОТИП FRT» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва) на приборе «Rotor-Gene 6000» (Австралия).

Результаты. ВПЧ ВР определялся в I группе у  $44,78\%$  ( $n = 30$ ), во II группе — в  $51,35\%$  ( $n = 38$ ) женщин. Инфицирование одним типом чаще обнаруживалось у пациенток II группы —  $65,79\%$  ( $n = 16$ ), чем в I группе —  $53,33\%$  случаев ( $n = 25$ ). У пациенток обеих групп в разном проценте случаев были выявлены все 12 определяемых генотипов. В I группе лидировал 16 тип ( $25,5\%$ ), вторую позицию занимал 31 тип ( $11,8\%$ ), третью — 35, 51 и 56 типы с одинаковой частотой встречаемости ( $9,8\%$ ). Реже в данной группе встречались 18, 33, 39, 45, 52, 58, 59 типы ВПЧ (менее  $8\%$ ). Во II группе ВПЧ 16 типа сохранял лидирующую позицию и обнаруживался у  $26,4\%$  пациенток, ВПЧ 31, 51 и 56 типов занимали второе место и выявлялись в одинаковом проценте случаев ( $15,1\%$ ). Остальные типы ВПЧ ВР (18, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59) были обнаружены менее чем в  $6\%$  случаев.

Выводы. Показано широкое распространение ВПЧ ВР как среди женщин с цитологической нормой, так и при эктопии шейки матки с преобладанием высокоагрессивного ВПЧ 16 типа. Наблюдаемое увеличение частоты встречаемости вируса в группе с эктопией шейки матки по сравнению с латентной ВПЧ-инфекцией отражает несостоятельность защитной функции аномального эктопического эпителия от проникновения и персистенции микроорганизмов, что создает благоприятный фон для возникновения малигнизации на фоне эктопии. Факт обнаружения в разном проценте случаев всех анализируемых генотипов определяет необходимость назначения теста на ДНК ВПЧ с определенным как минимум 12 онкогенных типов ВПЧ.

#### ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ ПАТОГЕННОСТИ, КОДИРУЮЩИХ СПОСОБНОСТЬ К ТОКСИНООБРАЗОВАНИЮ, У ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНОГО БИОТОПА ДЕТЕЙ Г. ИРКУТСКА

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

В патогенезе развития дисбактериоза кишечника важную роль играют не только количественные и качественные изменения микрофлоры, но и «патогенный потенциал» микроорганизмов. Так, известно, что ключевым поражающим фактором энтерогемор-

рагических эшерихий являются шигатоксины — *stx1* и *stx2*. В связи с этим, цель исследования — выявление генов, кодирующих способность к токсинобразованию у *E. coli* с нормальной ферментативной активностью и атипичными ее формами, как резервуара потенциальной патогенности в составе индигенной микрофлоры кишечника.

Для выявления данных генов использовали выборку из 66 образцов *E. coli* с нормальной ферментативной активностью (НФА), 18 — *E. coli* со слабой ферментативной активностью (СФА) и 12 — *E. coli* с гемолитической активностью (ГА); культуры, выделенные у детей (72 чел.) в возрасте от рождения до 13 лет с признаками функционального нарушения желудочно-кишечного тракта. По культурально-ферментативным свойствам и антигенным характеристикам исследуемые штаммы *E. coli* являлись типичными представителями индигенной микрофлоры рода *Escherichia*. Маркеры вирулентности выявляли в ПЦР с праймерами к генам патогенности *stx1* и *stx2*, с последующей электрофоретической детекцией продуктов амплификации в 1% агарозном геле. Из 96 образцов культур *E. coli* 19 (19,8%) оказались положительными на наличие гена *stx1* и 8 (8,3%) — на наличие гена *stx2*. Оба гена патогенности чаще присутствовали в геноме *E. coli* с НФА (*stx1* — 24,2%, *stx2* — 9,1%) по сравнению с атипичными ее формами (для форм со СФА: *stx1* — 11,1%, *stx2* — 5,5%; для форм с ГА: *stx1* — 8,3%, *stx2* — 8,3%). В двух случаях в одном биотопе определялся одновременно *stx1* как у *E. coli* с НФА, так и у *E. coli* со СФА; в другом биотопе — *stx1* у *E. coli* с НФА и с ГА, что, возможно, свидетельствует о горизонтальной передаче генетического материала. Наличие гена *stx1* у *E. coli*, выделенной от детей до года определялось в 31% случаев, что почти в 2 раза чаще, чем у детей старшей возрастной группы. При этом частота встречаемости *stx2* у *E. coli* у детей старше года была выше в 4 раза (14%) по сравнению с детьми до года. Таким образом, присутствие генов *stx1* и *stx2* в разных биохимических вариантах *E. coli*, как в отдельности, так и в сочетаниях, позволяет констатировать факт наличия резервуара потенциальной патогенности в непатогенных формах *E. coli*, о чем свидетельствует обнаружение у них генетических маркеров.

#### **ВАКЦИНОАССОЦИИРОВАННЫЙ ПОЛИОМИЕЛИТ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СОВРЕМЕННАЯ СТРАТЕГИЯ ВАКЦИНАЦИИ**

О.Е. Иванова<sup>1</sup>, Т.П. Еремеева<sup>1</sup>, М.Л. Яковенко<sup>1,2</sup>, А.П. Гмыль<sup>1,2</sup>, А.К. Шакарян<sup>1</sup>, О.Ю. Байкова<sup>1</sup>, Н.С. Морозова<sup>3</sup>, О.П. Чернявская<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва

<sup>2</sup>Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>ФБУЗ Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Оральная (ОПВ) и инактивированная (ИПВ) полиовирусные вакцины — высокоэффективные, безопасные препараты — имеют разные схемы применения в разных странах и на разных этапах выполнения программы ВОЗ по искоренению полио-

миелита. ОПВ — безальтернативная вакцина для прерывания циркуляции диких полиовирусов (ПВ), однако ее применение сопряжено с двумя проблемами — чрезвычайно редкими, но социально значимыми, осложнениями в виде вакциноассоциированного паралитического полиомиелита (ВАПП), и риском, связанным с возможностью вакцинных штаммов Сэбина трансформироваться в нейровирулентные варианты. Случаи заболевания полиомиелитом, вызванным диким ПВ, в РФ не выявляют с 1996 г. (исключение — вспышка в 2010 г., связанная с заносом дикого вируса из Центральной Азии), однако с 1998 по 2012 гг. в РФ зарегистрировано 115 случаев ВАПП: 80 — у реципиентов ОПВ, 35 — у контактных лиц. С 2008 г. в РФ применяют «последовательную» схему вакцинации против полиомиелита (ИПВ+ОПВ). После введения первичной вакцинации с помощью ИПВ в 2008 г. ежегодное количество случаев ВАПП снизилось в 5,9 раза — от 106 случаев в период преимущественного применения ОПВ в 1998–2007 гг. (10,6 случая/год) до 9 случаев в 2008–2012 гг. (1,8 случая/год). Изменилось соотношение случаев ВАПП у реципиентов ОПВ и у контактных лиц — 1 случай у реципиента на 0,34 случая у контактных в 1998–2007 гг., 1 на 8 случаев в 2008–2012 гг. Таким образом, при «последовательной» схеме вакцинации снижается риск возникновения ВАПП для реципиентов ОПВ, но сохраняется для контактных не привитых лиц. В 2010 г. слабо дивергировавший вариант ПВ типа 2 стал причиной одномоментного возникновения 4-х случаев ВАПП у не привитых детей в одном доме ребенка. Определение первичной структуры участка генома VP1 выявило 3 нуклеотидных отличия от вакцинного штамма Сэбина, 2 из которых приводили к заменам аминокислот в положениях 4 и 143 (известная деаттенуирующая мутация). Переход на плановую иммунизация с помощью ИПВ позволит устранить негативные стороны применения ОПВ, обеспечивая эффективную защиту от полиомиелита.

#### **ВЫСОКОРАЗРЕШАЮЩАЯ ТРЕХМЕРНАЯ МОДУЛЯЦИОННАЯ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННАЯ МИКРОСКОПИЯ КАК НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ L-ТРАНСФОРМАЦИИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ**

П.С. Игнатъев<sup>1</sup>, А.Ю. Арсенюк<sup>2</sup>, К.В. Индукаев<sup>1</sup>, И.Б. Павлова<sup>2</sup>, Д.А. Воронин<sup>3</sup>, П.А. Осипов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ООО «Лаборатории АМФОРА», Москва

<sup>2</sup>Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН, Москва

<sup>3</sup>Liverpool School of Tropical Medicine, United Kingdom

Разработан 3D модуляционный интерференционный микроскоп (МИМ), предназначенный для исследования пространственной организации клеточных и субклеточных структур в живых биологических объектах. Микроскоп позволяет измерять морфологические параметры клетки с разрешением 0,1 нм по вертикали и 10–100 нм в плоскости объекта. Интерференционная картина, возникающая при прохождении лазерного излучения через измеряемый объект, преобразуется в фазовый портрет, представляющий собой цифровое изображение, содержащее информацию о распределении оптической плотности клетки. Морфологические

параметры клетки измеряются менее чем за 0,3 с, что значительно уменьшает повреждение биологических объектов и открывает новые возможности при изучении клеточной и субклеточной нанодинамики. Большинство морфологических параметров клетки может быть также получено с помощью электронной микроскопии, но сложная процедура пробоподготовки требует значительных временных затрат и зачастую приводит к необратимым изменениям в морфологии.

В настоящей работе исследовался процесс L-трансформации живых патогенных бактерий (*Salmonella typhimurium*) методами МИМ и электронной микроскопии. Полученные данные позволили выявить отличия в морфологии стабильных и нестабильных (способных реверсировать в исходное состояние) L-форм и сформировать количественные критерии оценки эффективности антибактериальных препаратов.

МИМ открывает новые перспективы в диагностической микробиологии, позволяя анализировать морфологические параметры клетки со сверхвысоким пространственным разрешением, исключая сложную и длительную пробоподготовку.

#### **МОНИТОРИНГ ЦИРКУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН ЗА 2010–2013 гг.**

**Г.Ш. Исаева, С.Д. Лебедева, Л.Р. Леонтьева**

*ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии  
в Республике Татарстан, г. Казань*

Цель: провести анализ циркуляции возбудителей ОРВИ на территории Республики Татарстан за 2010–2013 гг.

Материал и методы. Материалом для исследования служили мазки из носоглотки, отобранные от больных с подозрением на ОРВИ. Было обследовано в 2010 г. — 229 больных, в 2011 г. — 554 больных, 2012 г. — 638 больных, 2013 г. (январь–март) — 539 больных. Исследование материала производили методом ПЦР на обнаружение специфических фрагментов нуклеиновых кислот вирусов гриппа А (А/Н1N1; А/Н3N2; А/Н1N1 2009), гриппа В, парагриппа, RS-вирусов, аденовирусов, бокавирусов, метапневмовирусов, коронавируса, риновирусов с помощью наборов коммерческих тест-систем в соответствии с рекомендациями производителей.

Результаты. По результатам исследований, проведенных в 2010–2011 гг. в период эпидемического подъема заболеваемости ОРВИ на территории РТ, в этиологической структуре ОРВИ доминировал вирус пандемического гриппа А(Н1N1)/swine/2009, который был выявлен в 12,7 и 30,7% случаев соответственно. В 2012 г. ни у одного обследованного вирус «свиного» гриппа выявлен не был, в 2013 г. произошел «возврат» пандемического гриппа, который был выявлен в 29,5% случаев. Также обнаруживался вирус гриппа А(Н3N2): в 2011 г. 2,1% случаев, в 2012 г. наблюдалось увеличение случаев до 4,23%, с последующим снижением до 1,2% случаев в 2013 г. Вирус гриппа А/Н1N1 в 2010–2011 гг. не выявлялся, в 2012 г. он был обнаружен в 0,16% случаев, в 2013 г. — в 1,3%. Заболеваемость гриппом В за годы наблюдений оставалась практически на одном уровне: в 2010 г. — 1,75%, 2011 г. — 1,98%,

2013 г. — 1,3%. В этиологической структуре другие возбудители ОРВИ составляли менее половины случаев, за период 2011–2013 гг. частота их обнаружения варьировала от 35,9 до 45,6%. Доминировали риновирусы (в 2011 г. — 27,9%, в 2012 г. — 13,48%, в 2013 г. — 14,4%). Остальные возбудители выявлялись значительно реже: вирусы парагриппа (6,9%), RS-вирусы (8,15%), адено-, бока-, корона- и метапневмовирусы в 2,66; 2,35; 1,88 и 1,41% случаев соответственно.

Вывод. В 2010–2013 гг. в период сезонного подъема ОРВИ на территории РТ доминировали вирусы гриппа А, преимущественно пандемического подтипа А(Н1N1)/swine/2009.

#### **РОЛЬ TS-МУТАЦИЙ В МОДУЛЯЦИИ ВИРУЛЕНТНЫХ И ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ВИРУСА ГРИППА А**

**И.Н. Исакова-Сивак, Г.Д. Петухова, С.А. Кузнецова,  
В.А. Кузнецова**

*ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН,  
Санкт-Петербург*

Мутации, приводящие к неспособности вирусов животных размножаться при повышенных температурах (ts-мутации), являются одним из наиболее частых генетических дефектов вирусов. Ранние эксперименты показали, что ts-мутанты обладали сниженной вирулентностью для мышей по сравнению с вирусом дикого типа, однако изученные мутанты были генетически нестабильны и часто ревертировали к дикому фенотипу, поэтому из ранних работ сложно сделать выводы о влиянии степени аттенуации вирусов на интенсивность выработки противогриппозного иммунитета. Возможность детально изучать влияние ts-мутаций на аттенуацию и иммуногенность вирусов появилась с началом использования холодовой адаптации (ХА) вирусов для получения ts-мутантов. Одним из первых модельных ХА штаммов, полученных в нашей стране, был вирус А/Ленинград/134/17/57 (Н2N2) (Лен/17), который отличался от своего предшественника А/Ленинград/134/57 набором ts-мутаций в различных генах. Известно, что эти ts-мутации не только приводят к снижению вирулентности вируса, но также изменяют интенсивность выработки иммунного ответа. В данном проекте, используя самые современные генно-инженерные и иммунологические методы, мы попытались оценить вклад наиболее значимых мутаций в генах ХА штамма Лен/17 на его аттенуацию и модуляцию иммунного ответа у мышей. Предварительный эксперимент с использованием двух генно-инженерных вирусов, полярно отличающихся по содержанию ts-мутаций, показал, что внесение всех мутаций в геном вирулентного штамма приводило к его апатогенности для мышей, но при этом наблюдалась разнонаправленная модификация иммунного ответа, тогда как ранее считалось, что при ослаблении вирулентных свойств вируса происходит только снижение его иммуногенных потенций. Для детального изучения влияния наиболее значимых ts-мутаций донора Лен/17, мы сконструировали набор мутантных штаммов на основе вируса А/PR/8/34 (Н1N1), поскольку он является модельным штаммом, вирулентным для мышей. Полученный нами набор мутантных штаммов различался

не только по своим фенотипическим характеристикам, но также обладал широким спектром вирулентности и иммуногенности для мышей. Было показано влияние ts-мутаций на индукцию гуморального и клеточного системного иммунного ответа, а также на формирование локального иммунного ответа.

*Проект поддержан грантом РФФИ № 12-04-31364 мол\_а.*

### РОЛЬ МИГРАНТОВ В ИМПОРТИРОВАНИИ ПОЛИОВИРУСОВ И НЕПОЛИОМИЕЛИТНЫХ ЭНТЕРОВИРУСОВ НА СЕВЕРО-ЗАПАД РОССИИ

**О.И. Канаева, Н.Р. Розаева, Н.И. Романенкова**  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В 2002 г. Российская Федерация в составе Европейского региона ВОЗ получила сертификат об отсутствии циркуляции диких полиовирусов. Вместе с тем в мире существует угроза заноса дикого полиовируса не только из эндемичных по полиомиелиту стран (Афганистан, Нигерия, Пакистан), но из ранее свободных от полиомиелита территорий, на которых возобновилась циркуляция диких вирусов. В 2010 г. в Таджикистан из Северной Индии был импортирован дикий полиовирус серотипа 1, в стране было зарегистрировано 458 случаев паралитического полиомиелита, 29 больных умерло. Из Таджикистана вирус распространился в Казахстан (1 случай), Туркмению (2 случая) и Российскую Федерацию (14 случаев). Дикая полиовирус серотипа 1 был завезен и в Санкт-Петербург. От трех здоровых детей, недавно прибывших из Таджикистана, было выделено 4 штамма дикого полиовируса серотипа 1, причем один ребенок посещал детское дошкольное учреждение. Благодаря быстрому лабораторному выявлению выделителей вируса и проведению противоэпидемических мероприятий, клинических случаев полиомиелита в регионе не было. В среднем в 2010–2012 гг. полиовирусы были обнаружены в 5,4% проб, при этом в 2010 г. — в 10%. Кроме того, у детей, прибывших из неблагополучных территорий, нередко выделяли неполиомиелитные энтеровирусы. В лаборатории за последние 3 года было обследовано 315 мигрантов, из которых доля прибывших в 2010 г. составила 47%. Большая часть детей прибывала в регион из Таджикистана, а также из Узбекистана, Азербайджана, Дагестана, Чеченской Республики, Индии и Афганистана.

Из материала от здоровых детей из семей мигрантов ежегодно выделяли 12–13% неполиомиелитных энтеровирусов. Спектр выделенных от прибывших детей вирусов был разнообразен, около половины составили энтеровирусы Коксаки В1–6, кроме того были обнаружены вирусы ЕСНО 7, ЕСНО 11, ЕСНО 13, ЕСНО 29, ЕСНО 30 и Коксаки А.

Таким образом, при выполнении Программы ликвидации полиомиелита, помимо исследования проб от больных острыми вялыми параличами (не менее 1 случая на 100 000 детей до 14 лет), важным компонентом является исследование проб от здоровых детей до 5 лет, прибывших из неблагополучных территорий. Результаты этих исследований также служат для совершенствования надзора за энтеровирусной инфекцией, поскольку позволя-

ют расширить спектр циркулирующих на территориях региона неполиомиелитных энтеровирусов, которые могут быть причиной возникновения очаговой и/или вспышечной заболеваемости энтеровирусной инфекцией.

### ВЫЯВЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К gIqQ АНТИГЕНУ *BORRELIA MIYAMOTOI* В СЫВОРОТКАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ В УДМУРТИИ

**Л.С. Карань<sup>1</sup>, М.Л. Маркелов<sup>2</sup>, Д.С. Сарксян<sup>3</sup>, Т.А. Чеканова<sup>2</sup>, Н.М. Колясникова<sup>1,4</sup>, Г.А. Шипулин<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ медицины труда, Москва

<sup>3</sup>Ижевская государственная медицинская академия

<sup>4</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова, Москва

*Borrelia miyamotoi* — спирохета, обнаруживаемая в клещах рода *Ixodes*, являющихся переносчиками возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) на территории США, Европы, России и Японии. В ЦНИИ эпидемиологии была разработана методика для детекции ДНК *B. miyamotoi* в биологическом материале методом ПЦР. В 2009–2012 гг. ДНК *B. miyamotoi* была выявлена в крови больных, в анамнезе которых отмечено присасывание клеща, в Удмуртии и Свердловской области. В отличие от боррелий — возбудителей ИКБ, где основным патогномичным признаком является эритема, у больных, инфицированных *B. miyamotoi*, преобладают такие клинические симптомы, как лихорадка, миалгия, артралгия и головная боль и, как правило, отсутствует эритема. Существующие коммерческие наборы для серологической диагностики ИКБ не позволяют дифференцировать эти два заболевания. В ЦНИИ эпидемиологии был разработан иммуночип, позволяющий выявлять IgM и IgG к 8 рекомбинантным антигенам *B. afzelii* и *B. garinii* (p100, VlsE, p58, p41, p39, BVK32, OspC, p17). Чувствительность и специфичность иммуночипа описана ранее. В 2012 г. данный иммуночип был дополнен рекомбинантным антигеном gIqQ *B. miyamotoi*, отсутствующим у *B. burgdorferi* s.l. С использованием данного иммуночипа были исследованы сыворотки больных, собранные в Ижевске в 2012 г. В первую группу из 9 человек вошли больные с лихорадкой и головной болью, у которых отсутствовала эритема, а в крови была выявлена ДНК *B. miyamotoi*. Анти-gIqQ IgM антитела были обнаружены у 6 из 9 пациентов в сыворотках, взятых на первой неделе заболевания (mediana — 2-й день болезни), во всех 9 сыворотках, взятых в среднем на 12-й день болезни, и во всех 6 образцах, собранных к концу первого месяца (mediana — 35-й день болезни). Анти-gIqQ IgG антитела обнаружены в 1 из 9, в 3 из 9 и в 5 из 6 образцов соответственно. Вторая группа включала 12 пациентов с мигрирующей эритемой, у которых не была выявлена ДНК *B. miyamotoi* в крови в острой стадии заболевания. В сыворотках крови данной группы пациентов, взятой в среднем на 6-й и 15-й дни от начала заболевания, только в одном образце обнаружены анти-gIqQ IgM и в другом — анти-gIqQ IgG, в низком титре и без дальнейшей динамики. Для всех пациентов диагноз ИКБ был подтвержден с использованием вышеописанного иммуночипа, содержащего 8 антигенов *B. afzelii* и *B. garinii*. Таким

образом, выявление в крови специфических антител к *B. miyamotoi* дополнительно к обнаружению ДНК бактерии указывает на роль *B. miyamotoi* в патологии человека.

### ДЕТЕКЦИЯ *BORRELIA MIYAMOTOI* В КЛЕЩАХ РОДА *Ixodes* И МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Л.С. Карань<sup>1</sup>, Н.М. Колясникова<sup>1,2</sup>, К.А. Гриднева<sup>1</sup>,  
Д.С. Сарксян<sup>3</sup>, М.В. Федорова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова, Москва

<sup>3</sup>Ижевская государственная медицинская академия

Спирохета *Borrelia miyamotoi* впервые была обнаружена в Японии в 1995 г. в клещах *I. persulcatus*, и в настоящее время известно, что ДНК этой бактерии обнаруживается в клещах *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. dentatus*. Также методом ПЦР *B. miyamotoi* выявляют в тканях птиц (*Meleagris gallopavo*, *Cardinalis cardinalis*) и диких грызунов. С использованием разработанной в ЦНИИ эпидемиологии методики выявления ДНК *B. miyamotoi* в биологических образцах было изучено 1090 клещей *I. ricinus*, 1958 клещей *I. persulcatus*, собранных в 2006–2012 гг. в центральном и северо-западном регионе (Московская, Ярославская, Костромская, Липецкая, Вологодская области), Поволжье (Удмуртия, Кировская область), на юге России (Ставропольский край), Урале (Свердловская, Челябинская, Курганская области) и в Сибири (Новосибирская и Иркутская области), а также в восточном Казахстане; 280 мелких млекопитающих, включающих *Myodes glareolus* (240) и 40 экземпляров других грызунов, относящихся к видам *Apodemus uralensis*, *Mus musculus*, *A. flavicollis* и *M. rutilus*, отловленных в Удмуртии в 2011–2012 гг.

*B. miyamotoi* была обнаружена в 1,2% клещей *I. ricinus* из Московской, Липецкой областей и Ставропольского края. Уровень зараженности *I. persulcatus* составил 1,9% (628 исследованных клещей) для центральных областей, в Поволжье — 5,7% (544), на Урале — 2,9% (481), в Сибири — 3,3% (305) и в восточном Казахстане — 3,7% (533). Следует отметить, что 62% *I. ricinus* и 35% *I. persulcatus*, в которых была обнаружена ДНК *B. miyamotoi*, также были инфицированы боррелиями группы *B. burgdorferi* s.l. Инфицированность рыжей полевки (*M. glareolus*) *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi* s.l. составила 3,3 и 18,3% соответственно. *B. miyamotoi* была обнаружена еще только в одном из исследованных видов грызунов: *A. uralensis* (в одном из 8 экземпляров).

Учитывая низкий уровень инфицированности клещей и грызунов *B. miyamotoi* в сравнении с боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. и значительный процент обнаружения ДНК *B. miyamotoi* в крови больных [при исследовании методом ПЦР и ИФА крови больных ИКБ в Свердловской области в 2009 г., среди которых в 86 случаях была зарегистрирована безэритемная форма заболевания, а в 102 — эритемная, ДНК *B. miyamotoi* была выявлена в 51% от всех безэритемных форм, или в 23% всех подтвержденных случаев ИКБ (Platonov et al., 2010)], можно предположить более высокую инфицирующую человека активность *B. miyamotoi* в сравнении с *B. burgdorferi* s.l.

### ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКСИЕЛЛЕЗА В АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

С.Ф. Карпенко<sup>1</sup>, Х.М. Галимзянов<sup>1</sup>, С.Ж. Неталиева<sup>2</sup>,  
О.Н. Горева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия МЗ РФ

<sup>2</sup>ГБУЗ Астраханской области Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги, г. Астрахань

Заболеемость коксиейеллезом в Астраханской области наиболее высокая в России.

Целью настоящей работы было изучение особенностей эпидемиологии и лабораторной диагностики коксиейеллеза в Астраханской области.

Под наблюдением находилось 164 больных коксиейеллезом в возрасте от 17 до 74 лет. Диагноз был поставлен на основании клинических данных, эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных методов исследования. ДНК *Coxiella burnetii* в крови больных определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением набора реагентов «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL» (ФБУН ЦНИИЭ).

Как показали наши исследования, коксиейеллез выявлялся постоянно в течение года с равномерным подъемом в апреле–июле (60%). 75 пациентов (45,7%) проживали в сельской местности, а 89 человек (54,3%) — в городе. При этом у 23,5% городских жителей имелись дачи. Чаше заражение больных могло произойти алиментарным путем. 60 пациентов (36,6%) употребляли в пищу молочные продукты домашнего приготовления, 5 человек (3%) — пастеризованное молоко, 33 больных (20,1%) — недостаточно термически обработанное мясо (шашлык). При этом 35 пациентов (21,3%) содержали домашних животных: крупный и мелкий рогатый скот, кроликов, хомячков, птицу, собак и кошек. 27 человек (16,4%) отмечали укус или снятие клеща. 14 пациентов (8,5%) часто выезжали на рыбалку.

ДНК *Coxiella burnetii* выявлялась в крови больных в период с 3 по 23 день болезни. У 149 больных (90,9%) положительный результат в ПЦР отмечался до 10 дня заболевания. У 15 пациентов (9,1%) ДНК *Coxiella burnetii* была обнаружена в течении 11–23 дня болезни.

Таким образом, для эпидемиологических особенностей коксиейеллеза в Астраханской области характерно почти равномерное распределение больных среди сельского и городского населения, пик заболеваемости в весенне-летний период, полиморфизм путей передачи с наиболее часто выявляемым алиментарным путем. Применение ПЦР для ранней диагностики коксиейеллеза позволяет своевременно поставить правильный диагноз и проводить адекватную терапию.

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БРЮШНОГО ТИФА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, М.А. Макарова,  
Ю.В. Останкова, А.В. Семенов

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Исследования, проведенные в референс-центре по мониторингу за возбудителем брюшного тифа, показали, что популяция штаммов *S. Typhi*, выделенных в 2005–2012 гг. в Санкт-Петербурге, характери-

зовалась различными фенотипами резистентности к антимикробным препаратам (АМП) и генетической неоднородностью. Чувствительными ко всем препаратам были 10,4% (18 из 173 штаммов), множественной резистентностью (ампициллин, ко-тримоксазол, левомицетин и налидиксовая кислота) обладали 2,3% (4 штамма). Большинство штаммов (86,7%, 150 штаммов) характеризовались глобально распространенным во многих странах фенотипом: устойчивостью к налидиксовой кислоте и сниженной чувствительностью к фторхинолонам (МПК налидиксовой кислоты > 256 мг/л, МПК ципрофлоксацина 0,19–0,5 мг/л). Кроме того, у одного штамма (0,6%) МПК ципрофлоксацина (32 мг/л) свидетельствовала о выраженной резистентности. Молекулярно-генетические исследования показали, что устойчивость к налидиксовой кислоте была обусловлена аминокислотными заменами в кодонах 83 и 87 QRDR-региона гена *gyrA*, кодирующего субъединицу А фермента ДНК-гиразы: Asp87Asn и Ser83Tyr, а к ципрофлоксацину — двойной мутацией Ser83Phe и Asp87Asn. Генотипирование (методы MLVA и PFGE) позволило выявить 11 кластеров, объединяющих близкородственные MLVA и PFGE профили. 78,6% штаммов, характеризующихся ведущим фенотипом резистентности, относились к одному кластеру. Другие фенотипы резистентности (чувствительности) принадлежали к индивидуальным генотипам.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в настоящее время комбинация фенотипической и молекулярно-генетической характеристики при исследовании гетерогенной популяции возбудителя брюшного тифа обладает высокой информативностью и эпидемиологической конкордантностью, может представлять оптимальную схему субтипирования штаммов в целях эпидемиологического надзора, выявлять клональный характер возбудителя, вызвавшего спорадические или групповые случаи заболевания. Выявленные хромосомные точечные мутации могут служить эпидемиологической меткой для выяснения происхождения и подтверждения завоза штаммов *S. Typhi*.

### РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПОЗИЦИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Л.А. Кафтырева, А.В. Забровская

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Несмотря на значительные улучшения в системах безопасности пищевых продуктов, во многих странах продолжают регистрироваться заболевания, обусловленные контаминированными продуктами. Устойчивость к АМП микроорганизмов тесно связана с проблемой безопасности пищевых продуктов, так как широкое применение АМП в животноводстве и птицеводстве позволяет устойчивым бактериям колонизировать организм человека при попадании в пищевыми продуктами. Глобализация торговли пищевыми продуктами приводит к быстрому распространению устойчивых к АМП бактерий. Примерами служат вспышки, вызванные штаммами сальмонелл, кампилобактерий, эшерихий и энтерококков, резистентных к АМП, через продукты питания животного и растительного происхождения. Нередко пищевые

продукты контаминированы возбудителями, резистентными к препаратам выбора для лечения тяжелых инфекций человека. Так применение энрофлоксацина у животных привело к появлению соответствующей устойчивости у сальмонелл и кампилобактеров, которые часто вызывают ОКИ у людей. Резистентные к макролидам кампилобактеры чаще вызвали инвазивные формы инфекции и летальные исходы. Применение авопарцина в качестве стимулятора роста у животных в Европе привело к появлению и распространению устойчивых к ванкомицину энтерококков как нормальной микрофлоры этих животных, так и на мясных продуктах. Одновременно было отмечено появление у людей устойчивых к ванкомицину энтерококков в составе нормальной микрофлоры, хотя ванкомицин в стационарах применялся в ограниченных случаях. Это произошло в результате формирования перекрестной резистентности к авопарцину и ванкомицину и переноса устойчивых к ванкомицину энтерококков от животных к людям через пищевые продукты, полученные из животных, которые получали авопарцин. В противоположность медицине, где индивидуальное применение АМП является правилом, молодняк сельскохозяйственных животных, например, поросята и бройлерные цыплята, нередко получают антибиотики все вместе. Соответственно, у таких животных контакты с АМП происходят гораздо чаще, чем у людей. Практически во всех странах пищевые продукты животного происхождения нередко контаминированы бактериями, в результате чего формируется основной путь передачи устойчивых бактерий и генов резистентности от сельскохозяйственных животных к людям.

### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРЮШНОГО ТИФА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, Е.В. Войтенкова,  
М.А. Макарова, З.Н. Матвеева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

В последние годы в РФ сложилась стабильная эпидемическая ситуация на фоне продолжающейся тенденции к снижению заболеваемости брюшным тифом. Заболеваемость носила спорадический характер и регистрировалась, как правило, среди приезжих из различных стран, лиц из социально неблагополучных групп населения, а также среди жителей России, выезжавших в страны, неблагополучные по брюшному тифу. За последние 10 лет в 64 субъектах РФ было зарегистрировано более 1 тыс. случаев брюшного тифа. Завоз инфекции отмечен из Азербайджана, Таджикистана, Абхазии, Кыргызстана, Узбекистана, Индии, Бангладеш, Камбоджи, Египта, ОАЭ, Пакистана и Непала.

Клиническая картина брюшного тифа характеризовалась типичными классическими проявлениями болезни. Поздняя госпитализация больных служила потенциальной угрозой развития тяжелых осложнений, требующих хирургического вмешательства, и ухудшения прогноза брюшного тифа. Недооценка эпидемиологических и клинических данных затрудняла догоспитальную клиническую диагностику у пациентов с лихорадкой неясного генеза, приехавших из стран с теплым и жарким кли-

матом, а также у лиц без определенного места жительства. В 30% случаев первичным диагнозом был брюшной тиф, в остальных случаях были поставлены другие диагнозы. Частым диагнозом в направлении был острый энтероколит — 51%, альтернативные формулировки — «грипп?», «дизентерия?», «малярия?», «пневмония?», «септический эндокардит?».

Популяция российских штаммов *S. Typhi* характеризовалась различными фенотипами резистентности к антимикробным препаратам и генетической неоднородностью. В популяции преобладали штаммы с хромосомной резистентностью к хинолонам (82,2%), у 3% штаммов отмечалась сочетанная (хромосомная и плазмидная) резистентность к хинолонам, ампициллину, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу. Большинство штаммов (89,5%), характеризующихся глобально распространенным во многих странах фенотипом резистентности (сниженной чувствительностью к фторхинолонам), относились к одному генетическому кластеру. Такие штаммы ежегодно выделяли от заболевших брюшным тифом на различных территориях РФ. Результаты исследования легли в основу создания российской базы данных биологических свойств штаммов возбудителя брюшного тифа, зарегистрированного в Российской Федерации.

#### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

М.Н. Киреев, О.А. Волох, А.К. Никифоров

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

В современной вакцинологии необходимы новые материалы, биосовместимые и биодegradируемые, с минимальной токсичностью для создания новых эффективных и безопасных МИБП. Одним из перспективных компонентов профилактических препаратов может стать биополимер животного происхождения — хитозан. Данный реагент обладает рядом уникальных качеств, которые ставят его на первое место среди других полимеров природного и искусственного происхождения. Он обладает антибактериальным действием, нетоксичен, биосовместим с тканями человека, имеет высокую сорбционную емкость, в организме человека распадается до простых соединений и выводится естественным путем. При модификации хитозана можно приготовить различные по агрегатному состоянию формы (раствор, гелеобразные варианты, мембраны, капсулы различного размера, нетканый материал). Совокупность этих свойства делает хитозан перспективным материалом для биотехнологов, веществом из которого можно получать разные варианты биосовместимых компонентов МИБП с заданными свойствами.

Мы изучили иммуномоделирующее свойство хитозана на примере антигенов возбудителей двух опасных инфекций. Опыты ставили на беспородных белых мышах. В качестве антигенов использовали капсульный антиген чумного микроба и протективный антигенный комплекс возбудителя туляремии. Было показано, что при одинаковой антигенной нагрузке титры специфических анти-

тел у животных, иммунизированных антигеном с хитозаном, были в 8–10 выше, чем у контрольной группы, иммунизированной чистым антигеном. При применении протективного антигенного комплекса туляремиального микроба, получили аналогичные результаты.

Важным, на наш взгляд, является то, что применение хитозана в качестве адъюванта, позволяет на ранних сроках иммуногенеза получить высокие титры специфических антител, и сохраняется такая активность продолжительное время. Данный материал по своим свойствам и характеристикам может дать биотехнологам возможность создавать новые препараты с уникальными свойствами.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования природных биополимеров при разработке новых и усовершенствовании имеющихся профилактических препаратов.

#### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* К АМФОТЕРИЦИНУ В И ТАУРОЗИДУ Sx1

М.А. Кирсанова, Ю.Л. Криворученко

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь, Украина

Была изучена чувствительность различных грибов рода *Candida*, изолированных от здоровых и больных людей, к тритерпеновому сапонину таурозиду Sx1 и к антимикотику амфотерицину В. Грибы изолировали от стоматологических больных, больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ВИЧ-инфицированных детей, детей с неинфекционной патологией. Тритерпеновый сапонин таурозид Sx1 (3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил (1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина), выделенный из крымского плюща *Hedera taurica* Carr., был получен в Таврическом национальном университете и предоставлен для исследования профессором В.И. Гришковцом.

Идентификацию микроорганизмов проводили с использованием тест-системы «Auxocolor» (Bio-Rad, Франция). Исследования чувствительности проводились на среде RPMI методом серийных разведений.

Было получено 72 изолята вида *C. albicans*, 7 изолятов *C. parapsilosis*, 6 — *C. dubliniensis*, 5 — *C. krusei*, 5 — *C. tropicalis*, 4 — *C. lusitanae*, 2 — *C. famata*, 1 — *C. glabrata*, 1 изолят *C. guilliermondii* и 1 изолят *C. kefyr*. Средние значения МПК таурозида Sx1 для изученных видов находились в пределах 175–275 мкг/мл. Разница по чувствительности к таурозиду отдельных видов грибов не была достоверной. Принято считать, что антифунгальной активностью обладает вещество, имеющее МПК < 1000 мкг/мл, так что среди изученных нами грибов абсолютно устойчивых к сапонину изолятов выявлено не было. Средние значения МПК амфотерицина В находились в пределах 0,39–1,17 мкг/мл. При этом изоляты вида *C. dubliniensis* были статистически достоверно более чувствительны, чем изоляты вида *C. albicans* ( $p = 0,038$ ). Таким образом, все исследованные грибы рода *Candida* были чувствительны к таурозиду Sx1 и не проявляли существенных видовых различий в отношении этого свойства, что позволяет рассматривать этот сапонин как потенциальное антифунгальное средство.

## ВЛИЯНИЕ $\delta$ -ЭНДОТОКСИНОВ *BACILLUS THURINGIENSIS* НА ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ И ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В МИКРОБИОТЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЖИВОТНЫХ

Е.Г. Климентова<sup>1</sup>, Т.Г. Юдина<sup>2</sup>, Д.А. Васильев<sup>3</sup>,  
Н.А. Феоктистова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет

<sup>2</sup>Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина

Белки параспоральных кристаллов различных подвидов энтомопатогенной бактерии *B. thuringiensis* ( $\delta$ -эндотоксины) являются основными компонентами биопестицидов. Кроме того, гены ряда этих белков (*сгу*-гены) введены во многие растения для защиты их от вредных насекомых. Такие генно-модифицированные, или *Bt*-растения, синтезируют большие количества  $\delta$ -эндотоксинов, способных к антибиотическому действию в отношении ряда микроорганизмов, в том числе и прокариот — симбионтов желудочно-кишечного тракта многих беспозвоночных животных, а также позвоночных и человека. Таким образом, изучение влияния  $\delta$ -эндотоксинов на микробиоту желудочно-кишечного тракта позвоночных приобретает все большую важность, особенно в связи с распространением *Bt*-растений.

Проведенные *in vivo* исследования на лабораторных животных позволили установить, что в составе микробиоценоза кишечника крыс и мышей при длительном действии высоких доз  $\delta$ -эндотоксинов *B. thuringiensis* (75–100 мг/кг веса животного, такие дозы могут быть получены из пищи, содержащей *Bt*-растения), количество условно-патогенных *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, гемолитических и лактозонегативных штаммов *E. coli* и *S. aureus* увеличивается. Причем, эти штаммы встречаются достоверно чаще, чем в составе микробиоты кишечника интактных животных или тех особей, которые получали меньшую дозу  $\delta$ -эндотоксинов. *In vitro* установлено изменение биохимических свойств вышеуказанных бактерий под влиянием  $\delta$ -эндотоксинов. Кроме того, наблюдали увеличение числа штаммов культур *E. coli* и *S. aureus* с высокой и средней антилизоцимной и антиинтерфероновой активностью и усиление их антибиотикорезистентности. Так, уменьшалась чувствительность к  $\beta$ -лактамам и фторхинолонам среди *Enterococcus spp.*, к  $\beta$ -лактамам и ванкомицину — среди штаммов *Staphylococcus spp.* Выявлена также способность гемолитических и лактозонегативных штаммов *E. coli* и *Enterococcus spp.* к усилению адгезии в условиях развивающегося дисбактериоза, что создает условия для последующей их инвазии в ткани хозяина и обычно приводит к развитию инфекций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-97016-р\_поволжье\_а.

## КЛАСТЕРОННАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ВКЭ КАК ОСНОВА ИЗУЧЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

С.Ю. Ковалев, Т.А. Мухачева

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Клещевой вирусный энцефалит (КЭ) — природно-очаговый трансмиссивный зооноз, возбудителем ко-

торого является вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), род *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*. Современная классификация ВКЭ, основанная на данных молекулярно-генетических исследований, выделяет три филогенетически обособленных субтипа: дальневосточный, европейский и сибирский (ВКЭ-Сиб). Классификация в пределах субтипа ВКЭ не разработана, что создает серьезные трудности в изучении вопросов происхождения, распространения и эволюции вируса.

Недавно была предложена система дифференциации ВКЭ на основе кластерного подхода (Kovalev, Mukhacheva, 2013). Кластером была названа минимальная единица классификации ВКЭ, представляющая собой совокупность штаммов с идентичной аминокислотной последовательностью определенного фрагмента поверхностного белка Е вируса. Как правило, штаммы одного кластера на филогенетически связаны между собой и имеют выраженную территориальную приуроченность с распределением по локальному или коридорному типу. На основе анализа нуклеотидных последовательностей ВКЭ-Сиб, полученных в нашем исследовании и содержащихся в GenBank (в общей сложности более 900), было выделено 18 кластеронов (от 3 до 285 штаммов в кластере). Каждому кластерону было присвоено латинское буквенное обозначение. «Уникальные» штаммы ВКЭ-Сиб (около 18%), встретившиеся не более двух раз, в предложенную классификацию включены не были. Таким образом, любую популяцию ВКЭ-Сиб можно охарактеризовать количественным и качественным составом кластеронов, циркулирующих в природном очаге КЭ, а также более точно рассчитать их возраст, исходя из скорости синонимических нуклеотидных замен. Предложенная классификация ВКЭ в пределах субтипа может быть успешно применена для учета и мониторинга природных очагов КЭ, для изучения механизмов их происхождения и поддержания, а также решения вопросов распространения и эволюции ВКЭ.

Так, применение кластерного подхода позволило уточнить время появления первых штаммов ВКЭ на Среднем Урале (начало колонизации Сибири Московским государством в конце XVI — начале XVII веков) и подтвердило предложенную ранее гипотезу о решающей роли антропогенного фактора в формировании природных очагов КЭ на Среднем Урале (Kovalev et al., 2009).

## АДАПТАЦИЯ МИКРОФЛОРЫ К НОВЫМ УСЛОВИЯМ ОБИТАНИЯ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФАКТОРОВ УРБАНИЗАЦИИ

С.В. Козуля, Г.И. Неуймина, Г.Н. Носенко, Е.В. Сарчук, И.Б. Бутырская, С.В. Иванов, С.В. Папп, В.В. Лудан, Г.Н. Базилева

ГУ Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь, Украина

Факторы урбанизации воздействуют не только на человека, но и на микрофлору, которая вынуждена адаптироваться к новым условиям. Сплит-системы распространены повсеместно и являются удобным объектом для колонизации микроорганизмами.

Целью работы было изучение микрофлоры сплит-систем, установленных в зданиях Крыма (магазины, банки, парикмахерские, аптеки). Пробы

биоленки из системы сбора и удаления конденсата отбирались стерильным тампоном. После доставки в лабораторию проводилось суспензирование тампона в мясо-пептонном бульоне, пересев на плотные питательные среды, выделение чистых культур и идентификация.

Семейство *Enterobacteriaceae* (41,7% проб) было представлено *Esherichia coli*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Proteus inconstans*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*. Из представителей семейства *Pseudomonadaceae* (36,1% проб) были обнаружены *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia* (*Burkholderia cepacia*), *Pseudomonas stutzeri*. Рост *Staphylococcus aureus* отмечался в 13,9% случаях.

То, что из проб биоленки наиболее часто выделялись представители семейства *Enterobacteriaceae*, согласуется с данными литературы, что именно их экзополимеры (в частности, колановая кислота *Esherichia coli*) доминируют в образовании комплексной трехмерной структуры биоленки.

В связи с тем, что воздух во внутреннем блоке сплит-системы проходит над поддоном для сбора конденсата и только потом попадает в помещение, существует возможность распространения микрофлоры в воздухе помещения. Это вызывает беспокойство в связи со способностью представителей вышеперечисленной микрофлоры вызывать заболевания, особенно у лиц с ослабленным иммунитетом. Кроме того, наличие колиформных бактерий в воздухе продовольственных магазинов является фактором риска контаминации пищевых продуктов и, при несоблюдении условий их хранения, может привести к пищевым токсикоинфекциям. Следовательно, обработка дезинфектантами сплит-систем, с целью уничтожения заселяющей их условно-патогенной и патогенной микрофлоры, является необходимой.

### РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1 В РЕГИОНАХ СИБИРСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА В 2012 г.

А.Н. Коломеец, Ю.Л. Рубина, Н.В. Рудаков  
ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций  
Роспотребнадзора

На 01.01.2013 г. в Сибирском федеральном округе выявлено 131 808 ВИЧ-инфицированных. Показатель пораженности составил 679,8 на 100 тыс. населения. В ВААРТ нуждались 17 668 пациентов, из них получили лечение 17 135 (97%), из них предали его по различным причинам 2267 пациентов (13,2%).

Из 1291 ребенка с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекция подлежали лечению 873 (67,6%), получали терапию 870 детей (99,7%).

В 2012 г. в СФО зарегистрировано 3780 беременных ВИЧ-инфицированных, из них роды произошли в 2937 случаях (77,7%), а получали лечение 399 (13,6%). Охват полной трехэтапной химиопрофилактикой ВИЧ от матери ребенку составил 81,5%. Количество новорожденных, получавших химиопрофилактику, составило 2936 (99,3%).

Материалом для исследования в 2012 г. послужили 146 образцов плазмы крови пациентов, получающих ВААРТ, из различных регионов СФО.

Высокая резистентность в 52% исследованных образцов выявлена к ламивудину и эмтрицитабину соответственно. Наибольшая доля «высокой» резистентности в группе ННИОТ принадлежала невирапину (31,5%), ифавиренцу (23,3%) и делавирдину (24%). В группе ИП «высокая» резистентность обнаружена к нелфинавиру (2%), а также к фосампренавиру, индинавиру, саквинавиру — по 0,7% к каждому. К атазанавиру высокая резистентность выявлена в 1,4% случаев. Возможная резистентность низкого уровня в достаточно большой доле образцов выявлена к нелфинавиру (21,2%). В большинстве образцов резистентность к ингибиторам протеазы отсутствует.

При генотипировании в большинстве случаев был выявлен подсубтип А1 (73,3–77,4%); реже выявлялись циркулирующие рекомбинантные формы: CRF02\_AG — 18,5–19,9%; CRF03\_AB — 0,7%, а также субтип В — 3,4%.

Среди выявленных мутаций резистентности ВИЧ к НИОТ нужно отметить M184V (52% образцов), ведущую к развитию высокой резистентности к ламивудину и эмтрицитабину. Также часто (56,8%) наблюдалась мутация A62V, эффект которой проявляется при наличии комплекса Q151M. Среди мутаций в группе ННИОТ отмечена K103N (12,3%), являющаяся причиной развития высокой резистентности к невирапину и эфавиренцу; а также G190S (8,9%), обладающая сходным эффектом, и в комбинации с мутацией Y181C (4,8% случаев) снижающая чувствительность к этравирину. Что касается ингибиторов протеазы, первичные мутации встречались пока довольно редко.

### РАСШИФРОВКА ЗАВОЗНЫХ СЛУЧАЕВ РЯДА ТРОПИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ, ЦУЦГАМУШИ, ВИСЦЕРАЛЬНЫЙ ЛЕЙШМАНИОЗ, ЛЕПТОСПИРОЗ) У ТУРИСТОВ

Н.М. Колясникова<sup>1,2</sup>, Л.С. Карань<sup>1</sup>, М.В. Федорова<sup>1</sup>,  
М.А. Сайфуллин<sup>3</sup>, Н.Н. Беляева<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва;

<sup>3</sup>ГКУЗ Инфекционная клиническая больница № 1, Москва

<sup>4</sup>Городская клиническая больница им. С.П. Боткина, кафедра инфекционных болезней РМАПО, Москва

Тропические инфекции регулярно завозятся на территорию России возвращающимися из поездок туристами или мигрантами. Диагностика и лечение таких заболеваний часто проводятся несвоевременно из-за отсутствия ряда лабораторных методик. Немецкими исследователями (Daumas et al.) предложен алгоритм диагностики тропических заболеваний в зависимости от территории пребывания, эндемичной по спектру инфекций, и от ведущих клинических симптомов. Данный алгоритм включает спектр бактериальных (риккетсиозы, лептоспироз, брюшной тиф), вирусных (лихорадка Денге, чикунгунья и др.) и паразитарных (малярия, висцеральный лейшманиоз) инфекций.

Целью данной работы явилась расшифровка завозных случаев ряда тропических инфекционных заболеваний у пациентов, вернувшихся в Российскую Федерацию из стран тропической и субтропической зон, с помощью разработанных наборов реагентов

на основе ПЦР в режиме реального времени (производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва).

В период 2010–2013 гг. была исследована кровь от 20 пациентов, забранная в первые 12 дней от начала заболевания, госпитализированных в ИКБ Москвы, г. Оренбурга и Московской области, куда они поступили в состоянии разной степени тяжести и с различной клиническими симптомами (лихорадка, интоксикация, миалгии, артралгии, сыпь, лимфоаденопатия, лейкопения, тромбоцитопения, повышение уровня трансаминаз печени, спленомегалия). Большинство пациентов в анамнезе заболевания указывали на укусы каких-либо насекомых (комаров, москитов, клещей). С помощью разработанного нами набора реагентов «АмплиСенс® Dengue virus type-FL» на 4 типа удалось диагностировать 15 случаев завоза лихорадки Денге (1, 2 и 3-го типов) из Таиланда, Бали, Доминиканской Республики, применение набора реагентов для диагностики *O. tsutsugamushi* позволило расшифровать два случая завоза лихорадки цугугамуши из Таиланда и Вьетнама. У одного пациента после посещения Мексики и Испании, при исследовании крови и пунктата костного мозга набором реагентов «АмплиСенс® Лейшманиозы-FL», был диагностирован случай висцерального лейшманиоза. С помощью набора реагентов «АмплиСенс® Leptospira-FL» нами диагностировано 2 случая лептоспироза из Таиланда.

Таким образом, учитывая предложенный алгоритм диагностики завозных случаев тропических заболеваний, применение высокочувствительных экспресс-методик позволяет своевременно поставить диагноз и назначить рациональное лечение.

### ЭВОЛЮЦИЯ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В РАЗНЫХ ЧАСТЯХ АРЕАЛА ЭТОЙ ИНФЕКЦИИ

Н.М. Колясникова<sup>1,2</sup>, В.В. Погодина<sup>1</sup>, Л.С. Карань<sup>2</sup>, Л.С. Левина<sup>1</sup>, Г.В. Маленко<sup>1</sup>, С.Г. Герасимов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва

<sup>2</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Изучение коллекции штаммов М.П. Чумакова позволило провести исследование популяций вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в хронологическом и территориальном аспектах и стало продолжением развития нового направления — молекулярной эпидемиологии КЭ. Генотипирование штаммов и изолятов РНК ВКЭ проводили с использованием современных методов лабораторной диагностики: полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в режиме реального времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с генотипспецифическими зондами, рестрикционного анализа и секвенирования.

Проведенные нами исследования показали, что в условиях меняющейся экологической и эпидемиологической ситуации происходит эволюция вирусных популяций КЭ, темп и характер которой неодинаковы в разных частях ареала этой инфекции. Мониторинг генетической структуры популяций ВКЭ за 60-летний период выявил смену подтипов на Среднем Урале — вытеснение дальневосточного подтипа и замещение его сибирским.

В 1939–1945 гг. дальневосточный подтип составлял 95,5% среди изученных штаммов, в 1959–1960 гг. — 60%, в 2003 г. было изолировано 3 штамма дальневосточного подтипа. В последующие годы все изоляты из клещей *I. persulcatus* относились к сибирскому подтипу ВКЭ. Сходное изменение вирусной популяции прослежено за 30–50-летний период в Кемеровской, Курганской, Ярославской областях. На исследованных территориях в настоящее время сибирский подтип ВКЭ составляет 98–100% популяции.

В ранние годы в Свердловской, Курганской, Ярославской областях очаговые формы КЭ были вызваны заражением дальневосточным подтипом ВКЭ. На современном этапе (2001–2012 гг.) все исследованные нами летальные случаи КЭ (n = 30) этиологически связаны с сибирским подтипом, доминирующим в природных вирусных популяциях в этих областях.

Изучение свойств современных штаммов вируса КЭ, изолированных в Уральском и Северо-Западном регионах России из клещей *I. persulcatus*, показало, что эти штаммы характеризуются высокой вирулентностью и нейроинвазивностью (индекс инвазивности 0,9–2,4) в экспериментах на белых мышках. В опытах на сирийских хомяках штаммы сибирского подтипа вызывают замедленное развитие патологического процесса (гибель 30–62,5% животных при средней продолжительности жизни 15,6–27 дней). Штаммы дальневосточного подтипа индуцируют быстрое развитие заболевания и гибель 100% зараженных животных при средней продолжительности жизни 5,8–6,3 дня.

### ВЕРИФИКАЦИЯ ВСПЫШКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА НА ТЕРРИТОРИИ УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ В 2008 г.

Е.О. Контарова, Н.В. Юминова, В.В. Данилова, Т.К. Борисова, А.А. Никонова, Н.А. Контаров, С.К. Александер, И.В. Погарская, Л.Г. Ковалева, В.В. Зверев

ФГБУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва

Данные исследования выполнены в период вспышки эпидемического паротита (ЭП) среди населения г. Можга Республики Удмуртия. В период с февраля по март 2008 г. было выявлено 176 человек с подозрением на ЭП. Пациенты поступали в стационар на 1–5 день от предположительного начала заболевания, диагноз ЭП был установлен на основании клинико-эпидемиологических данных. Пациенты были в возрасте от 21 до 52 лет, средний возраст — 35 лет. Через 2 недели после первого забора крови была взята кровь для лабораторного анализа. Методом ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени генетический материал вируса ЭП в сыворотках крови не был обнаружен. Наличие вирусной РНК было подтверждено в назофарингеальных смывах и слюне у 8 человек. Анализ парных сывороток крови на содержание вирусспецифических антител показал, что на момент первого обследования у 37% людей были только Ig класса М, а у 45% только — Ig класса G, у 14% — определялись противопаротитные антитела обоих классов. Серологическое обследование больных в динамике заболевания выявило увели-

чение титров антител в 2 раза у 9 человек и появление IgG — у 8 человек. Таким образом, анализ парных сывороток выявил увеличение количества пациентов, в крови которых отмечалось появление IgM с 37 до 39%, и больных, имеющих прирост антител класса G — с 45 до 55%.

Таким образом, диагностическая значимость определения вирусспецифических антител для подтверждения диагноза ЭП увеличивается в динамике заболевания (от 7% верификации до 100% — к 10-му дню от начала заболевания). Результаты проведенного исследования показали, что наибольшую диагностическую значимость в подтверждении диагноза паротитной инфекции в первые дни заболевания имеет метод ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Начиная с 5-го дня от начала заболевания возрастает диагностическая ценность исследования сывороток крови на содержание IgM. При диагностике паротитной инфекции информативность молекулярно-генетических и серологических методов зависит от сроков заболевания.

### ИММОБИЛИЗАЦИЯ АНТИТЕЛ НА ПОВЕРХНОСТЯХ КАРБОКСИЛИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ И ОКРАШЕННЫХ МИКРОСФЕР

И.А. Корнаков<sup>1</sup>, С.М. Сатаева<sup>1,2</sup>, В.Н. Вербов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)

В повседневную практику клинико-диагностических лабораторий все шире внедряются методы экспресс-диагностики. Большинство из них основано на использовании цветных микросфер (иммунохроматографические, агглютинационные тесты и др.). Цель данной работы заключалась в выборе метода иммобилизации антител к магнитным и окрашенным полимерным микросферам. Иммобилизация библигандов на поверхности микросфер может быть осуществлена двумя основными путями: физической адсорбцией или ковалентным присоединением. Комплексы «микросфера-библиганд», полученные при физической адсорбции, нестабильны. Лиганд может неконтролируемо десорбироваться с поверхности микросфер под действием различных факторов (рН, ионной силы, детергентов и др.). Ковалентное присоединение обеспечивает прочную и контролируемую иммобилизацию, однако процесс присоединения требует оптимизации для каждого индивидуального лиганда. В тех случаях, когда лигандами являются антитела, оптимальным способом их иммобилизации следует считать следующий: ковалентное присоединение к микросферам белка А, затем иммунохимическое присоединение антител за счет взаимодействия их Fc-фрагментов с иммобилизованным белком А. В результате проведенных исследований были оптимизированы этапы ковалентного присоединения белка к магнитным микросферам (диаметр 750 нм, Magsphera, Inc, USA) и двум типам окрашенных микросфер (диаметр 500 нм, Magsphera, Inc, USA, диаметр 400 нм, НИИВС, Санкт-Петербург). Эти базовые реагенты были использованы для получения различных видов иммунных микросфер: 1) магнитные микросферы—белок А—антитела кроличьи; 2) окра-

шенные микросферы—белок А—антитела моноклональные. Полученные иммунные микросферы будут использованы при разработке тест-системы для одновременного обнаружения двух антигенов.

### РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ В

И.В. Королева, Г.Ф. Леонтьева, Т.В. Гупалова, К.Б. Грабовская, А.С. Ланскова, Н.В. Дуплик, Т.А. Крамская, Е.В. Юрлова, А.Н. Суворов  
ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Стрептококк группы В (СГВ) относят к условно-патогенным бактериям, колонизирующим нижние отделы кишечника и урогенитальный тракт человека. Наибольшую опасность СГВ представляет для беременных женщин, вызывая ряд осложнений в ходе второй половины беременности, и новорожденных, являясь причиной неонатальных пневмоний, менингита и сепсиса. СГВ является угрозой для взрослых на фоне иммунодефицитных состояний, а также пожилых людей. Целью данного исследования стало создание поликомпонентной вакцины на основе пяти белков клеточной стенки СГВ, известных по своему вкладу в патогенез стрептококковых заболеваний. В группе выбора оказались как хорошо изученные белки *Vac*, *ScaAB*, *ScpB*, так и относительно недавно охарактеризованные — *CspA* и *SspB1*. Данные полногеномного секвенирования нескольких штаммов СГВ позволили А.Н. Суворову с коллегами обнаружить ген, кодирующий белок *SspB1*, методом вычитающей гибридизации. В общей сложности были созданы генетические конструкции, кодирующие 13 рекомбинантных полипептидов (от 10 до 130 kDa), соответствующих различным участкам поверхностных белков СГВ. Основными критериями отбора полипептидов для пятикомпонентной вакцины стали иммуногенность и протективные свойства специфических IgG. В экспериментах по иммунизации лабораторных животных (мышей и кроликов) было показано, что совместное использование полипептидов не подавляло иммунного ответа и усиливало протективность. Протективные свойства специфических антител к полипептидному комплексу в экспериментах по активной и пассивной защите мышей от СГВ были более выражены по сравнению с использованием отдельных полипептидов. В опытах по защите от стрептококковой инфекции новорожденных мышей, полученных от иммунных самок, также наиболее эффективным оказался пятикомпонентный полипептидный комплекс. Полученные данные стали основой для дальнейших разработок по созданию продуцентов гибридных полипептидов. В рамках этого исследования к настоящему времени созданы продуценты двух таких полипептидов: на основе белка *ScpB*, а также белков *Vac* и *SspB1*. С использованием специфических сывороток и моноклональных антител нами было продемонстрировано, что оба гибрида содержали функционально активные эпитопы. Перспективы полученных рекомбинантных конструкций и возможные протективные эффекты обсуждаются.

Данное исследование поддержано грантом РФФИ 10-4-0075а и государственным контрактом ГК № 14. N08.12.0003.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СУБКУЛЬТУР *BACILLUS ANTHRACIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ РАЗНЫМИ МЕТОДАМИ

Е.В. Кравец, З.Ф. Дугаржапова, Т.А. Иванова,  
В.Е. Такайшвили, С.В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

В ноябре 2012 г. из ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» в Испытательный лабораторный центр института поступила проба мяса от вынужденно забитого теленка с подозрением на заболевание сибирской язвы. Исследование было начато методом ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-системы «Ампли-Сенс *Bacillus anthracis*-FRT» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Экстракция ДНК из нативного материала, после предварительной герминации, инкубации с бензилпенициллина натриевой солью, лизиса гуанидинизотиоцианатом, осуществлялась сорбентным методом при помощи набора «ДНК-сорб-В» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Постановка реакции амплификации и детекция результатов проводились на приборе «Rotor-Gene 6000» (Corbett Research, Австралия).

При исследовании нативного материала обнаружен амплифицированный фрагмент гена плазмиды капсулообразования *B. anthracis*. Для выделения чистой культуры из мяса и ее дальнейшей идентификации сделаны посевы на пластины казеиново-дрожжевого агара методом отпечатков, в бульон Хоттингера и поставлена биопроба (беспородные белые мыши).

Культуры *B. anthracis* выделены как бактериологически, так и через биопробу. Экстракция ДНК из 12-ти часовых чистых культур осуществлялась сорбентным и термолизисным (20 минут, 98°C) методами. При исследовании культуры, выделенной бактериологическим методом, отмечено отсутствие у нее генов плазмидной («Ампли-Сенс *Bacillus anthracis*-FRT») и хромосомной («MULTI-FLU», ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора) локализаций, тогда как в культуре, выделенной через биопробное животное, все искомые гены были обнаружены.

Причинами возникших трудностей идентификации бактериологически выделенной первичной культуры с применением молекулярно-генетического метода, можно предположить малую копийность генов-мишеней из-за длительного пребывания сибирезвездного микроба в почве в споровой форме и/или ингибирование полимеразной цепной реакции под влиянием белкового фона и сопутствующей микрофлоры мяса. Решение проблемы, на наш взгляд, состоит в обязательном проведении подобных культур через организм биопробного животного, после чего все основные биологические свойства возбудителя сибирской язвы восстанавливаются, и становится возможным проведение полноценной лабораторной диагностики, в том числе и молекулярно-генетическими методами.

## СОВРЕМЕННАЯ СТРАТЕГИЯ НАДЗОРА ЗА ДИФТЕРИЙНОЙ И КОКЛЮШНОЙ ИНФЕКЦИЯМИ

Л.А. Краева, Н.Н. Курова, Г.Я. Ценева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Спустя 20 лет после эпидемии дифтерии в Санкт-Петербурге и Ленинградской области продолжают

циркулировать штаммы *C. diphtheriae*. По данным Elek-теста большинство из них признаны нетоксигенными, хотя известно, что 10–40% таких штаммов несут «молчащий» ген токсигенности и при определенных условиях могут восстанавливать токсинпродукцию. Регистрация случая дифтерии у привитого в 2012 г. в Санкт-Петербурге и появление биовара *gravis* служат плохим прогностическим признаком. Если учесть, что высокие показатели привитости населения от дифтерии распространяются всего на 60% населения, подлежащего охвату прививками, становится понятной актуальность совершенствования стратегии надзора за указанной инфекцией. С этой целью с одной стороны необходим контроль защищенности от дифтерии с помощью современных методов (ИФА), позволяющих наряду с общим количеством антител определить их avidность, то есть истинную протективную значимость, и рассчитать сроки последующей ревакцинации; с другой стороны — необходимо использование современных методов выявления дифтерийного токсина.

Одной из сторон надзора за коклюшем является серомониторинг. Для определения уровня противокклюшных антител у привитых детей необходимо учитывать состав вакцины: при иммунизации вакцинами с цельноклеточным коклюшным компонентом (АКДС, Бубо-Кок) формируются, в первую очередь, антитела к поверхностным структурам бактериальной клетки, в частности, к агглютиногенам. При иммунизации бесклеточными вакцинами (Инфанрикс, Пентаксим) происходит формирование антител к антигенам, входящим в состав вакцины. Поствакцинальный иммунитет не является пожизненным, в большинстве стран Европы и Северной Америки в национальные календари прививок введена вторая ревакцинация детей против коклюша в возрасте 4–6 лет. Проведенные исследования показали, что в Санкт-Петербурге среди школьников существенно возрастает (по сравнению с детьми дошкольного возраста) доля детей с высоким уровнем противокклюшных антител, что свидетельствует о широкой циркуляции возбудителя и скрытой заболеваемости. В то же время в небольших городах с низкой циркуляцией возбудителя уже среди детей 3–4-летнего возраста высока доля серонегативных, а к школьному возрасту их число значительно возрастает. Таким образом, вопрос о введении ревакцинации дошкольников от коклюша является крайне актуальным для РФ.

## РОЛЬ ЛАБОРАТОРНОГО МОНИТОРИНГА ГРИППА И ОРВИ В ОЦЕНКЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ГРИППУ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Т.И. Крайнова<sup>1</sup>, Т.Е. Демакова<sup>2</sup>, Г.В. Забалуева<sup>2</sup>,  
Е.А. Брянцева<sup>3</sup>, М.А. Бичурин<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу

<sup>2</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии

в городе Санкт-Петербурге

<sup>3</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Еженедельный лабораторный мониторинг гриппа и ОРВИ в Санкт-Петербурге проводится с начала сентября 2009 г. после сообщения о возникновении вспышек гриппа в Мексике, Канаде, США и других

странах, вызванных измененным вариантом вируса гриппа А(Н1N1). Материал от больных гриппом и ОРВИ исследован методом ПЦР на наличие вирусов гриппа А(Н1N1) двух вариантов (сезонного и пандемического), А(Н3N2), А(Н5N1) и В, парагриппа двух серотипов, адено- и РС-вирусов.

В 2009 г., начиная с сентября, было обследовано более 800 пациентов, из которых 11,8% составили лица, прибывшие в наш город после отдыха. В сентябре—начале октября среди больных в единичных случаях был обнаружен пандемический вариант вируса гриппа А(Н1N1). С 42 недели и до конца года этот вариант регулярно определялся в высоком проценте исследованных проб (38%). Максимальное число положительных находок было зафиксировано на 43–48 неделях, что соответствовало эпидемическому подъему гриппа, вызванного вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09. В этот период не определялись другие варианты вируса гриппа, в том числе, и сезонный вариант А(Н1N1). Следующий 2010 год оказался межэпидемическим и лишь в единичных случаях в конце года выявляли вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09. С четвертой недели 2011 г. увеличилась частота обнаружения указанного варианта вируса гриппа с максимальным числом находок на 7 неделе. Это соответствовало пику эпидемического подъема заболеваемости, обусловленному вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09. В 2012 г. с середины февраля и до конца апреля в небольшом проценте случаев обнаруживали вирусы гриппа А(Н3N2) и В. В течение года в 22,8% проб определяли другие респираторные вирусы (парагрипп, адено- и РС-вирусы).

Таким образом, проведение постоянного лабораторного мониторинга гриппа и ОРВИ позволило оценить эпидемическую ситуацию по гриппу. Подтверждено, что после появления пандемического варианта А(Н1N1)pdm09 исчез из циркуляции сезонный вариант вируса гриппа А/Брисбен/59/07. Эпидемические подъемы, обусловленные пандемическим вариантом А(Н1N1)pdm09, возникали с интервалом в один год, очередной подъем отмечен в феврале-марте 2013 г. Вирусы гриппа А(Н3N2) и В вызывали незначительные подъемы заболеваемости гриппом с интервалом в 2–3 года, причем в годы их циркуляции другие респираторные вирусы имели более широкое распространение.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* К АНТИМИКОТИКАМ

А.С. Криштопина, В.В. Рока, В.Н. Вербов

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург

В настоящее время значительно возросло количество заболеваний, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Для увеличения эффективности терапии и предотвращения рецидивов заболевания целесообразно проводить определение чувствительности возбудителя к антимикотикам, что позволит назначить наиболее подходящий препарат. Для этих целей существуют зарубежные тест-системы, такие как Fungitest, Fungifast, Candifast, Sensititre YeastOne и др., однако нет аналогичных отечественных тест-систем.

Целью данной работы было определение чувствительности дрожжеподобных грибов рода *Candida* к основным лекарственным препаратам: амфотерицину В, флуконазолу, итраконазолу, кетоконазолу, миконазолу, клотримазолу и вориконазолу.

Определение минимальных подавляющих концентраций антимикотиков проводили методом последовательных двукратных разведений с использованием микрообъемного визуального метода выявления возбудителей в питательной среде, разработанной в ФБУН НИИЭМ имени Пастера. Было исследовано 100 изолятов *Candida spp.* на чувствительность к амфотерицину В, итраконазолу и флуконазолу (из них 86% отнесено к *C. albicans*, 9% — *C. glabrata*, 4% — *C. tropicalis*, 1% — *C. krusei*) и 30 изолятов *Candida spp.* на чувствительность к остальным антимикотикам (80% — *C. albicans*, 17% — *C. glabrata*, 3% — *C. krusei*).

В результате проведенных исследований было показано, что изоляты *C. albicans* высокочувствительны к вориконазолу (100% исследуемых штаммов), кетоконазолу (96%), флуконазолу (94%), миконазолу (83%), амфотерицину В и итраконазолу (78%) и менее чувствительны к клотримазолу (54%). Чувствительность изолятов *C. tropicalis* к амфотерицину В, итраконазолу и флуконазолу составила 67%. Изоляты *C. glabrata* были чувствительны к амфотерицину В (67%), менее чувствительны к кетоконазолу и вориконазолу (40%), к итраконазолу (25%), к флуконазолу (12,5%) и резистентны к миконазолу и клотримазолу. Для окончательного выбора критериев чувствительности необходимы дальнейшие исследования. Полученные данные будут положены в основу разрабатываемой отечественной тест-системы для определения чувствительности основных патогенных дрожжеподобных грибов к противогрибковым препаратам.

### ЭТИЧЕСКИЕ ВЫЗОВЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ЛИКВИДИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

О.И. Кубарь

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Условиями успешной ликвидации инфекций средствами вакцинопрофилактики служат объективные знания об антропонозной природе заболевания, гарантии отсутствия мутации возбудителя, организационно-административные ресурсы, заключающиеся в наличии надежной вакцины и адекватного надзора, и общественно-политические усилия, предпринимаемые международным сообществом в глобальном масштабе. Исследование различных компонентов стратегии подготовки и осуществления политики ликвидации позволяет выявить значимые этические характеристики, которые подлежат определению, учету и следованию. На этапе выбора инфекции, подлежащей ликвидации, с этической точки зрения, на первый план выступают проблемы честности и неангажированности в научных подходах для анализа реальной опасности инфекции, рассмотрения существующих гипотез, критической их оценки и аргументации прогноза. Выбор вакцины и возможность ее повсеместного использования базируется на этических принципах отсутствия конфликта интересов, альтруизма, справедливого распределения бремени

и благ. Общественно-политическими и экономическими предпосылками программы ликвидации должны служить международная солидарность, социальная ответственность, уважение к культурно-историческому и социально-религиозному разнообразию. Беспрецедентным примером последнего явилась международная акция ликвидации оспы. Помимо вовлеченности всех уполномоченных на то органов, правильного учета и использования научного и экономического ресурса, ликвидация инфекций немислима без поддержки общества, что диктует этические условия открытости, объективности, честности и доступности информации, а также изучение откликов и быстрое реагирование для восстановления справедливого баланса пользы/риска. Примером адекватной информационной политики может служить формирование активной позиции населения путем доведения целей и методов программы ликвидации полиомиелита. Даже достижение успеха в программе ликвидации инфекции на основе прекращения циркуляции дикого вируса и остановки иммунизации не освобождает от этически оправданных размышлений и действий. На данном этапе вновь доминируют морально-нравственные вызовы ответственности перед будущими поколениями, требующие научной солидарности и объективности в вопросах гарантии реального искоренения дикого возбудителя ликвидированной инфекции, недопущения злоупотребления и биотерроризма.

#### **НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА ГЕНОМА ВИРУСОВ ГРИППА А И В**

**В.А. Кузнецова, И.Н. Исакова-Сивак**

*ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург*

В процессе подготовки вакцинного штамма живой гриппозной вакцины важным этапом является скрининг получаемых реассортантов по составу их генома, направленный на отбор клонов с желаемой комбинацией генов б:2. В настоящее время существуют молекулярно-генетические методы определения принадлежности гена одному из родительских вирусов: метод ПЦР-рестрикционного анализа (RFLP) и метод *mix*-ПЦР. В связи с высокой изменчивостью возбудителя гриппа у этих методов появляются ограничения, связанные с необходимостью подбирать новые пары праймеров для вновь возникающих дрейфовых вариантов вируса. Кроме того, с помощью методов RFLP и *mix*-ПЦР невозможно определить принадлежность генов у реассортантов, получаемых при скрещивании двух эволюционно схожих вирусов гриппа. В настоящее время широкое распространение получил метод секвенирования с использованием автоматических секвенаторов. Определение нуклеотидной последовательности небольших участков генов реассортанта и последующее сравнение результатов с сиквенсом родительских вирусов может дать исчерпывающую информацию о составе генома исследуемого вируса. Гены полимеразного комплекса вируса гриппа (PB2, PB1, PA) имеют наибольшую длину — более 2000 нуклеотидов, поэтому их невозможно амплифицировать с помощью универсальных праймеров Хоффмана (Hoffman et al., Arch. Virol., 2001). Для этих генов мы подобрали внутренние универсальные праймеры, при помощи которых будут одинаково эффективно

амплифицироваться участки генов эволюционно удаленных вирусов гриппа А и В. Нуклеотидные последовательности праймеров для вирусов гриппа А: PB2-F1757 (TGGAATTTGARCCATTT); PB1-R1078 (TGCCATTTTTRTTTGAGAACATTAT); PA-R619 (CTTCGCCTCTTTCGGACTGACG). Праймеры для вирусов гриппа В: PB2-R1233 (CCTAGTGTCTTGAGAAAATACCAT); PB1-R831 (ACCACTTTGTCTTAGATTTTCAC); PA-R786 (TAACTGATACTAAGG-GAGACAT), где R — вырожденный нуклеотид (либо А, либо G). В качестве второго праймера для амплификации фрагмента был использован соответствующий универсальный праймер Хоффмана. Таким образом, с помощью нового метода был исследован состав генома получаемых при клонировании реассортантов с использованием разработанных внутренних универсальных праймеров и частичного секвенирования. Универсальная работа праймеров позволяет определять наличие смеси генов от обоих родителей, то есть при наличии в вирусной популяции двух различных реассортантов.

#### **ПЕРЕНОСИМЫЕ КЛЕЩАМИ ФЛАВИВИРУСЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ: ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИЗМЕНЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЭБ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ**

**В.М. Курагина<sup>1</sup>, О.В. Мотузова<sup>1</sup>, А.С. Шевцова<sup>1</sup>, Л.И. Козловская<sup>1</sup>, Н.Н. Золотов<sup>2</sup>, Г.Г. Карганова<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>*ФБГУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва*

<sup>2</sup>*ФГБУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, Москва*

<sup>3</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

В работе были использованы близкородственные переносимые клещами флавивирусы млекопитающих: вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) — 2 высоковирулентных штамма разных генотипов, вирус омской геморрагической лихорадки (ВОГЛ) и аттенуированный для млекопитающих вирус Лангат. В ходе работы было описано течение экспериментальной инфекции у лабораторных мышей при интраперитонеальном (и/п) введении вируса, в том числе изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), которое оценивали по степени проникновения низкомолекулярного красителя — флуоресцеина натрия (ФН) в ЦНС, вводимого мышам и/п. Использованные вирусы различались по характеру виремии, срокам появления вируса в ЦНС инфицированных животных, чувствительности к интерферону I типа (IFN), способности индуцировать IFN и характеру вызываемого заболевания. Вирусная инфекция приводила к увеличению проницаемости ГЭБ в процессе заболевания, в том числе при субклиническом течении инфекции. ВКЭ выявляли в ЦНС инфицированных животных на сроках, предшествующих изменению проницаемости ГЭБ (до клинических признаков заболевания). У некоторых инфицированных животных наблюдали статистически достоверное снижение проникновения ФН в ЦНС, что может быть связано с нарушением мозгового кровообращения. Вирусы отличались по соотношению животных с увеличенной проницаемостью ГЭБ и сниженным количеством ФН в ткани головного мозга. Таким образом, по полученным данным все использованные в работе вирусы способны

вызывать изменение проницаемости ГЭБ; проникновение ВКЭ в головной мозг происходит раньше, чем нарушение проницаемости ГЭБ; изменение проницаемости ГЭБ наблюдали не только у животных с характерными клиническими признаками заболевания, но при субклиническом течении инфекции. Для ВКЭ было показано, что сроки изменения проницаемости ГЭБ носят дозозависимый характер.

### ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛИХОРАДКИ КУ НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

З.Г. Кушнир, О.Б. Семенишин, А.А. Тарасюк, Н.Г. Бек, Т.С. Луцук, И.В. Лукьянчук

ГУ Львовский НИИ эпидемиологии и гигиены МЗ Украины

При осуществлении мониторинга эпидемической ситуации в Украине по лихорадке Ку в 2012 г. использована, наряду с иммуноферментным анализом и реакцией иммунофлюоресценции, полимеразная цепная реакция для выявления ДНК *Coxiella burnetii* (коммерческий набор «ООМ-скрининг» ЗАО «Синтол», РФ).

Особый интерес представляли молекулярно-генетические исследования на юге Украины, где наблюдались эпидемические вспышки лихорадки Ку в прошлом и регистрировались спорадические заболевания среди местных жителей в течение последних 6 лет. При исследовании 914 сывороток крови лихорадящих больных из этого региона у 44 человек выявлена перенесенная инфекция лихорадки Ку, что составляет 4,81%. Наибольший удельный вес положительных результатов (7,93%) наблюдался на территории Дунайско-Днестровского междуречья, с традиционно развитым животноводством. Изучение паразитарных систем возбудителя лихорадки Ку включало исследование методами полимеразной цепной реакции и иммунолюминесцентной микроскопии 5970 экземпляров клещей (395 проб), собранных с крупного рогатого скота. *Coxiella burnetii* выявлены в 7 пробах (1,77%) с энзоотичных или смежных с ними местностей поймы реки Днестр, а также в клещах из лесопокрываемых площадей Дунайско-Днестровского междуречья. Наличие возбудителя лихорадки Ку наблюдалось также в органах мышевидных грызунов, указывая на существование соответствующих паразитарных систем в природных очагах инфекции.

Регистрация в течение последних лет спорадических заболеваний лихорадкой Ку в промышленной зоне Донбасса предопределила исследование природных носителей и переносчиков возбудителя. В результате *Coxiella burnetii* обнаружены в органах мелких млекопитающих и иксодовых клещах в районах регистрации заболеваний. В зоне Прикарпатья, где имели место эпидемические вспышки лихорадки Ку в прошлом, на фоне отсутствия зарегистрированных случаев заболеваний возбудитель лихорадки Ку обнаружен в иксодовых клещах на энзоотичных территориях, что характерно для пребывания его популяции в фазе резервации в межэпидемический период.

Полученные результаты предопределяют дальнейшее применение молекулярно-генетических исследований для изучения распространения природных и хозяйственных очагов лихорадки Ку.

### РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ИЗУЧЕНИИ ПАЗИТАРНОЙ СИСТЕМЫ СЫПНОТИФОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

З.Г. Кушнир, О.Б. Семенишин, Н.И. Чипак, О.З. Зарична, М.С. Кицара, Ю.А. Логинов

ГУ Львовский НИИ эпидемиологии и гигиены МЗ Украины

Изучение существующей паразитарной системы сыпнотифозной инфекции осуществляли путем выявления возбудителя или его ДНК в переносчиках — вшах, собранных в 2012 г. с 82 инфицированных лиц в ряде административных территорий Украины, а также путем выявления больных и переболевших сыпным тифом лиц — потенциального источника инфекции. Для детекции в исследованных пробах ДНК *R. prowazekii* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали прямой R\_prow\_337\_For (5'-TCTTAACATAACAGGGCAGGGTAT-3') и обратный R\_prow\_455\_Rev (5'-GCCCCGCTAAGATCATTAGCGT-3') праймеры, зонд RP428BProbe ([6FAM]CCGAGCCAGCGCCACCATGC ACTTTTGTAAGAGG CTCGG[TAM]), SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X). Амплификацию проводили на циклере «Rotor-Gene TM 6000» в режиме последовательно связанных программ при температурах: 94°C — 3 мин, 94°C — 5 с (50 циклов), 60°C — 30 с. Анализ данных осуществляли с помощью программного обеспечения Thermal Cycler System. В результате исследований ДНК *R. prowazekii* выявили во вшах в 5 пробах. Полученные результаты подтвердили и дополнили данные иммунолюминесцентной микроскопии, при которых возбудитель сыпного тифа был выявлен в четырех пробах при головном и платяном педикулезе. Инфицированные вши были собраны со взрослых лиц без определенного места жительства, места работы или лиц пожилого возраста, серологическое обследование которых не представлялось возможным.

Ввиду отсутствия в течение последних лет зарегистрированных заболеваний сыпным тифом и болезнью Бриля, с целью контроля эпидемической ситуации и изучения эпидемического процесса сыпного тифа серологически обследовано 326 лихорадящих больных из местностей определения ДНК возбудителя во вшах. Комплекментсвязывающие антитела к *R. prowazekii* выявлены в титре 1:10 у одного жителя 1949 г. рождения, у которого заболевание сыпным тифом ранее не диагностировалось. Результаты исследований указывают на сохранение сыпнотифозного потенциала среди определенных контингентов населения и необходимости более широкого использования высокочувствительных молекулярно-генетических методов обнаружения возбудителя при осуществлении эпидемиологического надзора.

### НОВЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ ОСТЕОИНТЕГРАЦИИ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

В.В. Лабис, Э.А. Базикян, И.Г. Козлов

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Фундаментальные открытия, касающиеся врожденного иммунитета, а именно TLRs-(Toll-подобных) и NLRs-(Nod-подобных) рецепторов заставляют задуматься об отсутствии такого понятия, как «биоинертность титана», тем самым давая возможность рассма-

тривать аспекты дентальной имплантации в новом ключе. При проведении оперативного вмешательства в полости рта, под воздействием бактериальных, а также посттравматических продуктов деградации тканей, происходит активация как TLRs, так и NLRs. Наша гипотеза состоит в том, что оксиды металлов, в частности  $TiO_2$ , попадающие в условия острого воспаления, образуют конъюгаты с белками плазмы, меняя их конформацию (фибронектин, витронектин). В условиях воспаления, белок с измененной конформацией в качестве MePAMP-комплекса, может являться лигандом, участвующим в презентации (наночастицы металла — белок с измененной конформацией) TLR-рецепторам, активируя тем самым NLRs. При взаимодействии PAMP, DAMP и комплексов  $TiO_2$ -белок с измененной конформацией с поверхностными и внутриклеточными TLRs, возникает активация сигнальных путей, приводящих к синтезу транскрипционных факторов, основным из которых является NF- $\kappa$ B. Результатом является синтез провоспалительных и противовоспалительных цитокинов за счет активации соответствующих генов в ядрах клеток. По нашему мнению, в процессе остеointegrации титана заложено образование адаптивного иммунного ответа по типу Th-17, что может быть связано с острым повреждением как эпителиальной, так и костной ткани. Учитывая цикличность работы врожденного и адаптивного иммунного ответов, через систему межклеточных рецепторных взаимодействий иммунокомпетентных клеток, при снижении антигенной нагрузки, может увеличиваться синтез IL-10. Предположительно, усиление синтеза данного цитокина может говорить о формировании местной иммуносупрессии и переключении синтеза субпопуляции T-лимфоцитов с Th-17 на T-reg. Образование T-reg лимфоцитов, синтезирующих TGF- $\beta$ , ассоциировано с привлечением из кровеносных сосудов мультипотентных мезенхимальных стромальных стволовых клеток (МСК). Известно, что МСК обладают иммуносупрессивной активностью, продуцируя TGF- $\beta$ . Таким образом, изучая молекулярно-генетические параметры врожденного и адаптивного иммунитета в процессе остеointegrации дентальных имплантатов, изготовленных на основе сплава  $TiO_2$ , мы сможем дать обоснование значимости иммунной системы как основного регуляторного звена репаративного остеогенеза.

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДИПЛОИДНОЙ ЛИНИИ КЛЕТОК ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА В ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ТРЕХКОМПОНЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ КОРЬ-ПАРОТИТ-КРАСНУХА**

**И.Н. Лаврентьева, Л.П. Сухобаевская, А.М. Мартынова, Ю.А. Радюкевич**

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

Принимая во внимание преимущество использования единого тканевого субстрата для получения ассоциированных вакцинных препаратов, и, в частности, трехкомпонентной вакцины корь-паротит-краснуха, была определена чувствительность диплоидной линии клеток фибробластов кожного мышечного лоскута эмбриона человека к вакцинным штаммам вируса краснухи «Орлов-В», кори, Л-16 и вируса эпидемического паротита (ЭП), Л-3. Средние показатели инфекционной активности, полученные в восьми наблюдениях, составили 4,2 Ig

ТЦД<sub>50</sub>/мл для вируса краснухи, 4,5 Ig ТЦД<sub>50</sub>/мл для вируса эпидемического паротита и 5,4 Ig ТЦД<sub>50</sub>/мл для вируса кори.

Полученные результаты свидетельствуют о чувствительности диплоидной линии клеток к репродукции исследованных вакцинных штаммов. Стабильный уровень репродукции вирусов сохранялся в диапазоне с 20 по 35 пассаж культуры клеток.

Таким образом, диплоидная линия клеток фибробластов кожного-мышечного лоскута эмбриона человека характеризуется уровнем чувствительности к вирусам кори, эпидемического паротита и краснухи, достаточным для проведения дальнейших работ по конструированию ассоциированного трехкомпонентного вакцинного препарата корь-паротит-краснуха.

#### **ПАРВОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ В СЗФО: РАСПРОСТРАНЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ**

**И.Н. Лаврентьева, А.Ю. Антипова, М.А. Бичурина, А.В. Семенов**

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

В РФ, в ходе реализации программы элиминации кори и ВКИ, наряду с резким снижением заболеваемости корью и краснухой, возросло число случаев ошибочной первичной диагностики этих нозологических форм. Частой ошибкой клинической диагностики краснухи является парвовирусная инфекция (ПВИ, инфекционная эритема). ПВИ как заболевание с тератогенным действием вируса, представляет собой важную, но малоизученную проблему отечественного здравоохранения. В настоящее время нет регистрации ПВИ в РФ; неизвестны истинные масштабы ее распространенности, единичны сведения о циркулирующих на территории России генотипах парвовируса B19 (PV B19).

Цель работы — изучение распространения инфекционной эритемы на территориях СЗФО и определение генетической принадлежности возбудителя.

Исследовали сыворотки крови лиц с экзантемными заболеваниями, проживающими на различных территориях, которых поступали в вирусологическую лабораторию СПбРЦ по надзору за корью и краснухой. Для скрининга на парвовирусную инфекцию методом ИФА отбирались отрицательные на корь и краснуху пробы. Случай заболевания определяли по наличию IgM-антител к парвовирусу B19, что является признаком острой инфекции.

В среднем, в период 2009–2012 гг. PV B19 в качестве этиологического фактора экзантемного заболевания был выявлен в 20,4±1,87% случаев на 9 из 11 территорий СЗФО. Наиболее часто инфекционная эритема выявлялась в Республике Карелия (40,9±10,7%) и в Калининградской области (36,1±8,01%). Республика Коми и Псковская область характеризовались самым низким процентом положительных находок (10%). В Санкт-Петербурге доля лиц с IgM-антителами к PV B19 составляла 24,7±3,43%; в Ленинградской области этот показатель равнялся 18,9±4,41%.

Филогенетический анализ восьми изолятов PV B19, выделенных на территориях СЗФО в 2010–2011 гг., позволил установить их принадлежность к генотипу A1, наиболее распространенному в мире; определить высокую степень их генетической близости, дифференцировать местные и завозной случай

инфекции. Показано сходство выделенных изолятов со штаммами PV B19, которые циркулировали в 2005–2008 гг. в Республике Беларусь. Проведенная работа является обоснованием необходимости включения парвовирусной инфекции в систему надзора за экзантемными инфекциями в России.

## БИОЧИП-ТЕХНОЛОГИИ В МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПАРОДОНТОПАТИЙ: ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ

Ю.С. Липова, Л.П. Липова

*Кафедра биологической, общей, биоорганической химии и клинической лабораторной диагностики, НОЦ Молекулярно-генетические технологии в медицине, психологии и социологии Кемеровской государственной медицинской академии, ООО СилкаДент, г. Новокузнецк*

Своевременная диагностика и эффективное лечение заболеваний пародонта являются одной из актуальных проблем современной стоматологии, имеющей высокую социально-экономическую значимость, что обусловлено широкой распространенностью данной патологии, особенно среди детей и наиболее трудоспособной категории населения во всех странах, и являющейся одной из основных причин полной потери зубов. Высокий уровень пародонтопатий выпадает на возраст 20–44 года (65–95%) и 15–19 лет (55–89%). Пародонтальная патология оказывает прямое или косвенное негативное влияние на функциональное состояние внутренних органов, нередко предопределяя их патологии в отдаленном периоде.

Полость рта считается первичным резервуаром микроорганизмов *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *T. denticola*, *P. intermedia* и *A. actinomycetemcomitans*, вирусов семейства *Herpesviridae* или их комбинации. Их наличие в полости рта и в поддесневой биопленке обуславливает рецидивный, затяжной, устойчивый к проводимой традиционной терапии характер течения воспалительного процесса. Виды микроорганизмов определить очень трудно, это влечет за собой неполную диагностику и неэффективное лечение.

Альтернативой традиционным методам микробиологических исследований при заболеваниях пародонта является использование биочип-диагностики, что позволяет за короткое время определить наличие в полости рта до 250–350 различных микроорганизмов, ассоциированных с патологией пародонта, и что особенно важно, оценить степень патогенности этих микроорганизмов.

Более того, широкое применение биочип-технологий в стоматологической практике позволит не только повысить эффективность и объективность ранней диагностики и риска развития заболеваний пародонта, но и оценить роль популяционных особенностей и удельный вклад средовых факторов (климат, место жительства, образ жизни, питание, вредные привычки) в фенотипической реализации генетической предрасположенности к пародонтопатиям.

## ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ВЕТРЯНОЙ ОСПОЕ У ДЕТЕЙ

Ю.В. Лобзин, Е.Ю. Скрипченко, А.Б. Пальчик, Г.П. Иванова, М.В. Иванова

*ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА РФ, Санкт-Петербург*

Заболеваемость ветряной оспой (ВО) среди детей в Российской Федерации в последние годы носит эпи-

демический характер, поскольку составляет 1000–5000 на 100 000 детского населения (2008–2012 гг.) и сопровождается ростом частоты осложнений, которые являются причиной летальных исходов 15–25 заболевших в год, что составляет 0,02–0,04 на 100 000 населения. Цель исследования — уточнить структуру и характер осложнений при ВО среди детей. Объектом для исследования послужил анализ клиники и течения острого периода ВО у 480 детей в возрасте от 0 месяцев до 18 лет, поступивших в СПб ГУЗ «Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова» и клинику нейроинфекций и органической патологии нервной системы ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА России», Санкт-Петербург, за период с 2008 по 2012 гг. Установлено, что среди заболевших преобладали дети 1–3 лет (23,3%) и 4–7 лет (34,4%). Неосложненное течение ВО выявлялось у 40,8% пациентов (n = 196), осложненное — у 59,2% (n = 284). Летальность от ВО среди детей, госпитализированных в стационары, составила 0,6% (n = 3). До 65,5% всех осложнений, выявляемых при ВО у детей, отмечалось со стороны кожи и слизистых в виде вторичного инфицирования элементов сыпи, стафило- и стрептодермии, панариция, инфильтратов, абсцедирования, аденофлегмоны, афтозного стоматита, аллергической сыпи. На долю неврологических осложнений при ВО у детей приходилось до 46,5% всех осложнений, что свидетельствует о прединфекционной пораженности нервной системы при ВО. Реже при ВО имели место осложнения со стороны органов зрения и слуха (10,6%), которые характеризовались развитием конъюнктивита, блефароконъюнктивита, гайморозтмоидита, отита, туботита; со стороны дыхательной системы (5,3%) — проявления бронхита и пневмонии, со стороны системы гемостаза (2,8%) — тромбоцитопеническая пурпура и геморрагический синдром, со стороны лимфатической системы (1,7%) — лимфаденит, лимфаденопатия, лакунарная ангина, со стороны опорно-двигательной системы (1,4%) — артриты, кокситы, синовиты, со стороны мочеполовой системы (1,1%) — инфекция мочевыводящих путей и пиелонефрит. У одного ребенка развились эндокринные нарушения в виде дебюта сахарного диабета. Таким образом, особенностью ВО у детей в современных условиях является высокая частота различных осложнений, представляющих угрозу жизни пациента, что обуславливает актуальность введения вакцинации против ВО в Национальный календарь прививок.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА ВАКЦИННОГО ШТАММА *M. BOVIS* BCG-1 (RUSSIA)

Р.И. Луданный<sup>1</sup>, М.В. Альварес Фигероа<sup>1</sup>, М.Л. Маркелов<sup>1</sup>, В.Г. Дедков<sup>1</sup>, Г.А. Шипулин<sup>1</sup>, Д.Т. Леви<sup>2</sup>, Н.В. Александрова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup>ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, Москва

Полученный в 1921 г. после 13-летних экспериментов французскими исследователями А. Кальметом и К. Гереном вакцинный штамм *Mycobacterium bovis* BCG на протяжении ряда лет передавался в разные страны для организации производства вакцины против туберкулеза. В 1924 г. этот штамм был привезен Л.А. Тарасевичем в Россию и в дальнейшем полу-

чил название BCG-1 (Russia). С целью определения воздействия условий культивирования и технологии производства вакцины на стабильность генома *M. bovis* BCG и оценки влияния генетических изменений на эффективность препарата, проводят исследования по изучению генома «субштаммов» BCG из разных стран. Данные о секвенировании генома штамма BCG-1 крайне скудны.

Целью нашей работы является сравнительный анализ полногеномной последовательности российского субштамма BCG-1.

Материалы и методы. Нами была проанализирована посевная серия (seed-lot) *M. bovis* BCG-1 № 368 «щ» 2006 г., которую до настоящего времени применяют для изготовления отечественной туберкулезной вакцины. Секвенирование проводилось с использованием прибора MiSeq (Illumina). Для сборки контигов *de novo* и последующей аннотации и сравнения данных использовались программное обеспечение: Amos (Ver. 3.1), Glimmer (Ver. 3.02) и Blast2go (ver. 2.6.4).

Результаты. Геном штамма BCG-1 в виде кольцевой молекулы ДНК длиной 4 346 090 н. был собран *de novo*. Доля G+C составила 65,2%. Нами было выявлено 4573 кодирующих участка, что составило 75,6% от количества генов ранее аннотированных геномов BCG, депонированных в NCBI. Ранее было установлено генетическое сходство между штаммами BCG-1, Moreau и Токуо, входящими в группу DU2 вследствие наличия дубликации двух протяженных тандемных повторов (Brosh et al., 2007). Проведенный нами сравнительный анализ полногеномных последовательностей субштамма BCG-1 выявил гомологию со штаммами: Moreau RDJ — 96,2%, Токуо 172 — 95,6%, BCG Pasteur 1173P2 — 95,5% и с диким штаммом *M. bovis* AF 2122/97 — 96,9%. Эти данные не согласуются с данными, полученными при анализе фрагментов генома. Стоит так же отметить, что гомология 3 генов рДНК и 45 генов тРНК между штаммами BCG-1 и *M. bovis* составила около 97%, тогда как с остальными штаммами она варьировала от 95 до 96,2%. В дальнейшем, при использовании в качестве референсной последовательности генома штамма *M. bovis* AF 2122/97, нами были обнаружены различия в 158 349 SNP, диспергированных по всей длине генома, что составило 4,6% от всего генома, а также значительные геномные перестройки.

#### **АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА И ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Л.В. Лялина, А.В. Закревская, Е.В. Касаткин,  
О.В. Нарвская, А.А. Вязовая, Е.В. Катквичене,  
М.Е. Игнатьева, А.Б. Жебрун**

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

*ГБУЗ Кожно-венерологический диспансер № 8,  
Санкт-Петербург*

*ГБУЗ Республиканский кожно-венерологический диспансер,  
г. Петрозаводск*

*Управление Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия),  
г. Якутск*

Широко применение молекулярно-генетических методов исследования для диагностики папилломавирусной инфекции, определения генотипа ви-

руса папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) и внедрение в практику вакцин против ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов, способствовало развитию системы эпидемиологического надзора и необходимости оценки эффективности вакцинопрофилактики. В большинстве регионов Российской Федерации (РФ) вакцинация против папилломавирусной инфекции начата в 2007–2008 гг., однако иммунизация осуществлялась в основном за счет средств населения в небольших объемах. В Республике Саха (Якутия) в 2008–2011 гг. получили трехкратную вакцинацию 295 женщин в возрасте от 9 до 26 лет, в Санкт-Петербурге (2009–2012 гг.) — около 4-х тыс. женщин.

Развитие системы эпидемиологического надзора за папилломавирусной инфекцией в условиях вакцинопрофилактики предполагает осуществление мониторинга за всеми детерминантами эпидемиологического процесса, которые включают заболеваемость аногенитальными (венерическими) бородавками, распространенность ВПЧ ВКР с указанием генотипа вируса, выявляемость цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) 1, 2, 3 степени, заболеваемость раком шейки матки (РШМ) и другими злокачественными новообразованиями, ассоциированными с ВПЧ ВКР, а также показатели охвата вакцинацией с конкретизацией возрастных, социально-профессиональных групп, наименования вакцин и данных сопоставления распространенности ВПЧ ВКР и ЦИН среди привитых и не привитых против этой инфекции.

Результаты исследования, проведенного в трех регионах РФ [Санкт-Петербург, Республика Карелия, Республика Саха (Якутия)], показали необходимость изучения региональных особенностей распространения папилломавирусной инфекции и заболеваний, ассоциированных с ВПЧ, а также вакцинации на всех административных территориях страны. Заболеваемость аногенитальными (венерическими) бородавками отличается в различных регионах не только уровнем, но и тенденциями. В Санкт-Петербурге и Республике Саха (Якутия) эта клиническая форма имеет тенденцию к росту, в Республике Карелия в последние годы отмечается существенное снижение заболеваемости, не сопоставимое с объемом вакцинации против папилломавирусной инфекции. Распространенность ВПЧ ВКР (12 генотипов суммарно) в 2009–2012 гг. в Санкт-Петербурге варьировала от 20,9 до 30,3 на 100 обследованных лиц. У мужчин частота обнаружения высокоонкогенных генотипов вируса составила от 14,5 до 20,5%, у женщин — от 18,3 до 27,3 ( $p < 0,001$ ). Среди пациентов КВД в Санкт-Петербурге, Республике Карелия и Республике Саха (Якутия) распространенность ВПЧ ВКР существенно отличается и сравнение результатов затруднено, так как используются тест-системы, позволяющие определить различное число генотипов вируса. На всех изученных территориях имеет место тенденция к росту заболеваемости РШМ среди женщин репродуктивного возраста. Результаты исследования свидетельствуют об актуальности проблемы папилломавирусной инфекции для регионов РФ. Основные направления совершенствования работы должны включать: введение государственной регистрации всех случаев инфекции, обусловленных ВПЧ ВКР, развитие системы надзора на основе стандартизированного подхода для

получения сопоставимых результатов, расширение объемов вакцинации, создание электронных баз данных лабораторного обследования на ВПЧ ВКР, цервикального скрининга и вакцинации против этой инфекции.

### **ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ АНОГЕНИТАЛЬНЫМИ (ВЕНЕРИЧЕСКИМИ) БОРОДАВКАМИ КАК КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

**Л.В. Лялина, О.Ю. Стебелько, Е.В. Касаткин, Н.Ю. Гульцева, М.А. Окунева**

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

*ГБУЗ Городской кожно-венерологический диспансер, Санкт-Петербург*

*ГБУЗ Кожно-венерологический диспансер № 8, Санкт-Петербург*

*Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу*

Аногенитальные (венерические) бородавки — одна из клинических форм папилломавирусной инфекции. В РФ осуществляется государственная регистрация аногенитальных бородавок (код МКБ-10 А.63.0) в учреждениях дерматовенерологического профиля с 1993 г. Возникновение 90% случаев заболевания связано с 6 и 11 генотипами вируса папилломы человека (ВПЧ). Внедрение в практику вакцин для профилактики папилломавирусной инфекции, обусловленной ВПЧ 6, 11, 16 и 18 генотипов, диктует необходимость развития эпидемиологического надзора и оценки эффективности вакцинопрофилактики. В Санкт-Петербурге вакцинация против папилломавирусной инфекции начата в 2007 г. До 2011 г. иммунизация осуществлялась за счет средств населения в небольших объемах. В 2011 г. в соответствии с Постановлением Правительства Санкт-Петербурга выделены средства на закупку вакцин. В 2009–2012 гг. получили трехкратную вакцинацию около 4-х тыс. женщин. В связи с изложенным целью исследования явилось определение тенденций заболеваемости аногенитальными (венерическими) бородавками в Санкт-Петербурге в довакцинальный период и начальный период внедрения вакцинации против папилломавирусной инфекции.

Результаты исследования показали, что в Санкт-Петербурге заболеваемость аногенитальными бородавками имеет тенденцию к росту, в 2000 и 2012 гг. показатели составили 40,9 и 57,3 на 100 000 населения соответственно ( $p < 0,001$ ). В РФ заболеваемость данной патологией варьировала от 18,5 (в 2000 г.) до 34,7 (в 2009 г.) на 100 000 населения. В последние годы в стране отмечена тенденция к снижению заболеваемости, в 2011 г. показатель составил 29,2 на 100 000. В Санкт-Петербурге уровень заболеваемости аногенитальными бородавками был выше, чем по РФ в течение 13-летнего периода, показатели варьировали от 40,4 (в 2001 г.) до 60,1 (в 2011 г.) на 100 000. Заболеваемость женского и мужского населения в 2011 г. оказалась равной 65,9 и 43,1 на 100 000 человек соответственно. Группой риска являются лица в возрасте 18–29 лет, доля этой категории населения в 2012 г. составила около 65%. Результаты исследования свидетельствуют об актуальности проблемы для региона и необходимости расширения объемов вакцинации против этой инфекции.

### **СОЦИАЛЬНО-ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗОМ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Л.В. Лялина, И.Г. Чхинджерия, В.В. Ветров, Б.Б. Ли**  
*ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург*

*Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу*

*Управление Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург*

*ГБУЗ Ямало-Ненецкий окружной противотуберкулезный диспансер, г. Салехард*

Туберкулез остается социально значимой проблемой для большинства регионов Российской Федерации. Целью исследования явилось изучение социально-профессиональной структуры заболеваемости туберкулезом в условиях мегаполиса Санкт-Петербурга, Ленинградской области и одной из территорий региона Крайнего Севера.

В Санкт-Петербурге в 2006–2012 гг. среди впервые выявленных больных туберкулезом основную долю составили неработающие лица трудоспособного возраста и безработные. В последние годы удельный вес этой категории достиг 50%. В г. Салехарде в социально-профессиональной структуре также основную долю занимали неработающие (около 40%). Удельный вес рабочих и служащих в Санкт-Петербурге составил в среднем 18 и 17% соответственно. В Салехарде доля работающего населения оказалась равной 31,8%. Удельный вес заболеваний туберкулезом персонала ЛПУ в Санкт-Петербурге в изученный период варьировал от 2,0 до 2,5%.

В Ленинградской области проведен анализ профессиональных заболеваний туберкулезом в 2005–2012 гг. Установлено, что удельный вес туберкулеза профессионального генеза составил от 2,8 до 7,5% (в среднем 3,2%) от всех случаев профессиональной патологии. В отдельные годы (2008 и 2009 гг.) регистрации профессиональных заболеваний туберкулезом не было. Средний возраст пациентов с этой инфекцией в Ленинградской области составил 46 лет, доля женщин и мужчин среди больных оказалась равной 72 и 28% соответственно. Все заболевшие являлись работниками специализированных медицинских организаций туберкулезного профиля (туберкулезные больницы и противотуберкулезные диспансеры). Заболевания регистрировались в основном среди среднего и младшего медицинского персонала — палатные медицинские сестры и санитарки (72%). Заболевания врачей (фтизиатр, бактериолог) установлены в 28% случаев. Преобладала легочная форма туберкулеза (85%), случаи внелегочной локализации — лучезапястного сустава, пястно-фалангового сочленения составили 15%. Результаты исследования позволили определить группы риска и необходимость усиления профилактических и противоэпидемических мероприятий.

### **СОЦИАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ РЕВМАТИЧЕСКИХ БОЛЕЗНЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ**

**Л.В. Лялина, М.В. Сталевская, Т.Г. Шемеровская, О.А. Смутькая**

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

*ГБУЗ Клиническая ревматологическая больница № 25, Санкт-Петербург*

Ревматические заболевания относятся к числу актуальных проблем здравоохранения, что обуслов-

лено широким распространением этой патологии, склонностью к прогрессированию и ранней инвалидизацией пациентов. Недостаточная изученность причин возникновения ревматических болезней, мультифакториальная природа ряда нозологических форм затрудняют проведение эффективных мер первичной профилактики заболеваний и требуют комплексного подхода при изучении проблемы на основе использования принципов доказательной медицины, клинической, лабораторной и эпидемиологической диагностики.

Цель исследования: определение социальной значимости ревматических заболеваний среди взрослого населения Санкт-Петербурга.

Работа выполнялась на базе городского ревматологического центра. Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ данных о госпитализированных больных в 2000–2011 гг. с диагнозами ревматизм, ревматоидный артрит, реактивный артрит, системный васкулит, артроз, подагра, другие системные заболевания. Изучение возрастных, социально-профессиональных характеристик и показателей инвалидности среди пациентов с ревматическими заболеваниями выполнено за период 2008–2011 гг. Суммарное количество госпитализированных больных в 2000–2011 гг., включенных в исследование, составило более 65 000 человек.

Результаты исследования показали, что в возрастной структуре больных около 30% занимают пациенты в возрасте от 15 до 50 лет. В 2008–2011 гг. сохранялось характерное для ревматических заболеваний соотношение по полу с существенным преобладанием женского населения. Доля мужчин варьировала от 20,7 до 24,2%, женщин — от 75,8 до 79,3%. Из общего числа госпитализированных по поводу ревматических заболеваний доля лиц трудоспособного возраста оказалась равной 45,3–46,9%, из них от 38,8% (в 2008 г.) до 39,4% (в 2010 г.) имели инвалидность. Первую группу имели 1,7–3,1% пациентов, вторую и третью группы инвалидности — 37,3–46,7 и 51,6–59,6% соответственно. При анализе социально-профессиональной характеристики установлено, что в 2011 г. доля неработающего населения среди больных трудоспособного возраста составила 35,2%, имеет место статистически значимый рост удельного веса безработных — 13,7% (2010 г.) против 5,3% в 2008 г. ( $p < 0,001$ ). Полученные результаты характеризуют важное социальное значение ревматических заболеваний.

#### РАЗРАБОТКА ИММУНО-ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДВУХ ТОКСИНОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

А.В. Маерле<sup>1</sup>, Д.Ю. Рязанцев<sup>2</sup>, Е.Э. Петрова<sup>2</sup>,  
Р.Л. Комалева<sup>2</sup>, Т.И. Валякина<sup>2</sup>, Е.В. Гришин<sup>2</sup>,  
С.К. Завриев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков  
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

В методе иммуно-ПЦР удалось совместить специфичность иммуноферментного анализа и высокую чувствительность полимеразной цепной реакции. Здесь роль метки на втором антителе выполняет известный участок ДНК, наличие которого определяется методом ПЦР. Повышенная по сравнению с классическим иммуноферментным методом чув-

ствительность иммуно-ПЦР должна позволить определять токсины золотистого стафилококка в крайне малых количествах, в том числе в смывах с исследуемых поверхностей и тканей без необходимости культивирования, следовых количествах токсинов в продуктах питания.

В данной работе в качестве целей для определения были выбраны стафилококковый энтеротоксин А (SEA) и токсин синдрома токсического шока (TSST). Принцип новой тест-системы базировался на универсальном формате иммуно-ПЦР, в который был внесен ряд изменений. В отличие от универсального формата иммуно-ПЦР в качестве сигнальной молекулы ДНК был разработан и синтезирован олигонуклеотид (60 оснований), модифицированный молекулами биотина по 5'- и 3'-концам. Проведено исследование влияния условий получения конъюгатов стрептавидин-ДНК и концентрации исходных реагентов на стабильность при хранении получаемых комплексов. Пары моноклональных антител были подобраны в соответствии с требованиями специфичности.

Тест-системы были испытаны на рекомбинантных стафилококковом энтеротоксине А и токсине синдрома токсического шока. Чувствительность определения токсинов SEA и TSST в данных условиях составила 1 пг/мл образца для обеих систем, при этом динамический диапазон детекции составил 1–10<sup>5</sup> пг/мл.

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ЭНТЕРОГЕМОРАГИЧЕСКИХ *ESCHERICHIA COLI*

М.А. Макарова<sup>1</sup>, Л.А. Кафтырева<sup>1</sup>, Т.А. Коновалова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, Москва

В системе надзора и контроля за возбудителями, способными вызывать вспышки острых кишечных инфекций (ОКИ), особое место занимают энтерогемоorragические *Escherichia coli* (группа ЕНЕС) в связи с возможностью развития тяжелых осложнений — гемолитико-уремического синдрома и тромбоцитопенической пурпуры. В течение последних пяти лет в Референс-центре по кишечным инфекциям (ЦНИИЭ) и в лаборатории кишечных инфекций НИИЭМ имени Пастера идентифицированы 10 штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с явлениями гемоколиты, осложненного гемолитико-уремическим синдромом. Доступными О-сыворотками в реакции агглютинации подтверждена О-группа изолятов: O26, O55, O78, O157. Молекулярно-генетическими методами определен серотип штаммов (секвенирование генов, ответственных за продукцию О-антигена (*rfb*-ген) и Н-антигена (*fliC*-ген): O26:H11, O55:H7, O78:H4, O145:H28, O157:H7, которые нередко вызывали групповые заболевания ОКИ в странах Европы, США, Японии. Все изученные штаммы имели гены, кодирующие продукцию двух (или одного) шигаподобных токсинов 1 и/или 2 типа, в сочетании с наличием фактора адгезии интимина (*eae*-ген), что позволило отнести их к группе ЕНЕС. Все штаммы сохраняли чувствительность к АМП, за исключением одного штамма — *E. coli* O145:H28, устойчивого к цефалоспорином 3–4 поколения (цефтриаксо-

ну, цефтазидиму и цефепиму) за счет продукции β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), которая была подтверждена в тесте синергизма методом двойных дисков и в ПЦР определена как БЛРС СТХ-М типа. К АМП других групп сохранялась хорошая чувствительность. Без детекции генов вирулентности и «молекулярного серотипирования» эти штаммы не были бы идентифицированы.

Тревожным является тот факт, что они приобрели резистентность к АМП, как и штамм *E. coli* O104:H4, вызвавший крупную вспышку (эпидемию) в Европе весной—летом 2011 г.

### **ВЛИЯНИЕ САПОНИНА ТАУРОЗИДА Sx1 НА ФОРМИРОВАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА И РАЗВИТИЕ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ**

**В.Ю. Малыгина, И.Б. Андроновская, В.И. Гришковец, Ю.Л. Криворученко**

*Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь, Украина*

Создание иммуномодулирующих, иммуноадьювантных и противовирусных препаратов на основе веществ растительного происхождения является одним из направлений совершенствования средств профилактики и лечения инфекций. В настоящей работе была изучена способность тритерпенового сапонина таурозида Sx1 влиять на формирование поствакцинального гуморального иммунитета и протекание летальной гриппозной инфекции у мышей.

Мышей BALB/c иммунизировали вакциной «ГРИППОЛ», содержащей антигены 3-х штаммов вирусов гриппа А и В. Сапонин в дозе 200 мкг/мышь/день вводили перорально вакцинированным животным дважды в день в течение 3 дней со дня иммунизации. На 4, 14 и 21 дни у животных брали кровь для определения титра антител против гемагглютининов (ГА) вирусов гриппа. Через 4 месяца мышей ревакцинировали и на 3 и 5 дни брали кровь для изучения вторичного иммунного ответа. Титры антител определяли в РТГА, используя антикумы из гомологичных штаммов. Достоверное увеличение титра антител против всех вакцинных типов ГА — А (Н1 и Н3) и В — наблюдалось при развитии первичного иммунного ответа. Введение сапонина усиливало вторичный иммунный ответ к ГА типов Н1 и Н3, но не влияло на вторичный ответ к ГА вируса типа В.

Заражение мышей проводилось интраназально летальным вирусом А/WSN/1/33(Н1N1), после чего таурозид Sx1 вводили перорально по 2 схемам: 1) профилактика — животным вводили по 0,1 мл раствора сапонина за 24 и 4 часа до заражения; 2) терапия — сапонин вводили через 4 и 24 часа после заражения. Результаты оценивали по выживаемости животных на протяжении 21 дня после заражения. Таурозид Sx1 оказывал протективный эффект в дозе 200 мкг/день как при терапевтическом, так и при профилактическом введении. Пероральное 3-дневное введение таурозида Sx1 в дозе 200 мкг/сутки сразу после заражения мышей снижает инфекционный титр вируса гриппа в легких мышей и достоверно увеличивает титр антигемагглютининовых антител на ранней стадии развития болезни.

Таким образом, введение таурозида Sx1 усиливает выработку антигемагглютининовых антител при вакцинации или заражении мышей гриппом, а также увеличивает выживаемость инфицированных животных.

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗРАБОТАННЫХ ЗОНДОВ В РЕАКЦИИ ОТ-ПЦР ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ СПЕЦИФИЧНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA***

**А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Д.Г. Сверкалова**

*Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина*

При разработке ПЦР-систем в режиме реального времени, как правило, возникают проблемы определения эффективности флуоресцентных меток зондов. От этого будет зависеть эффективность детекции. В своей практике мы коснулись проблемы выбора флуоресцентных меток для ПЦР зонда при идентификации *B. bronchiseptica*. Этот микроорганизм имеет большее значение для ветеринарной практики при диагностике острых и хронических респираторных инфекций у домашних животных. Возбудитель высококонтагиозен, однако, как считалось ранее, не представляет опасности для человека. Но в последнее время *B. bronchiseptica* ассоциируется с такими заболеваниями у человека, как пневмония и септицемия. Так, Gueirard et al. (1995) выделили возбудитель у женщины с бронхопневмонией. Еще ранее Bemis (1977) изолировал *B. bronchiseptica* у детей американского фермера после их контакта с инфицированными домашними животными. Ghosh и Tranter (1979) выделили возбудитель у 73-летнего мужчины с тяжелым сепсисом и двусторонней пневмонией. В связи с этим становится очевидным, что необходимость разработки для лабораторной диагностики современных систем идентификации *B. bronchiseptica*, основанных на использовании молекулярно-генетических методов, не вызывает сомнения.

Нами разработана праймерная система (f — 5'-GGACGACCAGGATCACATCTTCC-3', r — 5'-GCTTTCCTGGTAGTTGGCGTAGG-3'), фланкирующая высокоспецифичный участок гена *bfrz*, продукт которого участвует в метаболизме железа. Затем был подобран зонд (5'-AACAACATGCGCATCACAACCGGAACA-3') для детекции в режиме реального времени. В качестве флуоресцентных меток были выбраны Fam и R6G.

По окончании реакции программное обеспечение прибора позволило определить максимальную разницу Ct (Cp) для определения эффективности флуоресцентных меток и зонда для использования в данной ПЦР тест-системе — максимальная разница Ct Fam/Ct Hex составила 0,4 цикла, что позволяет сделать заключение об эффективности флуоресцентных меток Fam и R6G при использовании данного зонда для ОТ-ПЦР. Таким образом, данная праймерная система, фланкирующая специфический участок генома *B. bronchiseptica*, при использовании зонда с флуоресцентной меткой как Fam, так и R6G, позволяет проводить высокоэффективную ПЦР в режиме реального времени.

## ОБ ОСНОВНЫХ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЯХ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ ГЕМОКОНТАКТНЫХ ИНФЕКЦИЙ

И.И. Механтьев, Л.П. Усачева, О.М. Гунина

Управление Роспотребнадзора по Воронежской области,  
г. Воронеж

Реализация передачи гемоконтактных инфекций от одного зараженного пациента к другому в основном осуществляется в пределах одной и той же лечебной организации (ЛПО). Основной причиной эпидемиологического неблагополучия является несоблюдение санитарно-эпидемиологических правил: использование загрязненного медицинstrumentария и оборудования, переливание зараженной крови. Остается риск профессионального заражения медработников вследствие высокой травмоопасности, неполного учета травм в ЛПО. Несмотря на низкий уровень заболеваемости острыми гепатитами В и С населения Воронежской области (соответственно 1,54 и 1,41 на 100 тыс. населения в 2012 г.; 1,02 и 2,03 на 100 тыс. в 2011 г.), незначительную пораженность ВИЧ (42,5 и 37,5 на 100 тыс. соответственно в 2012 и 2011 гг.), болезненность населения гепатитами В и С остается высокой за счет перехода острых форм в хронические (соотношение острых и хронических форм гепатитов В и С в 2012 и 2011 гг. составило соответственно 1:16,1 и 1:8,24; 1:24,8 и 1:7,65). Именно больные хроническими гепатитами, а также нерасшифрованные носители гемоконтактных вирусов являются источниками эпидемиологического неблагополучия. Переливание зараженной крови является наиболее эффективным способом передачи гемоконтактных вирусов. В области приняты меры по предотвращению посттрансфузионной передачи ВИЧ-инфекции и других вирусов путем обязательной карантинизации плазмы. С 2010 г. в области осуществляется вирусинактивация плазмы доноров, не обследованных в установленном порядке через 6 месяцев после заготовки продукта. На территории области с 01.01.2011 г. внедрен технический регламент по требованиям безопасности крови. Доноры старше 55 лет иммунизированы против гепатита В. В трансфузиологии в рамках проекта «Здоровье» в 2013 г. планируется внедрение ПЦР-диагностики и вирусинактивация тромбоцитов.

Мерами по профилактике профессионального инфицирования медицинских работников являются применение индивидуальных средств защиты, вакцинация против гепатита В, доступ к постконтактной профилактике ВИЧ-инфекции. Во всех ЛПО используются быстрые тесты для определения специфических антител к ВИЧ. Для защиты от травм используются иглосъемные устройства и иглодеструкторы, вакуумные системы для забора крови. В ряде ЛПО используются саморазрушающиеся и самоблокирующие шприцы.

## МЕТОДИКА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕННЫХ СЕРОТИПОВ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

К.О. Миронов, Е.А. Дунаева, А.Е. Платонов

ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора,  
Москва

На основании строения капсульного полисахарида выделяют около 90 серотипов *Streptococcus pneumoniae*. Характеристика серотипового состава

возбудителей, циркулирующих на наблюдаемой территории, необходима для планирования мероприятий по вакцинации. Для серотипирования могут быть использованы ПЦР-методики, основанные на серотип-специфических праймерах к генам, вовлеченным в синтез определенного типа капсульного полисахарида.

Был проведен анализ рекомендованных Центром контроля за заболеваемостью США мишеней для проведения серотип-специфичной ПЦР и выбраны олигонуклеотиды для определения методом ПЦР в режиме реального времени часто выделяемых при инвазивных формах инфекции серотипов стрептококка. ПЦР проводилась в формате «мультипрайм» на приборе «Rotor-Gene Q» («Qiagen», Германия) с шестью каналами флуоресцентной детекции. Праймеры и зонды для детектируемых серотипов были распределены по четырем реакциям: 6ВА, 3, 9ВА, 19F (реакция № 1); 1, 4, 14, 23F (реакция № 2); 18, 11AD, 9NL, 15AF (реакция № 3) и 2, 5, 7AF, 19А (реакция № 4). В каждой реакции содержались праймеры и зонд для детекции продукта амплификации фрагмента гена *cpsA*, присутствующего у всех капсульных штаммов стрептококка.

Методика апробирована на штаммах *S. pneumoniae*, выделенных в рамках многоцентровых исследований резистентности микроорганизмов, проводимых НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии. Все штаммы были исследованы как с помощью разработанной методики ПЦР-РРВ, так и с помощью рекомендованной методики с электрофоретической детекцией. Дискордантных, ложноположительных или ложноотрицательных результатов получено не было. В настоящее время проводится клиническая апробация методики на коллекции образцов спинномозговой жидкости, полученных от больных гнойным бактериальным менингитом, содержащих ДНК *S. pneumoniae*.

Применение в лабораторной практике ПЦР-РРВ позволяет сократить время проведения анализа и повысить чувствительность исследования, что может иметь значение при характеристике клинического материала, содержащего ДНК *S. pneumoniae*, в том числе материала, полученного из нестерильных очагов воспаления.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ

К.О. Миронов, О.П. Дрибноходова, Е.А. Дунаева,  
А.Е. Платонов, Г.А. Шипулин

ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора,  
Москва

На сегодняшний день известно значительное количество однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), для которых показана связь с развитием патологических состояний. Генетический анализ SNP может быть использован в клинической практике для выявления лиц, имеющих предрасположенность к тому или иному заболеванию, что может иметь значение при планировании и проведении профилактических мероприятий или выбора оптимальных схем терапии, учитывающих индивидуальные особенности.

Среди всех лабораторных методов детекции нуклеотидного полиморфизма только методы секвенирования позволяют однозначным и специ-

фичным образом детектировать SNP в гомо- или гетерозиготном состоянии. Удобными высокопроизводительными платформами для определения однонуклеотидных полиморфизмов с помощью технологии пиросеквенирования, являются системы генетического анализа серии «PyroMark» («Qiagen», Германия). На базе технологии пиросеквенирования были разработаны методики для определения более 170 генетических полиморфизмов. Часть разработанных методик была включена в набор реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»). Набор реагентов выпускается в 28 формах комплектации, для 24 форм комплектации (112 полиморфизмов) получено регистрационное удостоверение (№ ФСР 2012/13246 от 19 марта 2012 г.).

Выбранные генетические полиморфизмы находятся в различных генах, некоторые из которых могут быть ассоциированы с генетической предрасположенностью к инфекционным заболеваниям или повышенному риску их осложненного течения. К таким генам можно отнести плазменные и агрегационные факторы свертывания крови, сосудистые факторы, гены, кодирующие цитокины и медиаторы воспаления. Часть SNP локализована в генах, участвующих в транспорте и метаболизме лекарств и влияющих на эффективность применения тех или иных препаратов.

Поскольку приборы для пиросеквенирования являются открытыми системами для проведения генетического анализа, и есть разработанный при создании набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» универсальный протокол исследования генетических локусов, существует как возможность расширения спектра анализируемых SNP в рамках проведения совместных научно-исследовательских работ, так и возможность изучения генетического материала от лиц, перенесших заболевание с помощью уже выпускающихся тестов для детекции полиморфизмов, клиническая целесообразность тестирования которых уже была показана в предыдущих исследованиях.

#### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ТИПИРОВАНИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКИ ОПАСНЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ ELTOR* НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА СТРУКТУРЫ «HOUSEKEEPING» ГЕНОВ

Л.В. Миронова, М.В. Афанасьев, Э.Г. Гольдапель, С.В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск

Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) — один из методов молекулярного типирования микроорганизмов, позволяющий выявлять генетические взаимосвязи между штаммами на основании сопоставления нуклеотидных последовательностей генов «домашнего хозяйства» («housekeeping» генов).

Цель работы — анализ структуры комплекса «housekeeping» генов эпидемически опасных штаммов *V. cholerae eltor*, изолированных при осложнениях по холере в Сибири и на Дальнем Востоке.

Проведено исследование 20 штаммов *V. cholerae eltor* (13 — от людей и из объектов окружающей среды в заносных очагах и в период вспышки холеры в 1999 г.; четыре — от людей в заносных очагах в 1994

и 1997 гг.; три — от людей в период эпидемических осложнений в 1970-е гг.) и одного штамма *V. cholerae cholerae* (569B). MLST осуществлялось по предложенной Garg P. et al. в 2003 г. схеме, предусматривающей определение структуры восьми генов «домашнего хозяйства» — *dnaE*, *lap*, *recA*, *pgm*, *gyrB*, *cat*, *gmd*, *chi* и одного гена — *rstA*, входящего в состав МГЭ *V. cholerae*.

В результате у всех исследуемых штаммов *V. cholerae* биовара эльтор независимо от объекта, времени выделения и структуры детерминант патогенности, установлена идентичность нуклеотидной последовательности анализируемых генов «домашнего хозяйства», что определяет принадлежность их к одному сиквенс-типу. Сопоставление полученных нуклеотидных последовательностей с таковыми референс-штамма *V. cholerae eltor* № 16961 (NC002505) показало их 100% гомологию. В геноме *V. cholerae cholerae* 569B выявлены нуклеотидные замены в генах *recA*, *cat*, *chi*, *rstA*, при этом установлена идентичность «housekeeping» генов указанного штамма и штамма *V. cholerae cholerae* O395, полногеномная последовательность которого размещена в GenBank (CP001236). Индекс Хантера—Гастона для данной выборки — 0,095.

Таким образом, показана низкая дискриминирующая способность использованной схемы MLST для дифференциации эпидемически опасных штаммов *V. cholerae eltor*. Вместе с тем, установленная идентичность сиквенс-типа типичных вибрионов эльтор начала седьмой пандемии и атипичных вариантов *V. cholerae eltor* с измененной структурой гена *ctxB* свидетельствует об их генетическом родстве.

#### НОВЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ АСПЕКТ РАСПРОСТРАНЕНИЯ БАКТЕРИЙ, РЕЗИСТЕНТНЫХ К ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

А.Г. Мирошниченко, В.М. Брюханов, Л.Ю. Бутакова, И.Е. Госсен, В.Ю. Перфильев, П.В. Смирнов

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

Проблема распространения штаммов, резистентных к антибактериальной терапии, с течением времени приобретает все более угрожающий характер. Основным фактором, обуславливающим это явление, считается бесконтрольное, нерациональное применение химиотерапевтических средств. Однако лечение больных с инфекционным заболеванием, как правило, включает и другие фармакологические вещества, которые потенциально могут изменять активность антибактериальных средств и способствовать реализации бактериями механизмов резистентности.

Цель — оценка влияния некоторых антиоксидантов на развитие устойчивости бактерий к химиотерапевтическим средствам (на примере *Klebsiella pneumoniae*).

В работе использовались контрольный (ATCC 13883) и 2 клинических штамма *Klebsiella pneumoniae*. Изучались антиоксиданты: восстановленный глутатион, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол в концентрациях 0,25; 0,5; 1; 2 и 4 мМ. Антибактериальные средства (ампициллин, цефтазидим, тетрациклин, гентамицин, хлорамфеникол, ципрофлоксацин) добавлялись в инкубационную смесь на основе среды М9 в сублетальных концентрациях, составляющих 50% минимальной

подавляющей концентрации. Инкубацию проводили в течение 24 часов. Развитие культуры оценивали в динамике по изменению оптической плотности. Статистическая обработка проводилась и использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Установлено, что все изучаемые антиоксиданты вызывают практически полную потерю чувствительности штаммов к гентамицину. Глутатион вызывает снижение активности тетрациклина, цефтазида, ципрофлоксацина. Метилэтилпиридинол повышает активность ампициллина, цефтазида, хлорамфеникола, тетрациклина, ципрофлоксацина. Ацетилцистеин снижает активность ампициллина, цефтазида и ципрофлоксацина. Аскорбиновая кислота усиливает действие тетрациклина, но снижает активность ципрофлоксацина. Выраженность описанных явлений имеет, как правило, прямопропорциональную зависимость от концентрации антиоксиданта.

Таким образом, некоторые антиоксиданты обладают способностью уменьшать активность химиотерапевтических средств, что может обуславливать не только снижение проводимой противомикробной терапии, но и увеличение скорости появления резистентных штаммов.

#### ОБНАРУЖЕНИЕ ТУЛЯРЕМИЙНОГО МИКРОБА СРЕДНЕАЗИАТСКОГО ПОДВИДА НА ТЕРРИТОРИИ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

А.Н. Мокриевич<sup>1</sup>, В.С. Тимофеев<sup>1</sup>, Т.Ю. Кудрявцева<sup>1</sup>, Г.И. Уланова<sup>2</sup>, С.Б. Карбышева<sup>2</sup>, Р.И. Миронова<sup>1</sup>, Г.М. Вахрамеева<sup>1</sup>, Т.И. Губарева<sup>2</sup>, В.М. Павлов<sup>1</sup>, И.А. Дятлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболонск, Московская область

<sup>2</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае, г. Барнаул

При исследовании полевого материала, собранного в ходе эпидемиологического летне-осеннего сезона 2011 г., с помощью культурально-морфологических и иммунологических методов «Центром гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае» были выявлены четыре культуры *F. tularensis* из трех видов клещей и селезенки сибирской красной полевки. Туляремиальные штаммы, выделенные из разных районов Алтайского края, были переданы в референс-центр по мониторингу за туляремией ГНЦ ПМБ. Все штаммы оказались чувствительными к эритромицину и высоковирулентными для мышей линии BALB/c (DCL < 10 КОЕ). Методом однопраймерного ПЦР-типирования показана принадлежность трех изолятов (А-554, А-678 и А-823) к среднеазиатскому подвиду, а одного изолята (А-1045) — к голарктическому подвиду. Для выяснения филогенетических связей исследуемых штаммов со штаммами, депонированными в коллекцию штаммов «ГКПМ-Оболонск», в том числе со штаммами из сибирских очагов туляремии, полученными из Иркутского противочумного института, было проведено молекулярное типирование штаммов методом мультилокусного (MLVA) анализа вариабельности числа tandemных повторов по 25 локусам и построено филогенетическое дерево. Мультилокусное генотипирование подтвердило подвидовую принадлежность изучаемых штаммов туляремиального микроба, установленную мето-

дом однопраймерной ПЦР. Штаммы А-554 и А-678 оказались генетически идентичными по 25 локусам. Штамм А-823 отличался от них по длине трех локусов, в том числе по числу повторов в гипервариабельном локусе Ft-M3, позволяющему выявлять различия между близкородственными штаммами.

Полученные данные свидетельствуют о циркуляции двух подвидов туляремиального микроба на территории Алтайского края. Алтайский изолят А-1045 подвида *holarctica* генетически близок штаммам, типичным для сибирских очагов туляремии, тогда как три изолята подвида *mediasiatica* отличаются от ранее выделенных на территории Средней Азии штаммов (117 и 120). Среднеазиатский подвид туляремиального микроба впервые выделен на территории Российской Федерации.

#### МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ: 15-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ЛАБОРАТОРИИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО НИИЭМ ИМЕНИ ПАСТЕРА

С.Л. Мукомолов, Н.В. Железнова, Е.В. Синайская, В.В. Герасимова, А.Ю. Грибанов

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Молекулярно-эпидемиологическое изучение возбудителей вирусных гепатитов началось в Санкт-Петербургском НИИЭМ имени Пастера в 1997 г., когда совместно со специалистами Национального института здравоохранения Финляндии (Irja Davidkin, Sari Jokinen, Mia Kontio) были получены первые результаты секвенирования участков VP1/2A и VP1 вируса гепатита А (ГА). С тех пор ведется постоянный мониторинг циркулирующих штаммов вируса ГА в Санкт-Петербурге, и более 100 изолятов депонированы в международном GeneBank. Продемонстрировано, что в циркуляцию постоянно входят как новые штаммы доминирующего субтипа HAV 1A, так и необычные штаммы импортированных субтипов 1B (Египет) и 11A (Центральная Азия). С помощью молекулярно-эпидемиологических приемов расшифрована крупная пищевая вспышка ГА в Санкт-Петербурге в 2005 г., вызванная субтипом 1A.

Изучение изолятов вируса гепатита В (ГВ) ведется с использованием лимитированного секвенирования участка pre-S-S генома вируса, а также с помощью технологий ПЦР-молекулярной гибридизации (Innogenetics, Бельгия) участков pre-S-S, pre-C-C и Р генома HBV. Показано, что в Санкт-Петербурге циркулируют изоляты вируса ГВ, принадлежащие к 4 субтипам — D1, D2, D3 и А2. Важно, что изоляты субтипа D1 характерны для Центральной Азии, и ранее они не выявлялись в Санкт-Петербурге. В Республике Саха (Якутия) выявлены достаточно необычные для Российской Федерации изоляты вируса ГВ генотипа С, а также случаи одновременного инфицирования вирусами генотипов А и D, D и С. Одной из особенностей циркулирующих изолятов вируса ГВ генотипа D является высокая частота (до 40%) мутаций в области pre-C-C. Такие изоляты вируса выделяются как от больных с хронической формой инфекции, так и от пациентов с острым ГВ.

Исследования по молекулярной эпидемиологии гепатита С (ГС) выполняются с конца 90-х годов прошлого века в тесном сотрудничестве со шведскими

специалистами (Lars Magnus, Helene Norder, Tatjana Tallo). Впервые в Санкт-Петербурге была установлена структура циркулирующих генетических вариантов вируса ГС (HCV 1b, 2a, 2c, 3a) и продемонстрировано нарастание доли субтипа 3a, связанного с ростом числа заражений в среде лиц, использующих парентеральное введение наркотических препаратов. В настоящее время вирусы этого субтипа проникли в отделения гемодиализа и в некоторых из них даже потеснили традиционно циркулирующие в таких отделениях изоляты субтипа 1b.

### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА IL-28В И IFNL4 СРЕДИ НАЦИОНАЛЬНОСТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УЗБЕКИСТАНЕ, И ЕГО КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИИ

Э.И. Мусабаев, М.И. Рахманов, Г.З. Усманова  
НИИ вирусологии МЗ, Ташкент, Узбекистан

**Введение.** На сегодняшний день интерферонотерапия является стандартным подходом к лечению хронического вирусного гепатита С (ВГС). Лечение довольно дорогое, сопряжено с высоким риском развития побочных эффектов и неэффективно у определенной доли пациентов. В недавних исследованиях была показана роль полиморфизма единичного нуклеотида (SNP) в локусе IFNL3/IL-28В в качестве значимого прогностического критерия эффективности лечения ВГС. Была обнаружена связь между недавно обнаруженным геном IFNL4 и вариациями, связанными с ним, и спонтанной элиминации ВГС.

Цель данного исследования — изучение распространенности и клиническое значение SNP в аллелях IFNL3/IL28В и IFNL4 среди популяции Центрально-Азиатского региона, представляющего собой регион с развивающейся экономикой и высокой распространенностью ВГС среди всего населения и групп риска.

**Методы.** Всего в исследование в Узбекистане было включено 135 человек с хроническим ВГС. ДНК была получена путем экстракции из клеток периферической крови. SNP в локусах IFNL3/IL-28В (rs8099917, rs12979860) были подвергнуты генотипированию с помощью InvaderPlus assay, TaqMan, с последующим подтверждением методом секвенирования. Регион гена IFNL4 ss469415590 также был подвергнут секвенированию.

**Результаты.** Среди 135 пациентов, получавших терапию пегилированным интерфероном в сочетании с рибавирином в течении 24 и 48 недель, 87,4% были представителями народов Центральной Азии и 12,6% — представителями народов Восточно-Европейского региона. Отрицательный вирусный ответ на лечение был отмечен у 21,2% центрально-азиатов и 35,3% у европейцев ( $p = 0,32$ ). Лучшим прогностическим критерием среди всех исследованных был rs12979860 (ОШ 5,2; 95% ДИ 1,9–14,6;  $p = 0,004$ ), а для центрально-азиатов — rs 8099917 (ОШ 6,85; 95% ДИ 2,6–18,0;  $p = 0,002$ ). Генотипическая распространенность ss469415590 на 99% соответствовала таковой при rs12979860 среди всего обследованного контингента.

**Заключение.** Хотя IFNL3/IL-28В и IFNL4 имеют сильную связь с исходом лечения среди центрально-азиатской популяции, статистически значимую связь у европейцев выявить не удалось по причине малого количества наблюдений.

### BORRELIA MIYAMOTOI В КЛЕЩАХ НА ТЕРРИТОРИИ СРЕДНЕГО УРАЛА И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Т.А. Мухачева, С.Ю. Ковалев

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Спирохеты комплекса *Borrelia burgdorferi* s.l. являются возбудителями иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ). В настоящее время на Урале и в Сибири распространены 2 вида боррелий этого комплекса, патогенных для человека — *B. afzelii* и *B. garinii*. Однако известно, что в клещах на всех эндемичных по ИКБ территориях встречается *B. miyamotoi*, впервые выделенная в Японии в 1995 г. и филогенетически принадлежащая группе клещевых возвратных лихорадок (КВЛ). В 2010 г. было показано, что *B. miyamotoi* может являться основным агентом, вызывающим безэритемные формы ИКБ (Карань, 2010). Целью настоящей работы стала разработка системы детекции *B. miyamotoi* путем проведения ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) и исследование выборки клещей на предмет наличия в них данного вида.

Оценка видового разнообразия боррелий разработанной методикой проводилась для одиночных клещей, собранных на территории Свердловской (559 особей) и Тюменской (357) областей, а также выборочно на территории Пермского края (район г. Чердынь — 81, г. Кунгур — 65). В качестве мишени был выбран ген *gfpQ*, присутствующий исключительно в геноме боррелий КВЛ, для исключения возможности получения ложнопозитивных результатов.

Средняя зараженность клещей боррелиями *Borrelia sp.* составила 44,25%. Встречаемость *B. miyamotoi*, выявленная в настоящем исследовании, оказалась неожиданно высокой в Свердловской области — 14,36% (Тюменская область и Пермский край — 5%). Это противоречит данным других исследователей, обычно обнаруживающих данный вид в клещах с частотой менее 5% (на всем ареале, включая Европу, Азию и Северную Америку). В частности, ранее было показано, что частота встречаемости *B. miyamotoi* в г. Екатеринбург составляет 0,9% (Platonov, 2011), в то время как в настоящем исследовании она достигала 18,2%. Таким образом, встречаемость *B. miyamotoi* должна быть подвергнута более тщательному изучению для выяснения вопроса, является ли высокая зараженность клещей *B. miyamotoi* местной особенностью или следствием несовершенства систем детекции этого вида.

В перспективе предложенная система может быть адаптирована для определения видов боррелий в клиническом материале.

Исследование было выполнено при поддержке гранта РФФИ 12-04-31263\_мол\_а.

### МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ В СИСТЕМЕ НАДЗОРА ЗА ТУБЕРКУЛЕЗОМ

О.В. Нарвская, И.В. Мокроусов, А.А. Вязовая

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В 90-х годах XX века были идентифицированы основные генетические маркеры вариабельности штаммов и полностью расшифрована нуклеотидная последовательность хромосомной ДНК *M. tuberculosis*, что способствовало разработке инновационных методов генотипирования возбудителя и развития мо-

лекулярной эпидемиологии (МЭ) туберкулеза (ТБ). МЭ исследования популяций возбудителя обеспечивают получение новых, не достижимых другими методами, знаний о динамике распространения туберкулеза в обществе. Генотипирование изолятов *M. tuberculosis* позволяет решить следующие задачи:

- оценка распространенности различных генотипов в популяциях *M. tuberculosis*, выявление доминирующих штаммов и определение уровня их кластеризации как показателя эффективности программ контроля туберкулеза;
- выявление новых очагов ТБ инфекции, скрытых эпидемиологических связей между заболеваниями (передача возбудителя при территориальной разобщенности больных);
- оценка влияния миграции как источника инфекции в приграничных регионах и мегаполисах (определение соотношения недавнего заражения и/или реактивации туберкулезного процесса у иммигрантов в связи с потенциальной угрозой завоза мультirezистентных штаммов *M. tuberculosis* на территории страны);
- оценка роли пенитенциарной системы в распространении инфекции среди гражданского (постоянного) населения;
- проверка качества мероприятий по инфекционному контролю в лечебных противотуберкулезных учреждениях (анализ распространения внутрибольничной инфекции и случаев заболевания персонала);
- контроль качества лабораторных исследований (выявление ложноположительных результатов микробиологических исследований).

МЭ исследования способствуют повышению эффективности как противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение новых случаев инфицирования и заболеваний в окружении больного, так и оперативного эпидемиологического анализа и прогноза в системе эпидемиологического надзора за туберкулезом в условиях широкого распространения МЛУ штаммов возбудителя эпидемиологически и клинически значимых генотипов.

### ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА — НОВОЕ ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А.А. Нафеев<sup>1,2</sup>, Г.В. Салина<sup>1</sup>, Н.В. Савельева<sup>1</sup>,  
В.И. Аббязова<sup>1</sup>, В.А. Никишин<sup>1</sup>, Л.М. Киселева<sup>2</sup>,  
С.Л. Мерцалова<sup>2</sup>, Д.А. Хакимова<sup>3</sup>, Г.М. Айнутдинова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области, г. Ульяновск

<sup>2</sup>Ульяновский государственный университет

<sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора в Ульяновской области, г. Ульяновск

На территории Ульяновской области лихорадка Западного Нила (ЛЗН), как природно-очаговая инфекция стала известна в 2006 г., когда был зарегистрирован первый случай заболевания у подростка в сельском районе (диагноз подтвержден иммуноферментным методом). С этого момента был организован ежегодный иммунологический мониторинг обследования населения с целью установления широты циркуляции вируса ЛЗН среди населения Ульяновской области — иммунная прослойка населения в среднем по области составляет 2,8%. В последние годы вирус ЛЗН становится все более агрессивным и вызывает заболевания

даже в тех регионах Российской Федерации, в которых он не был ранее известен. В эпидемический процесс только в 2012 г. включены 8 субъектов, в числе которых и Ульяновская область. В организации эффективного эпидемиологического надзора за ЛЗН важнейшее значение имеют методы лабораторной диагностики. В 2012 г. в Ульяновской области было зарегистрировано 4 случая, все дети до 14 лет (возраст заболевших 2, 3, 5 и 11 лет). Все случаи (3 случая в г. Ульяновске и 1 случай в Тереньгульском районе) были включены в официальную статистическую отчетность после лабораторного подтверждения в Референс-центре РФ по ЛЗН (ФКУЗ «Волгоградский НИПЧИ»). При этом следует обратить внимание, что только использование метода генодиагностики (ПЦР) позволило подтвердить ЛЗН — выявление РНК «Амплисенс WNV-FL» (производство ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), антитела (IgM и IgG) к вирусу Западного Нила (метод ТИФМС с помощью тест-систем Euroimmun AG, Германия) не были обнаружены.

### СМЕНА ПРЕВАЛИРУЮЩЕГО СЕРОТИП/ГЕНОТИПА КАК МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ

Н.А. Новикова

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

Особенностью энтеровирусной (неполио) инфекции является широкий спектр заболеваний (от легкой простуды до опасного для жизни состояния полиорганной недостаточности), вызываемых энтеровирусами (ЭВ) 4-х видов (А, В, С, D), каждый из которых представлен множеством серотипов/генотипов и геновариантов. ЭВ разных типов характеризуются разной контагиозностью, вирулентностью и иммунорезистентностью, что определяет разную активность их циркуляции и возможность перераспределения во времени.

По результатам молекулярно-генетического «серотипирования» проведен анализ особенностей циркуляции энтеровирусов разных типов на территории европейской части Российской Федерации в период 2007–2012 гг. в сопоставлении с многолетней динамикой заболеваемости энтеровирусной инфекцией (данные официальной статистики). Материалы для исследования поступали с территорий 23 субъектов 6-ти федеральных округов РФ. Тип ЭВ определен в 1300 образцах, идентифицировано 50 серотипов/генотипов ЭВ. Превалирующими типами энтеровирусов на разных территориях явились E30, E6, E7, E9, CA9, CA6, 16, CB2, CB4, CB5. Установлено наличие ежегодной смены преобладающего типа ЭВ. В период 2007–2012 гг. последовательность сменяющихся друг друга типов была следующей: E30 — E9 — CA9 — CA6, CA16 — E6. «Волны» активной циркуляции преобладающих типов энтеровирусов наблюдались на фоне плавного снижения заболеваемости ЭВИ, начиная с 2007 г. вплоть до 2010 г., и сопровождалась снижением заболеваемости серозным менингитом и увеличением частоты легких форм инфекции. В 2011–2012 гг., параллельно с распространением вируса E6, наметился рост заболеваемости серозным менингитом.

Таким образом, эпидемический процесс энтеровирусной инфекции на территории европейской части России в период 2007–2011 гг. поддерживался

сменой превалирующего типа энтеровируса с вектором снижения нейровирулентности. В 2011–2012 гг. наметилась тенденция роста заболеваемости серозным менингитом, что может быть связано, в том числе, с начавшимся распространением эпидемического варианта вируса Е6.

### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АСТРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2012 г.

И.В. Овсянникова<sup>1</sup>, Л.Н. Пожидаева<sup>2</sup>, О.Н. Куваева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Санкт-Петербурге

Уровень заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) в России остается высоким. По данным ВОЗ более 70% всех кишечных инфекций имеют вирусное происхождение. В России рота- и норовирусные инфекции регистрируются в качестве самостоятельных нозологических форм, астровирусные диареи входят в группу «другие вирусные ОКИ». В 2012 г. в Санкт-Петербурге было зарегистрировано 448 случаев ОКИ, вызванных «другими вирусами» (9,1 на 100 000), в том числе у детей до 17 лет — 187 случаев (19,6 на 100 000). Значительную долю в этой группе составляет астровирусная инфекция, занимающая третье место по частоте возникновения, уступая только рота- и норовирусным диареем.

Эпидемиологический анализ 133 очагов астровирусной инфекции зарегистрированных у госпитализированных больных в Санкт-Петербурге в 2012 г. отделом учета инфекционных и паразитарных заболеваний показал, что астровирусы явились единственным возбудителем, вызвавшим диарею в 78 очагах (59%), в 55 очагах (41%) — входили в ассоциации с другими патогенами. При одновременном обнаружении нескольких возбудителей ОКИ в очагах астровирусной инфекции отмечены два вида ассоциаций: вирусно-вирусные (26 очагов, 19%) и вирусно-бактериальные (29 очагов, 22%). В половине очагов с вирусно-вирусными ассоциациями одновременно выделялись астро- и норовирусы, что составило 25,6% от числа всех микст-очагов астровирусной инфекции. Нередко возникали ассоциации астро- и ротавирусов (9,1%), астро- и аденовирусов (7,3%), реже — астро- и энтеровирусов (1,8%). Выявлены единичные случаи одновременного обнаружения трех вирусных возбудителей ОКИ у одного больного (3,6%) — астро-, норо- и ротавирусов; астро-, рота- и энтеровирусов. В вирусно-бактериальных ассоциациях чаще всего наряду с астровирусами обнаруживались сальмонеллы (10,9%), кампилобактерии (9,1%), условно-патогенная флора (9,1%), реже — эшерихии (3,6%), шигеллы (3,6%), клебсиеллы (3,6%) и иерсинии (1,8%). В шести очагах (10,9%) у больных выделяли два вирусных возбудителя и один бактериальный. Из бактериальных возбудителей ОКИ в очагах астровирусной инфекции с тройными ассоциациями отмечены сальмонеллы, шигеллы, кампилобактерии. Астровирусная моноинфекция регистрировалась с одинаковой частотой у детей и взрослых. Вирусно-вирусные и вирусно-бактериальные ассоциации в 1,9 раза чаще регистрировались у взрослых, что может быть связано со снижением инфекционного иммунитета и наличием сопутствующих заболеваний.

Таким образом, подтверждена актуальность астровирусной инфекции для Санкт-Петербурга, выявлена значительная часть очагов с полимикробными ассоциациями (41%). Полиэтиологичность значительной части вирусных ОКИ необходимо учитывать при организации санитарно-эпидемиологических мероприятий в очагах и выборе тактики лечения больных.

### МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МОНИТОРИНГ ДНК Mycobacterium tuberculosis для раннего прогнозирования неблагоприятных исходов больных ВИЧ/ТБ-инфекцией

О.Б. Огарков<sup>1</sup>, С.Н. Жданова<sup>1</sup>, Е.Ю. Зоркальцева<sup>2</sup>,  
Е.Д. Савилов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, г. Иркутск

<sup>2</sup>ГБОУ ДПО Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования

Для ВИЧ-положительных лиц активация латентного туберкулеза или суперинфекция эпидемическими штаммами с МЛУ (множественной лекарственной устойчивостью) является важнейшим фактором риска развития летальной туберкулезной инфекции.

Объект исследования: больные ВИЧ/ТБ-инфекцией — 55 человек и контрольная группа ВИЧ-негативных больных ТБ — 178 человек из Иркутской области.

Цель: поиск молекулярных маркеров для раннего прогнозирования неблагоприятных исходов у больных ВИЧ/ТБ инфекцией.

Методы. Определение чувствительности МБТ к антибиотикам S, H, R, E, K и Ea. Генотипирование ДНК микобактерий методом MIRU-VNTR12. ПЦР с ДНК МБТ в мокроте (GeneXpert DX) и «АмплиСенс МБТ». Генотипирование МБТ до ответа генотип «Пекин/не-Пекин» методом RD105/RD207 дифференцировки.

Результаты. Определены MIRU-VNTR генотипы и проведена филогенетическая реконструкция эволюционных взаимоотношений выявленных генотипов. Показана высокая трансмиссивность субтипов «Пекин» (Beijing) MIT16 и MIT17. Филогенетический анализ не выявил различий в профилях MIRU-VNTR ВИЧ-положительных от ВИЧ-негативных. Однако больные с ВИЧ-инфекцией были достоверно чаще заражены генотипом Beijing по сравнению с ВИЧ-негативными (78,6 и 63%;  $\chi^2 = 3,95$ ,  $p = 0,05$ ). Обнаружено преобладание МЛУ у генотипа Beijing MIT17 по отношению ко всем остальным генотипам, независимо от ВИЧ-статуса пациента ( $\chi^2 = 6,2$ ,  $p = 0,01$ ).

Исследовано 150 образцов мокроты от 38 ВИЧ-положительных и 112 ВИЧ-негативных пациентов на ДНК МБТ и мутаций устойчивости к рифампицину (GeneXpert DX). Эти же образцы были исследованы на наличие ДНК МБТ («АмплиСенс МБТ») и генотипы по RD105/RD207 регионам. Специфичность выявления ДНК микобактерий на GeneXpert, с помощью «АмплиСенс МБТ» и методом RD105/RD207 составила 100%. Чувствительность выявления ДНК МБТ значительно различалась. Наиболее чувствительным оказался набор «АмплиСенс МБТ», показавший 100% специфичность и чувствительность. Исследование на GeneXpert и методом RD105/RD207 выявили чувствительность 80 и 35% соответственно.

Делается вывод о необходимости разработки молекулярных диагностикомов с высокой чувствительностью, направленных не только на определение

в мокроте ДНК микобактерий и мутаций устойчивости к рифампицину, но и выявление высокотрансмиссивных субтипов возбудителя туберкулеза, таких как Beijing MIT16 и MIT17.

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ПИДОТИМОД У ДЕТЕЙ, ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

И.А. Ольков<sup>1</sup>, М.А. Болков<sup>2</sup>, И.В. Рябухин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций  
Роспотребнадзора

<sup>2</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,  
г. Екатеринбург

Проведено контролируемое обследование 40 часто болеющих ОРВИ детей в возрасте 3–10 лет. I группа получала иммуномодулирующий препарат Пидотимод и поливитамины, II группа — поливитамины. После терапии в I группе продолжительность острого периода заболевания снизилась до 5,2 суток, у 71,4% детей была легкой, у 28,6% средней степени тяжести, во второй группе соответственно — 12,6 суток, 89% и 11%. В I группе отпала необходимость приема антибиотиков, во II группе 65% детей продолжали их принимать.

Иммунологические показатели у детей I группы имели достоверные отличия от II: увеличено абсолютное количество лейкоцитов ( $7,0 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$ ), палочкоядерных нейтрофилов ( $0,05 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ); сегментоядерных нейтрофилов ( $2,64 \pm 0,22 \times 10^9/\text{л}$ ); нейтрофилов ( $2,69 \pm 0,23 \times 10^9/\text{л}$ ). Отмечено увеличение относительного количества CD19<sup>+</sup> лимфоцитов ( $17,55 \pm 1,02\%$ ), относительного и абсолютного содержания Т-лимфоцитов ( $0,93 \pm 0,22\%$  и  $0,04 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ), снижение абсолютного и относительного количества показателей ранней активации лимфоцитов — CD25<sup>+</sup> ( $2,72 \pm 0,23\%$  и  $0,1 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ), стимулированного фагоцитарного числа ( $67,9 \pm 2,88\%$ ). Во II группе наблюдалось уменьшение относительного числа базофилов ( $0,26 \pm 0,13\%$ ), увеличение субпопуляционного индекса —  $1,46 \pm 0,1$  ( $p < 0,05$ ). Между группами не было выявлено достоверных отличий по наличию вирусных антигенов и антител после лечения ( $p > 0,05$ ).

Заключение. Препарат Пидотимод, не обладая противовирусным действием, сокращает длительность, уменьшает тяжесть заболевания, количество симптомов инфекций верхних дыхательных путей и исключает потребность в приеме антибиотиков. Эффективен при лечении часто болеющих ОРВИ детей, поскольку позволяет компенсировать отмеченную при этом клеточную недостаточность и нормализует ряд иммунологических параметров.

### КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *ER1* И *TNFA* У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Ю.В. Останкова<sup>1</sup>, Т.Э. Иващенко<sup>2</sup>, О.В. Лаврова<sup>3</sup>,  
В.С. Баранов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

<sup>2</sup>НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН,  
Санкт-Петербург

<sup>3</sup>НИИ пульмонологии СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова,  
Санкт-Петербург

Бронхиальная астма (БА) — мультифакторное заболевание, частота которого в РФ составляет 3,8 на 1000 человек. Современная трактовка БА исходит

из воспалительной теории, согласно которой патогенетическую основу заболевания составляет воспалительная реакция. Важная роль в этиопатогенезе БА отводится генетическим факторам. Целью данной работы было изучение особенностей частот аллельного полиморфизма генов *ER1* и *TNFA* и их сочетаний у пациентов с atopической БА и в зависимости от тяжести течения заболевания.

Методом ПЦР/ПДРФ анализа изучены полиморфные варианты генов *ER1* [–351A>G полиморфизм (XbaI)] и [–397 C>T полиморфизм (PvuII)], *TNFA* (–308A/G полиморфизм) у 78 больных atopической БА с манифестацией заболевания до 18 лет и у 115 человек, не имеющих хронических заболеваний органов дыхания. Статистический анализ осуществляли с применением GraphPad Prism 6. Для сравнения частот генотипов и аллелей использовали  $\chi^2$  и точный критерий Фишера, применяли коэффициент соотношения шансов (odds ratio — OR), показывающий во сколько раз выше вероятность развития заболевания при наличии определенного генотипа

Показано, что генотипы Xx и Pp гена *ER1* чаще встречались у больных БА со средней тяжестью течения (Xx — 82%, Pp — 91%), по сравнению с контрольной группой (Xx — 44%, Pp — 48%), риск развития заболевания повышен в 5 раз для Xx (OR = 5,1;  $p = 0,02$ ) и более чем в 10 раз для Pp (OR = 10,7;  $p = 0,009$ ). Анализ сочетания показал увеличение частоты генотипа XxPp у больных БА со средней тяжестью течения (82%) по сравнению с популяцией (31%). Риск развития составил OR = 9,8 ( $p = 0,001$ ).

Анализ распределения аллелей G-308A полиморфизма гена *TNFA* выявил увеличение частоты аллеля A у больных БА (17%) по сравнению с популяцией (5%) (OR = 4,4;  $p = 0,0003$ ), особенно в подгруппе со средним течением БА (27%) (OR = 7,9;  $p = 0,001$ ).

Генотип A-Xx у больных с легкой (25%) (OR = 6,2;  $p = 0,005$ ) и средней (27%) (OR = 10,6;  $p = 0,004$ ) тяжестью течения встречался чаще чем в контроле (5%). Сочетание A-Pp у больных с легкой тяжестью течения 25% (OR = 12,7;  $p = 0,0008$ ), у больных со средней тяжестью течения 45% (OR = 31,9;  $p < 0,0001$ ) по сравнению с контролем 3%. Частота сочетанного генотипа A-PpXx повышена у больных (22%) по сравнению с популяцией (3%). Риск развития БА OR = 11,09 ( $p < 0,0001$ ). Риск развития заболевания при A-XxPp в подгруппе со средней тяжестью течения снижен по сравнению с A-Pp (OR = 21,9;  $p = 0,0009$ ).

### ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ИНФЕКЦИЙ, ПРОТЕКАЮЩИХ С TORCH-СИНДРОМОМ, У НОВОРОЖДЕННЫХ АКУШЕРСКОГО СТАЦИОНАРА

Т.В. Осьмирко, Л.В. Лялина

ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

В последние годы в структуре репродуктивных потерь (перинатальная смертность, невынашивание беременности) значительно возросла роль внутриутробных инфекций. В связи с этим проблема профилактики заболеваний, протекающих с TORCH-синдромом, у новорожденных приобретает особое

значение, поскольку указанные инфекции нередко являются причиной формирования грубых нарушений развития плода, преждевременных родов и смерти недоношенных детей в раннем неонатальном периоде.

Целью исследования явилось определение распространенности инфекций, протекающих с TORCH-синдромом у новорожденных, связанных с внутриутробным инфицированием.

Проведено комплексное клинико-лабораторное и эпидемиологическое исследование 183 пар мать и дитя, находившихся в детском реанимационном отделении в 2010–2012 гг. на базе акушерского стационара Санкт-Петербурга. Стационар специализируется на оказании медицинской помощи беременным, поступающим с диагнозом преждевременных родов, и новорожденным с экстремально низкой массой тела. Изучены особенности течения беременности и родов у 183 женщин и раннего неонатального периода у 183 новорожденных. Все пары мать и дитя были обследованы на TORCH-инфекции (8 нозологических форм), методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ЗАО «Вектор Бест» и полимеразной цепной реакции. Забор материала для исследования проводили на основе информированного согласия матери. Все материалы подвергнуты эпидемиологическому анализу и статистической обработке с использованием общепринятых методов вариационной статистики.

Результаты исследования показали, что общая частота выявления лабораторно подтвержденных случаев TORCH-инфекций среди новорожденных с клиническими проявлениями, характерными для внутриутробной инфекции, составила 33,3%. У 38 новорожденных (20,8%) диагностирована микст-инфекция, обусловленная цитомегаловирусом (ЦМВ) и герпесвирусами 1, 2 типов (ВПГ 1, 2). В 6,6% случаев выявлена врожденная цитомегаловирусная инфекция, вызванная только ЦМВ и 1,6% только ВПГ 1, 2 типов. Кроме того, выявлено 3 случая (1,6%) врожденного кандидоза, 2 случая (1,1%) уреоплазменной инфекции и по 1 случаю врожденного токсоплазмоза, листериоза и хламидийной инфекции. Синдром врожденной краснухи не был диагностирован. Для совершенствования надзора и профилактики инфекций, протекающих с TORCH-синдромом у новорожденных, необходим систематический анализ результатов пренатального скрининга и заболеваемости беременных.

#### **ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА БЕШЕНСТВА В ЛИПЕЦКОЙ ОБЛАСТИ**

Ю.В. Очкасова<sup>1,4</sup>, И.А. Ходякова<sup>1,4</sup>, И.А. Щукина<sup>1,4</sup>, С.И. Савельев<sup>1,4</sup>, А.Г. Голенских<sup>2</sup>, Е.М. Полещук<sup>3</sup>, Г.Н. Сидоров<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Управление Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Липецкой области

<sup>2</sup>Управление ветеринарии по Липецкой области, г. Липецк

<sup>3</sup>ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора

<sup>4</sup>ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург

Активность Среднерусского природноочагового региона бешенства определяет особенности эпизоотического процесса в Центральном и Центрально-

Черноземном регионах. В 2007–2011 гг. Липецкая область, наряду с Белгородской и Московской областями, являлась самой неблагополучной по бешенству животных в стране (5,7 случаев на 1000 км<sup>2</sup>).

В области выявлена средняя степень корреляционной связи между заболеваемостью животных бешенством и численностью лисицы ( $r = 0,55$ ;  $p < 0,05$ ). При выявлении взаимозависимости течения эпизоотического процесса бешенства на всех приграничных территориях была установлена высокая достоверная степень корреляционной зависимости ( $r = 0,65-0,9$ ;  $p < 0,05$ ).

В 2001–2010 гг. в Липецкой области бешенство было зарегистрировано у 13 видов животных, доля лисицы красной составляла более 50%. Изолированы и изучены 14 штаммов вирусов бешенства от 8 лисиц, 3 кошек и 3 голов КРС. Вирусы были выделены на белых мышках, идентифицированы с помощью МФА и ИФА. РНК выделяли из головного мозга мышей с использованием реагента TRIZol (Gibco-BRL, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA). Молекулярно-генетические исследования проводились в ЦКП СО РАН «Геномика» на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск), ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва). Для 4-х изолятов была получена структура полного генома, анализ проведен с помощью программы SLC Genomics workbench 5. Полученные данные направлены в GenBank для депонирования

Установлено, что вирусы из области входят в кластер, объединяющий подгруппу степных вирусов с bootstrap-поддержкой 100%. Изоляты отличаются высоким уровнем гомологии (до 100%), что свидетельствует об обмене вирусами между территориями. Для всех административных территорий области рекомендуются мероприятия, направленные на контроль состояния популяций хозяина. Целесообразно разработать единый план взаимодействия по профилактике бешенства между соседними регионами.

#### **ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS* С ДЕЛЕТИРОВАННЫМ ГЕНОМ *recA***

В.М. Павлов, В.С. Тимофеев, А.Н. Мокриевич, А.А. Лапин, Г.М. Вахрамеева, Т.И. Комбарова, И.В. Бахтеева, И.А. Дятлов

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область

Для профилактики туляремии в РФ используется живая вакцина, созданная на основе штамма *F. tularensis* 15. Анализ нуклеотидной последовательности генома штамма *F. tularensis* LVS, производного штамма *F. tularensis* 15, показал наличие *recA*-подобного гена. Известно, что инактивация белка RecA в туберкулезном вакцинном штамме BCG приводит к стабилизации его вакцинных свойств. В данной работе были изучены иммунобиологические свойства *F. tularensis* 15 с делетированным методом аллельного обмена *recA*-подобным геном. Показано, что делеция *recA* гена приводит к репрессии механизма рекомбинации в тулярийном микробе. Удаление гена *recA* из генома *F. tularensis* 15 привело к десятикратному снижению вирулент-

ности по сравнению с исходным штаммом, но не изменило протективных свойства штамма и не повлияло на культурально-морфологические свойства культур при выращивании на плотных и жидких питательных средах, а также в мышинных макрофагоподобных клетках линии J774.A1.

Клетки *F. tularensis* 15/10Δ*recA* обладают повышенной чувствительностью к УФ-облучению по сравнению с исходным штаммом *F. tularensis* 15, при этом введение плазмиды pHV33-mob/*recA* с геном *recA* в клетки *F. tularensis* 15/10Δ*recA* полностью восстанавливает устойчивость бактерий к УФ-облучению. У модифицированного штамма по сравнению с исходным штаммом не изменились уровни чувствительности к перекиси водорода и бактерицидной активности нормальной клеточной сыворотки.

Мутантный штамм не утратил способности к размножению в макрофагоподобных клетках J774.A1, что важно для формирования в организме хозяина клеточного иммунитета. Аттенуирование на порядок при сохранении протективных свойств можно рассматривать как положительный признак для живой вакцины, а существенное снижение способности к гомологичной рекомбинации позволяет говорить о стабилизации полезных качеств штамма.

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ MALDI-TOF/MS ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ АНТАРКТИДЫ

А.Л. Панин<sup>1</sup>, А.В. Наумик<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГЗВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова  
МО РФ, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Изучение микробиоты во внешней среде на территориях размещения объектов Советской и Российской антарктической экспедиции (РАЭ) продолжается более 50 лет. Однако до настоящего времени нет достаточной информации о микробных сообществах, характерных для этого региона. Объективными причинами таких фрагментарных сведений являются трудности культивирования многочисленных видов микроорганизмов в отрыве от стационарных лабораторий. Поэтому при длительных экспедициях все более актуальным становится сохранение нативных образцов и выделенных чистых культур психрофильных микроорганизмов до возвращения экспедиции. Разнообразие микробной флоры Антарктиды, в том числе имеющей санитарно-эпидемиологическое значение, требует использования экспрессных и чувствительных методов идентификации микроорганизмов в ходе сезонных работ. Цель работы: идентификация штаммов микроорганизмов, изолированных из внешней среды объектов РАЭ с помощью технологии MALDI-TOF/MS. Использовалась матрица (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation — MALDI) во времяпролетном масс-спектрометре (time-of-flight mass spectrometers — TOF/MS), позволяющая на основе полученного масс-спектра штамма микроорганизма сделать выводы о его молекулярной массе, составе и структуре. Проводили исследование на приборе «Bruker Daltonics» с чувстви-

тельностью в диапазоне 10–20 нмолей. Подготовку пробы проводили за 15–30 мин, скорость регистрации и обработки сигнала — 1–2 мин. Результаты выдаются в виде масс-спектров и числовых значений, что удобно для математической обработки и наглядности. Вид микроорганизма автоматически определяется с помощью компьютерной программы на основании сверки полученных сигналов с имеющейся базой данных. Вместительность одного чипа — 96 проб, что вполне достаточно для обследования одной научной станции или полевой базы за день работы. Во время 56 РАЭ (2010–2011 гг.) было отобрано и доставлено в Санкт-Петербург 198 штаммов микроорганизмов. После классических методов идентификации микроорганизмов остались неопознанными 30 штаммов, которые были изучены с помощью MALDI-TOF/MS. В результате исследования идентифицированы 15 штаммов *Serratia* двух видов: *S. liquefaciens* и *S. grimesii*; 2 штамма *Staphylococcus sciuri*, 3 штамма *Citrobacter freundii*, 10 штаммов *Lactobacillus*. Таким образом, для полной идентификации большого количества проб микроорганизмов (представителей различных семейств) в ограниченных временных сроках экспедиционных работ целесообразно использование технологии MALDI-TOF/MS.

#### ВЫЯВЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ В КЛЕЩАХ *DERMACENTOR SP.* НА ТЕРРИТОРИИ УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ю.А. Панферова<sup>2</sup>, А.Н. Столярова<sup>1</sup>, А.А. Нафеев<sup>1</sup>,  
Н.К. Токаревич<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГУ Центр госсанэпиднадзора в Ульяновской области,  
г. Ульяновск

<sup>2</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

На территории Ульяновской области расположены очаги нескольких природно-очаговых инфекций, включая лихорадку Ку и иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), которые представляют наиболее актуальные проблемы в краевой инфекционной патологии. Специфическими переносчиками боррелий (возбудители ИКБ) являются иксодовые клещи, которые также участвуют в циркуляции коксиилл и других патогенов в природных очагах. Расширение ареала инфицированных клещей в значительной мере обуславливает тенденцию роста заболеваемости и распространение природно-очаговых инфекций на новые территории. Целью данного исследования была оценка зараженности клещей рода *Dermacentor sp.* возбудителями коксииллезной инфекции и боррелиоза.

Материалом для исследования послужили 150 имаго (111 особей *Dermacentor pictus*, 39 — *Dermacentor marginatus*), собранные в эпидемиологические сезоны 2011–2012 гг. в эндемичных по ИКБ районах Ульяновской области. Образцы тотальной ДНК выделялись из образцов индивидуально. Для детекции ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato* проводили двухраундовую ПЦР с праймерами к фрагменту гена *flaA*; для детекции ДНК *Coxiella burnetii* проводили стандартную ПЦР с праймерами к генам *groEL* и *IS1111*. ДНК боррелий была обнаружена в шести пробах (4%), инфицированность боррелиями клещей *D. pictus* составила 3,6%, *D. marginatus* — 5,1%. ДНК коксиилл в исследованных образцах не обнаружена.

Полученные в результате исследования данные свидетельствуют об участии клещей рода *Dermacentor* в циркуляции боррелий в природных и природно-хозяйственных очагах на территории Ульяновской области. Установление роли и значения клещей *Dermacentor sp.* в формировании и поддержании очагов коксиеллезной инфекции в регионе требует дальнейших исследований и изучений.

#### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕННЫХ ЛЕПТОСПИР СЕРОГРУППЫ *ICTEROHAEMORRHAGIAE*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ЛЕНИНГРАДА — САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Ю.А. Панферова<sup>1</sup>, Т.А. Лукьянова, Н.А. Стоянова,  
Н.К. Токаревич

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

Лептоспироз — повсеместно распространенная зооантропонозная инфекция, относящаяся к группе «возвращающихся» заболеваний. При некоторых этиологических формах (*Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*) заболевание протекает особенно тяжело. В этиологической структуре лептоспироза у людей на территории Санкт-Петербурга на протяжении последних 70 лет были представлены лептоспиры различных серогрупп, однако одной из доминирующих оставалась серогруппа *Icterohaemorrhagiae*. Стоит отметить, что до настоящего момента генетические особенности российской популяции лептоспир остаются мало изученными. Целью настоящего исследования была характеристика штаммов патогенных лептоспир, принадлежащих к серогруппе *Icterohaemorrhagiae*, выделенных от пациентов на территории Ленинграда — Санкт-Петербурга в период 1943–2005 гг. с помощью анализа вариабельных тандемных повторов (VNTR).

Была проанализирована выборка из 15 штаммов с использованием в качестве полиморфных маркеров локусов тандемных повторов *vntr\_11* и *vntr\_23*. ДНК из живых культур лептоспир выделялась по стандартным методикам, амплификация геномных фрагментов, несущих локусы VNTR, проводилась в режиме стандартной ПЦР, размер локусов производился после электрофоретического разделения продуктов ПЦР в 2% агарозном геле. Было обнаружено 3 варианта маркера *vntr\_11* и 4 варианта — *vntr\_23*. Всего было обнаружено 6 аллельных вариантов по двум полиморфным локусам. Штаммы, выделенные в период 1943–1991 гг. были представлены доминирующим геновариантом I и в меньшей мере — геновариантом II. Уникальные геноварианты (III, V, VI) были обнаружены у штаммов, выделенных в период с 1992 по 2005 гг., для этого же периода характерно присутствие штаммов геноварианта IV наряду с геновариантом I, частота встречаемости которого несколько снижена по сравнению с предыдущим периодом.

Таким образом, установлено, что на территории Ленинграда — Санкт-Петербурга циркулирует несколько вариантов лептоспир серогруппы *Icterohaemorrhagiae*, обладающих разными молекулярно-генетическими характеристиками. В разные периоды может наблюдаться замещение одних аллельных вариантов другими. В целом, для современной популяции

лептоспир данной серогруппы характерна достаточно высокая генетическая гетерогенность, выявляемая с помощью анализа тандемных повторов.

#### РАЗНООБРАЗИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ В КЛЕЩАХ, КОРМЯЩИХСЯ НА ПЕРЕЛЕТНЫХ ПТИЦАХ В ПЕРИОД СЕЗОННОЙ МИГРАЦИИ, В БАЛТИЙСКОМ РЕГИОНЕ

Ю.А. Панферова<sup>1</sup>, О.А. Фрейлихман<sup>1</sup>,  
Н.К. Токаревич<sup>1</sup>, К.А. Третьяков<sup>2</sup>,  
С.Г. Медведев<sup>2</sup>, С.В. Миронов<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург*

*<sup>2</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург*

Птицы играют существенную роль в циркуляции и транспортировке возбудителей трансмиссивных инфекций. Перелетные птицы, ежегодно совершающие сезонные миграции на длительные расстояния в направлении с юга на север, участвуют в переносе эктопаразитов-гематофагов, в том числе иксодовых клещей, специфических переносчиков клещевого энцефалита, боррелиозов, риккетсиозов, эрлихиозов и лихорадки Ку. С учетом пожизненного сохранения патогенов и возможности их трансвариальной передачи у клещей, миграция птиц, пораженных эктопаразитами, может привести к заносу возбудителей клещевых инфекций в неэндемичные очаги, а также проникновению высокопатогенных штаммов на новые территории. Мониторинг миграций перелетных птиц, обилия и инфицированности кормящихся на них клещей является важным звеном для прогнозирования появления новых очагов клещевых инфекций и их профилактики.

В рамках данного исследования проведен мониторинг численности иксодовых клещей, снятых с птиц в период сезонных миграций и детекция в обнаруженных эктопаразитах ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l. и *Coxiella burnetii*. Отлов птиц проводился на стоянках по пути пролета [восточная часть Финского залива (Ленинградская область) и Куршская коса, (Калининградская область)]. Параллельно проводился сбор иксодовых клещей с растительности в местах стоянок птиц с определением инфицированности. Пораженность птиц при пролете клещами составила 4,4%. В клещах, собранных с птиц, была обнаружена ДНК *C. burnetii* (8,6%), ДНК боррелий не обнаружена. В клещах, собранных в местах стоянок птиц была обнаружена ДНК боррелий (4%) и коксиелл (1,1%). Распределение генотипов боррелий (*B. afzelii* и *B. garinii*) в собранных с растительности клещах было равным, в одном случае наблюдалась коинфекция *B. afzelii* + *B. garinii*. Стоит отметить, что, по данным многолетнего мониторинга, для клещей в лесных станциях Балтийского региона характерно преобладание геновида *B. afzelii*, и значительно больший процент встречаемости *B. garinii* в местах стоянок птиц может быть связан с распространением инфицированных данным геновидом клещей на пути миграции.

В ходе исследования установлено, что перелетные птицы могут участвовать в распространении инфекционных заболеваний, в частности, иксодового клещевого боррелиоза и лихорадки Ку, за счет переноса инфицированных клещей в период сезонных миграций.

*Исследование поддержано грантом АСИР А08-2010.*

**РАЗЛИЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ ВАКЦИН  
НА ХОМИНГ И ПОЛЯРИЗАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ  
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO***М.В. Плеханова, В.Ю. Талаев, О.Н. Бабайкина,  
И.Е. Заиченко*ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора*

Дендритные клетки (DC) являются самыми активными антигенпрезентирующими клетками, обеспечивающими запуск иммунного ответа на первый контакт организма с инфекцией или вакциной. В работе исследовалось действие туберкулезной вакцины БЦЖ и рекомбинантных дрожжевых вакцин против гепатита В (ВПГВ) на DC новорожденных и взрослых, их созревание, миграционные свойства и способность к поляризации иммунного ответа. Незрелые DC получали из моноцитов крови культивированием с ГМ-КСФ и IL-4. Затем к ним добавляли вакцины или контрольные стимуляторы созревания. Среду из культур DC собирали для анализа содержания TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 и MCP-1, а DC использовали для оценки экспрессии HLA-DR, CD14, CD80, CD83, CD86, CCR2, CCR5, CCR7 и CXCR5 и для засева смешанной культуры клеток. Для этого к аллогенным лимфоцитам вносили исследуемые DC и через 72 ч отбирали надосадки для анализа продукции IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-5 и IL-17.

Показано, что вакцина БЦЖ эффективно индуцирует созревание DC, увеличивая экспрессию молекул HLA-DR, CD83 и CD86, и запускает продукцию ими про- и противовоспалительных цитокинов. DC под действием БЦЖ экспрессируют хемокиновый рецептор CCR7, необходимый для миграции в Т-клеточные зоны лимфатических узлов, и приобретают способность мощно стимулировать продукцию IFN $\gamma$  — ключевого цитокина Т-хелперов 1 типа (Th1), что и определяет превалирование клеточного иммунного ответа на вакцину. БЦЖ значительно увеличивает способность DC взрослых стимулировать продукцию TNF $\alpha$  лимфоцитами и слабо влияет на данный параметр у DC новорожденных.

ВПГВ эффективно индуцирует созревание DC, но при этом DC слабо продуцируют цитокины (особенно у новорожденных) и вызывают лишь слабую стимуляцию Th1 и не стимулируют Th2 и Th17. В то же время, DC, обработанные ВПГВ, экспрессируют хемокиновый рецептор CXCR5, направляющий их в фолликулы лимфатических узлов, что, по нашему мнению, способствует развитию гуморального иммунного ответа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ключевыми свойствами DC, определяющими тип иммунного ответа на вакцину, могут быть не только способность к поляризации ответа Т-лимфоцитов, но и особенности хоминга DC.

**НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ  
ВАКЦИНОЛОГИИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА**В.В. Погодина<sup>1</sup>, А.В. Субботин<sup>2</sup>, В.А. Семенов<sup>2</sup>,  
С.В. Лучинина<sup>3</sup>, О.Н. Степанова<sup>3</sup>, Н.С. Травина<sup>4</sup>,  
С.М. Скрынник<sup>5</sup>, С.Г. Герасимов<sup>1</sup>, Г.В. Маленко<sup>1</sup>,  
В.Я. Кармышева<sup>1</sup>, Л.С. Левина<sup>1</sup>, Н.Г. Бочкова<sup>1</sup>, Е.И. Наумов<sup>6</sup><sup>1</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов  
им. М.П. Чумакова РАМН, Москва<sup>2</sup>Кемеровская государственная медицинская академия<sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора в Челябинской области, г. Челябинск<sup>4</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Курганской области,  
г. Курган<sup>5</sup>ГБУ Курганская областная инфекционная больница<sup>6</sup>Алданская центральная больница, г. Якутск

Рассматривается возможная роль генетического несоответствия циркулирующих в природе и вакцинных штаммов вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в развитии тяжелых острых и хронических форм КЭ у привитых. В Свердловской, Кемеровской, Курганской, Челябинской областях распространен сибирский подтип ВКЭ. Используются вакцины из штаммов дальневосточного, реже — европейского подтипов. Массовая вакцинация этими вакцинами свыше 78% населения Свердловской области дала эпидемиологический, иммунологический, клинический эффект (Романенко В.В. и др., 2010). В других регионах объем вакцинопрофилактики существенно ниже. В Курганской области иммунизировано 22,6% населения (2007–2011 гг.). Среди больных КЭ 23% составляют привитые вакцинами дальневосточного подтипа, у 5,2% развились очаговые формы болезни. У пациентки, привитой 6 раз, КЭ закончился летальным исходом; из мозга выделен ВКЭ сибирского подтипа. В Челябинской области летальный КЭ зарегистрирован у пациента, получившего 3 прививки вакцинами дальневосточного подтипа и 3 ревакцинации вакцинами из штаммов европейского подтипа Энцепур и ФСМЕ-Иммун.

В опытах на обезьянах показано, что профилактическая и терапевтическая вакцинация препаратами дальневосточного подтипа не препятствует длительной персистенции штаммов сибирского подтипа (Левина Л.С., Погодина В.В.).

В Кемеровской области у пациента, дважды привитого вакциной ФСМЕ-Иммун, развилась менингоэнцефалитическая форма КЭ с дальнейшим переходом в хронический КЭ на фоне сероконверсии IgG от титра 1:3200 до 1:12800 (ИФА). От больной с синдромом кожевниковской эпилепсии из крови выделен ВКЭ сибирского подтипа. Курс вакцинотерапии препаратом дальневосточного подтипа вызвал подъем уровня вируснейтрализующих антител, временное улучшение с последующим прогрессированием болезни.

Механизмы развития описанных случаев КЭ у привитых требуют комплексного изучения, в том числе причин недостаточного защитного эффекта гетеротипичных вакцин, отличающихся по генотипу от инфицирующих штаммов.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ БЕШЕНСТВА НА ЮГЕ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Е.М. Полещук<sup>1</sup>, Г.Н. Сидоров<sup>1,2</sup>, С.Е. Ткачев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций  
Роспотребнадзора

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Омский государственный педагогический  
университет

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины  
СО РАН, г. Новосибирск

Для определения степени родства вирусов бешенства, циркулирующих на территории России ( $n = 146$ ), был проведен филогенетический анализ последовательностей фрагмента гена нуклеопротеина (гена N), секвенированных самостоятельно ( $n = 52$ ) и из GenBank ( $n = 94$ ). Для определения времени расхождения вирусов из Тувы и Красноярского края от общего предка как возможности косвенного подтверждения заноса вирусов с территории Тувы в Красноярский край, использовали комплекс методов молекулярно-генетического анализа.

Оценка гипотезы «молекулярных часов» (Kimura, 1968) выполнена в программе Mega 5.05. Для данных последовательностей гипотеза была отклонена. Оценку скорости накопления мутаций проводили методами Байесовской статистики и анализа Монте-Карло с использованием цепей Маркова (MCMC) в программе BEAST 1.7 (Drummond et al., 2002; 2007; 2012). В качестве эволюционной модели использовали обобщенную реверсивную модель (generalized time reversible) с учетом инвариантности сайтов и гамма-коррекцией (GTR+I+G) (Rodrigues et al., 1990), выбранную с помощью программ jModelTest (Posada, 2008) и Mega 5.05.

Показано, что для исследуемого фрагмента гена N вируса бешенства средняя скорость замен по всем сайтам составляет  $2,8 \pm 0,1 \times 10^{-4}$  замен на сайт в год, а скорость синонимичных замен —  $9,1 \pm 0,1 \times 10^{-4}$  на сайт в год.

Топология дендрограмм и хронограмм указывают на сходство структуры фрагментов нуклеотидных последовательностей гена N подгрупп вирусов бешенства Монголия-Тува и Красноярск-Хакасия, но не позволяют доказать наличие обмена вирусами между территориями Тувы и Красноярского края.

Хронограмма показывает, что эти подгруппы вирусов разошлись 37,6 лет назад (от 2011 г.). Но новый природно-очаговый регион с основным хозяином лисицей на юге Восточной Сибири впервые был зарегистрирован недавно (2002 г., 9 лет назад от 2011 г.) (Сидорова и др., 2007; Полещук и др., 2010). Следовательно, относительно сроков активизации бешенства на юге Восточной Сибири выявлено различие результатов, полученных с помощью молекулярно-генетических и эпизоотолого-картографических методов.

## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СИСТЕМЫ НАДЗОРА ЗА ГЕПАТИТОМ E НА НЕЭНДЕМИЧНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

А.В. Полянина, Т.Н. Быстрова

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

До настоящего времени в литературе имеются единичные сведения об особенностях гепатита E (ГЕ) на неэндемичных территориях. До сих пор не введена официальная регистрация данной инфек-

ции в РФ, что, в свою очередь, затрудняет решение теоретических, методических и организационных проблем диагностики и профилактики ГЕ.

В результате проведенного исследования установлены проявления эпидемического процесса ГЕ на территории средневропейского региона России в условиях спорадической заболеваемости, которые характеризуются: значительной, превышающей общепризнанные параметры, интенсивностью манифестного ( $0,9 \pm 0,2\%$  и латентного компонентов, высокой долей ГЕ ( $8,3 \pm 2,3\% - 13,0 \pm 2,9\%$ ) в этиологической структуре ОВГ; низкой проявляемостью; активным вовлечением в ЭП лиц в возрасте 30–49 лет ( $5,2 \pm 1,4\%$ ), «условно здорового» населения ( $1,03 \pm 1\% - 4,8 \pm 2,1\%$ ), работников животноводческих комплексов ( $6,4 \pm 1,3\% - 31,0 \pm 4,1\%$ ) и предприятий мясоперерабатывающей промышленности ( $9,1 \pm 3,8\% - 19,1 \pm 2,9\%$ ). При исследовании образцов фекалий свиней методом ОТ-ПЦР РНК ВГЕ выявлена в  $17,2 \pm 7\%$ . Все находки вируса приходились на возрастную группу свиней 110–150 дней жизни. Важно отметить, что именно при уходе за свиньями этого возраста достоверно чаще инфицируется персонал свиноферм —  $54,5 \pm 3,3\%$ . Это обстоятельство является доказательством зоонозного характера ГЕ в рамках реализации фекально-орального механизма передачи.

Полученные результаты позволили установить эпидемиологические особенности ГЕ на территории умеренного климата и предложить систему эпидемиологического надзора, первоочередными задачами которого должны явиться:

- внедрение определения анти-ВГЕ IgM у всех больных, поступающих в стационары с первоначальным диагнозом «вирусный гепатит», что должно послужить основой для постановки этиологического диагноза ГЕ;
- включение ГЕ в перечень инфекций, подлежащих обязательной регистрации в РФ;
- обследование групп риска на маркеры ГЕ (работники животноводческих хозяйств и предприятий мясоперерабатывающей промышленности);
- взаимодействие с ветеринарной службой по вопросам профилактики ГЕ, своевременное проведение профилактической дезинфекции на животноводческих фермах перед переводом молодняка в помещения постоянного пребывания, своевременный отъем поросят от свиноматок и раздельное их содержание строго по возрастам.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ НА ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН И ЗДОРОВЬЕ ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

А.П. Порываева, Н.Н. Александрова, Н.П. Глинских

ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций  
Роспотребнадзора

На современном этапе, как известно, регистрируется подъем заболеваний, передающихся половым путем (ЗППП), у женщин репродуктивного возраста. С другой стороны, имеет место недооценка тяжести ЗППП, вследствие проведения в недостаточно полном объеме диагностики и терапии. Высокий риск внутриутробного инфицирования плода напрямую связан с инфекцией уrogenитального тракта у жен-

щин. От 10 до 48% детей, рожденных такими женщинами, имеют аномалии развития и патологические изменения в различных органах.

Клиническое и лабораторное обследование 43 беременных из группы риска по внутриутробному инфицированию плода выявило отсутствие клинически выраженной картины герпесвирусной инфекции у этих женщин на фоне высокого уровня специфических к ВПГ антител классов IgG и IgM в сыворотках крови. Сочетанные с герпесвирусной инфекцией ЗППП выявлены у 53,5% беременных: *C. trachomatis* — у 12, *C. albicans* — у 6, *U. urealyticum* — у 5 пациенток. Угроза прерывания беременности отмечалась в 30,2% случаев; задержка развития плода — в 37,2%; многоводие — в 32,5%; гестационный пиелонефрит и кольпит — в 39,5%. Родоразрешение на 40–41 неделе гестации произошло у 16 женщин, у 18 пациенток — на 28–30 неделе. В 9 случаях роды проводили оперативным (29–30 неделя гестации) путем в связи преждевременным отслоением плаценты и острой гипоксией плода. В 90% случаев новорожденные нуждались в проведении реанимационных мероприятий. Основным клиническим симптомом внутриутробного инфицирования у новорожденных являлась патология центральной нервной системы различной степени тяжести с синдромами угнетения, гипервозбудимости и/или судорожным синдромом. Сочетанное внутриутробное инфицирование диагностировано у 18 новорожденных: гепатомегалия и поражение ЦНС, поражение ЦНС и органов мочевого выделения. У 9 новорожденных такие симптомы носили множественный характер. Патоморфологическое исследование материалов от этих погибших детей обнаружило признаки генерализованной герпесвирусной инфекции — вирус и ДНК были обнаружены в крови и тканях органов.

Для снижения риска развития внутриутробной герпесвирусной инфекции и проведения своевременной этиотропной терапии необходимо проведение полноценной диагностики антигенов ВПГ и антител к ним в системе «мать—дети» на ранних сроках беременности.

### **БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ, И БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ**

**О.Н. Постникова, С.Н. Крутиков, М.С. Крутикова, Л.В. Тышкевич, Ю.Л. Криворутченко**

*Крымский государственный медицинский университет, г. Симферополь, Украина*

Одним из частых инфекционных осложнений при циррозе печени (ЦП) является бактериемия. Повышенная склонность больных ЦП к развитию инфекций (40% пациентов) обусловлена снижением иммунитета, интегральным показателем которого является бактерицидная активность сыворотки крови (БАС).

У 46 пациентов ЦП проводились посевы гемокультур с использованием стандартных методов идентификации. Бактерицидную активность разведенной в 10 раз сыворотки крови оценивали фотометрическим методом по угнетению роста культур *S. aureus* ATCC 25922 и *E. coli* ATCC 25923 в течение 3 часов. У 33 больных была определена бактериемия с выделением из крови преимущественно грамполо-

жительной кокковой флоры. Качественный состав микрофлоры был следующим: грамположительные моно-, дипло- и тетракокки — 24, стафилококки — 12, энтерококки — 1, грамположительные палочки — 8, энтеробактерии — 5, грамотрицательные кокки — 1, дрожжи — 3, актиномицеты — 2 образца. С учетом разнообразия выделенной микрофлоры, больных разделили на группы: 1 — пациенты только с грамположительными кокками (24 человека), 2 — с грамположительными кокками и палочками (7), 3 — с грамположительными и грамотрицательными бактериями (6), 4 — с грибково-бактериальной ассоциацией (4). В 1 группе отрицательные значения бактерицидности в отношении только *S. aureus* наблюдались у 70,8% пациентов, в отношении только *E. coli* — у 37,5%, в отношении обеих тест-культур — у 16,7%. Во 2 и 3 группах по отношению к *S. aureus* отрицательные значения БАС отмечались у всех пациентов, в отношении к *E. coli* — у 8 (61,7%) больных. Значения уровней бактерицидности к *E. coli* не превышали +63%. У всех обследованных больных 4 группы бактерицидность к *S. aureus* также имела отрицательные значения, а максимальные значения БАС к *E. coli* составляли +2%. Таким образом, была выявлена зависимость биологического разнообразия микробных ассоциаций, выделенных из крови пациентов с циррозом печени, от уровней показателей бактерицидной активности сыворотки крови. Показатели БАС могут быть использованы как прогностический критерий риска развития инфекционных осложнений при циррозе печени.

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АДАПТАЦИИ ВИРУСА ГРИППА А(H1N1)pdm09 НА СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ЛЕГКОГО, ГОЛОВНОГО МОЗГА, ПЕЧЕНИ, ПОЧЕК И СЕРДЦА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЫШЕЙ**

**Е.А. Прокопьева<sup>1,2</sup>, А.В. Глушенко<sup>2</sup>, Л.В. Шестопалова<sup>1</sup>, А.М. Шестопалов<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Новосибирский государственный университет*

<sup>2</sup>*ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», г. Новосибирск*

Весной 2009 г. ранее неизвестный вариант вируса гриппа А(H1N1) вызвал подъем заболеваемости в Северной Америке и Мексике. Новый вариант вируса гриппа обладал высокой контагиозностью и быстро распространился во всему миру, вызвав первую пандемию гриппа в XXI веке. В настоящее время существует опасение, что если вирус А(H1N1)pdm09 сохранит способность эффективно передаваться от человека к человеку и при этом усилит свои вирулентные свойства благодаря адаптации к организму человека, то новый адаптированный вариант, возможно, будет обладать весьма значительным эффектом на здоровье населения планеты, что увеличит число смертельных исходов. Цель нашего исследования — изучить адаптацию вируса гриппа А(H1N1)pdm2009 с пандемическим потенциалом на экспериментальной модели мышей. Известно, что легочная патология у инфицированных мышей, вызванная адаптированным вирусом, обладает значительным сходством с человеческой гриппозной вирусной пневмонией. В ходе выполнения работы были проведены вирусологический, молекулярно-биологический, морфологический и иммуногистохимический анализы изменений в тканях легкого,

головного мозга, печени, почек и сердца мышей линии BALB/c под влиянием адаптированного варианта штамма A/Tomsk/13/2010pdm09. В результате адаптации данного штамма в лабораторных условиях ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» к 7 пассажиру («lung to lung») был получен вариант со 100%-ной летальностью для мышей. Было показано, что адаптированный вариант штамма A/Tomsk/13/2010pdm09-МА вызывает значительные патоморфологические изменения в изучаемых внутренних органах инфицированных мышей. В ткани легкого наблюдаются развитие пневмонии, кровоизлияния, инфильтрация, снижение воздушности. В головном мозге зараженных животных зарегистрированы периваскулярные отеки, кровоизлияния, полнокровие сосудов. В ткани печени, почек и сердца также наблюдаются дистрофические изменения. Таким образом, было показано увеличение вирулентных и патогенных свойств вируса гриппа A(H1N1)pdm09 путем его адаптации к организму мышей.

### ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ОМСКА С 2009 ПО 2012 г.

Л.В. Пузырева, А.В. Мордык

ГБОУ ВПО Омская государственная медицинская академия МЗ РФ  
КУЗОО Клинический противотуберкулезный диспансер № 4,  
г. Омск

Туберкулез — инфекционное заболевание, которому подвержены все слои населения. Заболеваемость туберкулезом медицинских работников значительно превышает показатели заболеваемости туберкулезом населения России. По мнению профессора В.В. Косарева (2010 г.), степени риска заражения туберкулезом медицинских работников выше у персонала бактериологических лабораторий и работников противотуберкулезных учреждений, затем следует персонал терапевтических отделений крупных больниц.

Цель: сравнить заболеваемость туберкулезом сотрудников противотуберкулезного диспансера и работников общелечебной сети.

В городе Омске фтизиатрическая служба представлена 3 стационарами, один из которых, КПТД № 4, оказывает все виды медицинской помощи, включая хирургическую, больным всеми локализациями туберкулеза. На территории Советского административного округа г. Омска, где расположен КПТД № 4, была зарегистрирована следующая заболеваемость медицинских работников: в 2010 г. — 236,7 (9 человек), в 2011 г. — 359,4 (13), а в 2012 г. — 280,4 (10) на 100 тыс. медицинских работников. Показатель заболеваемости сотрудника КПТД № 4 в 2010 г. составил 787,4 (4), в 2012 г. 590,5 (3) на 100 тыс. работающих в учреждении. В 2011 г. случаев туберкулеза у сотрудников диспансера не было.

В противотуберкулезном диспансере чаще заболевали лица женского пола (5 человек), средний (2) и младший (3) медицинский персонал, возраст заболевших от 35 до 55 лет, со стажем работы до 10 лет. В общей лечебной сети туберкулезом чаще заболевали лица женского пола (11), врачей было 7, среднего медицинского персонала 16 человек, возраст заболевших до 40 лет, со стажем работы до 19 лет.

Вывод. Заболеваемости туберкулезом подвержены все медицинские работники, независимо от ме-

ста работы, однако заболеваемость в противотуберкулезных учреждениях выше. Чаще заболевает средний и младший медицинский персонал, так как они больше времени находятся в контакте с больными, выполняя назначения врача и осуществляя непосредственный уход. Заболеваемость медицинских работников в первичном звене здравоохранения связана с отсутствием бдительности в отношении туберкулеза как инфекционного заболевания, несоблюдением гигиенических и эпидемиологических мероприятий (неодевание спецодежды и маски, прием пищи на рабочем столе, отсутствие кварцевания), наличием вредных привычек (курение).

### ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ НА ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИИ

Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Н.Р. Розаева,  
О.И. Канаева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано проводить надзор за энтеровирусной инфекцией на территориях, свободных от полиомиелита.

В ходе вирусологического надзора в 2008—2011 гг. вакцинные полиовирусы были выделены в 0,22% случаев от недавно привитых детей. Результатами исследований показано, что на большинстве территорий северо-запада России циркулировали энтеровирусы Коксаки В1—6, а также энтеровирус ЕСНО 30, который обусловил сезонные подъемы энтеровирусной инфекции в Архангельской и Новгородской областях в 2008 г. По молекулярно-генетической характеристике энтеровирус ЕСНО 30, циркулировавший в Архангельске, был близок к вирусу ЕСНО 30, изолированному от больных в Великом Новгороде. В Новгородской области сезонный подъем заболеваемости энтеровирусной инфекцией был обусловлен, наряду с энтеровирусом ЕСНО 30, энтеровирусом ЕСНО 6. В 2010—2011 гг. вирусы ЕСНО 6 вызвали сезонные подъемы заболеваемости энтеровирусной инфекцией на территории Архангельской области. Штаммы одного из вариантов энтеровируса ЕСНО 6, изолированные от больных в Архангельске в 2010 г., были филогенетически близки к одному из вариантов вируса ЕСНО 6, идентифицированному во время сезонного подъема заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Великом Новгороде в 2008 г. В последние годы штаммы энтеровируса ЕСНО 6 активно циркулировали еще на шести территориях северо-запада России.

В 2009 г. в Архангельской области был зарегистрирован очаг вирусного менингита, обусловленный энтеровирусом ЕСНО 9. В том же году энтеровирус ЕСНО 9 был изолирован от больных энтеровирусной инфекцией еще на пяти территориях северо-запада России.

В 2010—2012 гг. на некоторых территориях северо-запада России циркулировали энтеровирусы Коксаки А16, которые стали причиной групповой заболеваемости энтеровирусной экзантемой полости рта и конечностей в детских учреждениях двух областей северо-запада России — Мурманской и Ленинградской.

Результаты проведенных исследований подтверждают, что надзор за энтеровирусной инфекцией является одним из важных видов дополнительного надзора в рамках Программы Глобальной ликвидации полиомиелита. Систематический эпидемиологический и вирусологический надзор за энтеровирусной инфекцией необходим для получения новой информации о циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди населения и установления закономерностей развития эпидемического процесса при этой инфекции.

### ИТОГИ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ ЛИКВИДАЦИИ ПОЛИОМИЕЛИТА НА РЯДЕ ТЕРРИТОРИЙ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Н.Р. Розаева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В период с 1998 по 2012 гг. Субнациональная полиомиелитная лаборатория ВОЗ в Санкт-Петербурге осуществляла вирусологический надзор за циркуляцией полиовирусов среди населения и в окружающей среде. Исследовано более 2000 проб от больных острыми вялыми параличами и контактных лиц с 14 территорий Российской Федерации. Процент выделения полиовирусов колебался от 15,9% в годы проведения национальных дней иммунизации (1998–1999 гг.) до 2,2% в 2011–2012 гг. По результатам внутритиповой дифференциации (ВТД) все обнаруженные у детей полиовирусы были вакцинными.

Результаты молекулярного анализа, показавшие наличие у одного из изолированных полиовирусов 1,1% нуклеотидных замен на участке генома VP1, позволяют сделать вывод о том, что среди детского населения с высоким уровнем охвата вакцинацией против полиомиелита возможна длительная персистенция и циркуляция антигенно-измененных вакцинных штаммов полиовирусов.

В ходе дополнительного надзора было обследовано 645 детей из семей мигрантов. Процент детекции полиовирусов в 2006–2009 гг. составил в среднем 3,7%. По результатам ВТД все они были вакцинными. В 2010 г. частота выделения полиовирусов составила 10,1%. Полиовирусы, выделенные от 3 здоровых детей, прибывших из Таджикистана, были идентифицированы как дикие полиовирусы серотипа 1, близкородственные штаммам, вызвавшим вспышку полиомиелита в Таджикистане. В 2011–2012 гг. вакцинные полиовирусы были изолированы от детей мигрантов в 1,2% случаев, что позволило констатировать сохранение свободного от полиомиелита статуса всех территорий после импортирования дикого полиовируса в Российскую Федерацию в 2010 г.

Вирусологическими исследованиями проб сточной воды на протяжении 10 лет установлено, что процент выделения полиовирусов трех серотипов в среднем был равен 3,8%. Все обнаруженные полиовирусы были вакцинными. Частота обнаружения неполиомиелитных энтеровирусов в среднем составила 6%. Среди изолированных энтеровирусов преобладали вирусы Коксаки В1–6 и вирусы серотипов ЕСНО 6, ЕСНО 7, ЕСНО 13 и ЕСНО 30.

Полученные данные свидетельствуют о том, что только сочетание качественного основного и дополнительных видов вирусологического надзора гарантирует поддержание свободного от полиомиелита статуса территорий Российской Федерации.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РИККЕТСИЙ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОЙ ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ В РОССИИ

Н.В. Рудаков, В.К. Ястребов, С.Н. Шпынов

ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора

Современные научные данные свидетельствуют о том, что возбудитель клещевого риккетсиоза (КР) или сибирского клещевого тифа — основного регистрируемого в Российской Федерации представителя клещевых риккетсиозов — отличается гетерогенностью. Различают три подвида *R. sibirica*: *R. sibirica* subsp. *sibirica*, *R. sibirica* subsp. *BJ-90*, *R. sibirica* subsp. *mongolotimonaе*. На территории России доказано наличие первых двух подвинов. Верифицированные в России случаи заболеваний КР этиологически связаны с *R. sibirica* subsp. *sibirica*. Нозоареал КР в России охватывает 17 субъектов РФ, а именно южные районы Сибири и Дальнего Востока. Основная часть заболеваний КР регистрируется в Алтайском крае, Республике Алтай и Красноярском крае (более 80% от общей суммы по РФ).

Новый вид *R. heilongjiangensis* выделен в 1966 г. из клещей *H. concinna*, собранных в Красногорском районе Алтайского края и в Приморском крае в 1981 г., но генотипирован в 2004–2006 гг. Клиническая картина заболевания, вызываемого новым видом риккетсий, сходна с сибирским клещевым тифом, с некоторыми особенностями.

Еще одно новое заболевание, выявленное И.В. Тарасевич с соавт. — астраханская пятнистая лихорадка (АПЛ). Возбудителем ее является *R. conori* subsp. *caspiensis*, относящаяся к генокомплексу *R. conorii* — возбудителю марсельской лихорадки. Природные очаги АПЛ распространены преимущественно в Астраханской области, хотя риккетсии этого вида генотипированы в клещах *Rh. pumilio* на смежных территориях юга России (Калмыкия, Волгоградская область) и западной части Казахстана.

Достаточно широким ареалом характеризуется другой новый вид — *R. helvetica*. Установлено распространение этого вида риккетсий в ряде зарубежных стран. В России риккетсии, генетически тесно связанные в *R. helvetica*, выявлены в Омской области в клещах *I. persulcatus* и у пациентов с острым лихорадочным заболеванием после присасывания клещей — в Пермском крае.

Патогенные для человека *R. aeschlimannii* (штамм «Казахстан») генотипированы в клещах *H. punctata* из Алма-Атинской области Казахстана, а затем — в Ставропольском крае в клещах *H. marginatum marginatum*.

Установлено распространение *R. slovacica* в Европейских странах. Основной переносчик — клещи *D. marginatus*. Эти риккетсии вызывают клинический синдром TIBOLA, что расшифровывается как «tick-borne lymphadenopathy». В России *R. slovacica* генотипирована в клещах *D. marginatus* в Воронежской области и Ставропольском крае. Единственный штамм *R. slovacica* изолирован в Курганской области из клещей этого же вида.

*R. raoultii* (генотипы RpA4, DnS14, DnS28), также являющаяся этиологическим агентом синдрома TIBOLA, широко распространена в Европейской части России и за рубежом. В России *R. raoultii* выявлена в клещах в Воронежской, Оренбургской,

Челябинской, Омской, Новосибирской областях, в Красноярском, Алтайском, Приморском краях и в Республике Бурятия.

На основании предложения ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора и ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора внесены изменения в формы № 1 и № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях». В соответствии с приказом Росстата от 20.12.2012 г. № 645 с 2013 г. предусматривается регистрация дополнительно астраханской пятнистой лихорадки, гранулоцитарного анаплазмоза человека и моноцитарного эрлихиоза человека.

### МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗА ИНФЕКЦИЯМИ, ПЕРЕДАЮЩИМИСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ, В СИБИРСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

С.А. Рудакова

ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций  
Роспотребнадзора

Проблема заболеваний, переносчиками которых являются иксодовые клещи, в последние годы приобретает все большее значение для Сибирского федерального округа. Согласно современным представлениям, иксодовые клещи наряду с вирусом клещевого энцефалита переносят ряд других возбудителей вирусной и бактериальной природы. Наиболее существенную значимость в распространении этих инфекций имеют клещи рода *Ixodes*.

Наличие сочетанных природных очагов клещевых инфекций увеличивает риск заражения людей одновременно несколькими патогенами, усложняет их диагностику и профилактику и требует комплексного подхода. Широкое применение в этой связи находят методы молекулярной диагностики (ПЦР, ПЦР в реальном времени и ПЦР с детекцией по конечной точке). В работе использовали коммерческую тест-систему «Амплиценс TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва).

Проведено исследование клещей, собранных в окрестностях с. Манжерок Майминского района Республики Алтай. В сборах присутствовало 159 экз. *I. persulcatus*, 5 экз. *I. pavlovskyi*, 6 экз. *H. concinna*. Инфицированность клещей *I. persulcatus* боррелиями составила 34%, обнаружены *A. phagocytophila* (возбудитель ГАЧ) — в 3,9%, *E. muris* — в 8,2%, *E. chaffeensis* — в 3,3% (возбудители МЭЧ). Боррелии обнаружены в клещах *I. pavlovskyi* — в 2-х экз., *H. concinna* — в 2-х экз., анаплазмы в клещах этих видов не выявлены. Выделено на питательной среде BSK-H 4 изолята боррелий (2 — из клещей *I. persulcatus* и 2 — из клещей *I. pavlovskyi*).

В Омской области инфицированность клещей *I. persulcatus* боррелиями составила 54,2%, анаплазмами (*A. phagocytophila*) — 3,6%, *E. muris* обнаруживали в 2,9% случаев, *E. chaffeensis* — в 1,2%. Выделено 9 изолятов боррелий.

В Новосибирской области кроме клещей *I. persulcatus* в сборах присутствовали клещи *I. pavlovskyi*, инфицированность боррелиями *I. persulcatus* составила 52%, *I. pavlovskyi* — 40,5%, *A. phagocytophila* обнаруживали в 10,1% клещей *I. persulcatus*, *E. muris* —

в 6,1%, *E. chaffeensis* — 0,9%, в клещах *I. pavlovskyi* удалось обнаружить только *E. chaffeensis* (7,6%). Получено 24 изолята боррелий из клещей *I. pavlovskyi* и 44 изолята из клещей *I. persulcatus*.

Также при исследовании иксодовых клещей мы использовали комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК участка 16S RNA *B. miyamotoi* с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, любезно предоставленную Л.С. Карань (ЦНИИ эпидемиологии, Москва). ДНК *B. miyamotoi* была выявлена в суспензиях клещей *I. persulcatus* в 10% из Омской области, в 15,4% из Новосибирской и в 17,1% из Республики Алтай.

Таким образом, в результате проведенных исследований с применением новейших современных молекулярных методов получены новые данные о современном состоянии и тенденциях развития эпидемического процесса трансмиссивных природно-очаговых инфекций на территории Омской области, Новосибирской областей и Республики Алтай. Впервые установлена циркуляция *B. miyamotoi* на территории Сибирского ФО.

### РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВАРИАНТОВ РОТАВИРУСА ГЕНОТИПА G1P[8] В ПЕРИОД НИЗКОЙ АКТИВНОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ

Т.А. Сашина, О.В. Морозова, Н.А. Новикова

ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора  
ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского

Актуальность изучения особенностей эволюции ротавирусов обусловлена широкой распространенностью ротавирусной инфекции и разнообразием G[P]-типов, среди которых в мире наиболее распространены G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] и G9P[8]. Штаммы генотипа G1P[8] постоянно присутствуют и доминируют в мире на протяжении как минимум 20 лет (Kirkwood et al., 2010). Однако в последнее время на территории ряда стран отмечается снижение активности циркуляции ротавирусов данного генотипа (Hull et al., 2011, Nakamura et al., 2011, Pietsch et al., 2011, Soeorg et al., 2012).

Целью данной работы явилось изучение генетического разнообразия современных штаммов ротавируса генотипа G1P[8] в период низкой активности его циркуляции путем анализа нуклеотидной последовательности гена, кодирующего белок VP7. В ходе работы были исследованы 10 штаммов, выявленных в Нижнем Новгороде в период 2007–2012 гг. Установленные последовательности анализировались при помощи программы MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011). Филогенетические линии определяли согласно схеме, предложенной T.G. Phan с соавт. в 2007 г.

В Нижнем Новгороде геноварианты ротавируса генотипа G1P[8] стабильного доминировали до 2004 г. В дальнейшем их доля постепенно снижалась, достигнув 7,3% в эпидсезон 2011–2012 гг. Анализ филогенетического дерева показал, что нижегородские штаммы ротавируса генотипа G1 группировались с представителями двух различных линий — I и II. Восемь штаммов группировались с представителями линии II и попали в кластеры, соответствующие сублиниям В и С.

Интересно, что с представителями линии I кластеризовались только два нижегородских изолята, выявленные в 2011 г., отнесенные к сублинии А. Различия нуклеотидных последовательностей у представителей разных линий составило 5,9–8,4%, внутри линий достигало 4%, внутри сублиний не превышало 1,7%.

Таким образом, нами показано разнообразие геновариантов ротавируса генотипа G1P[8] на фоне низкой активности его циркуляции. Штаммы, выявленные в Нижнем Новгороде в 2007–2012 гг., принадлежат к двум линиям (I и II) и трем сублиниям (I-A, II-B, II-C); в 2011 г. отмечено появление нового геноварианта, отличие которого от циркулировавших ранее на уровне нуклеотидной последовательности гена VP7 составило 8,4%.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФИЦИРОВАННОСТИ *H. PYLORI* У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПО ДАННЫМ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ**

**А.В. Сварваль, Р.С. Ферман, А.Б. Жебрун**

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Проведено обследование 60 больных с хроническим гастритом (ХГ) и язвенной болезнью желудка и/или двенадцатиперстной кишки (ЯБ) с помощью бактериологического и серологического методов. Бактериологическому исследованию подлежали биоптаты слизистой оболочки желудка, взятые у пациентов во время фиброгастроскопии. С помощью серологического метода изучено наличие в сыворотке крови антител (IgG) к бактериальному антигену *H. pylori* и IgG к его токсину — CagA. Исследования проведены с использованием тест-систем для ИФА производства DRG (Германия), «Biohit» (Финляндия). При анализе данных был использован интегративный показатель: серопозитивными считались лица, у которых были положительны антитела к суммарному антигену *H. pylori* и к CagA или хотя бы к одному из них, серонегативными — лица, у которых отсутствовали оба типа антител.

В результате этого исследования выделено 24 штамма *H. pylori* (у 40% обследованных). Данный микроб выделен от 18 (39,13%) больных с ХГ и 6 (42,86%) больных с ЯБ.

Антитела в сыворотке крови к суммарному антигену *H. pylori* (IgG) обнаружены у 48 обследованных (80%), а к CagA *H. pylori* (IgG) — у 32 (53,33%). Таким образом, доля CagA-позитивности у пациентов с данной патологией составила 66,7%. Интегративный показатель *H. pylori*-серопозитивности в группе больных с ХГ практически не отличалась от такого же показателя группы больных с ЯБ (80,43 и 78,57% соответственно). Доля CagA-позитивности среди больных с ЯБ составила 72,73%. Это выше аналогичного показателя в группе больных с ХГ (64,86%). В ходе серологического обследования группы больных, у которых выделены штаммы *H. pylori*, установлено, что в 24 случаях (у 100% этих пациентов) наблюдается выработка антител на наличие *H. pylori*, при этом доля CagA-позитивности в этой группе больных достигла 87,5%.

Таким образом, серопозитивность к *H. pylori* среди лиц с патологией желудка и двенадцатиперстной кишки достигает 80%.

#### **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ РИККЕТСИЙ ГРУППЫ ПЯТНИСТЫХ ЛИХОРАДОК В УКРАИНЕ**

**О.Б. Семенишин, З.Г. Кушнир, О.З. Зарична, И.В. Всяка, А.М. Шульган, М.С. Кицара, Н.Ю. Микун**

ГУ Львовский НИИ эпидемиологии и гигиены МЗ Украины

Среди риккетсиозов группы клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ) в Украине наиболее известна марсельская лихорадка, которая регулярно регистрируется в АР Крым, принимая в отдельные годы масштабы эпидемической вспышки. Целью настоящей работы было обнаружение ДНК риккетсий данной группы в различных популяциях иксодовых клещей на территории Украины. Наличие ДНК риккетсий в суспензиях клещей определяли методом ПЦР в реальном времени, а также с помощью иммунолюминесцентной микроскопии. Для детекции ДНК риккетсий группы КПЛ использовали прямой R\_SFG\_1595\_For (5'-GCCGGGGAGTTGTCCAATTATCA-3') и обратный R\_SFG\_1722\_Rev (5'-CCGCCGACAAGAGCAG-TTT-3') праймеры, зонд RR1654Probe ([6FAM]CCGCGCGGCATTTCCSTAACGTAACCTCGGCAGCGCGG[TAM]), синтезированные SIGMA-ALDRICH (Германия), и SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X).

На юге Украины методом ПЦР исследовали 920 иксодовых клещей (92 пробы) 5 видов, собранных с крупного рогатого скота в различных ландшафтных зонах. Специфические участки ДНК риккетсий группы КПЛ обнаружены в 29 пробах клещей трех видов: *I. ricinus* (в среднем 4,0±0,1%), *Rp. rossicus* (4,0±0,1%) и *D. marginatus* (21,0±0,4%). Результаты исследования клещей *H. plumbeum* и *Rh. sanguineus* оказались отрицательными. В промышленной зоне Донбасса при исследовании методом ПЦР 48 проб клещей трех видов положительные результаты составили 54,2±1%, в том числе 27,1±0,9% среди клещей *D. marginatus*, 2,1±0,2% — *H. plumbeum* и 2,1±0,2% — *Rp. rossicus*. При исследовании этих же проб методом люминесцентной микроскопии положительные результаты составили 20,83±5,86%, с полным их подтверждением в ПЦР.

При исследовании 640 иксодовых клещей в Прикарпатье специфические участки ДНК риккетсий группы КПЛ обнаружены в 28,1±0,7% проб, в том числе среди клещей *I. ricinus* — 15,6±0,5 и 12,5±0,5% среди клещей *D. reticulatus*.

Таким образом, результаты исследований указывают на значительно больший ареал распространения риккетсий группы КПЛ в Украине, необходимость лабораторной диагностики вызываемых ими заболеваний и молекулярно-генетической идентификации видов риккетсий.

#### **ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ОНКОГЕНА *LMP1* ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР У БОЛЬНЫХ НАЗОФАРИНГЕАЛЬНОЙ КАРЦИНОМОЙ И ДРУГИМИ ОПУХОЛЯМИ ПОЛОСТИ РТА**

**Н.Б. Сенюта, Е.В. Гончарова, Л.С. Яковлева, Л.Н. Щербак, С.В. Дидук, К.В. Смирнова, В.Н. Кондратова, А.В. Лихтенштейн, В.Э. Гурцевич**

ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) является лимфотропным герпесвирусом человека, которым инфицировано более 90% населения планеты. Этот вирус так-

же признан этиологическим фактором для широкого спектра доброкачественных и злокачественных новообразований. Некоторые из ВЭБ-ассоциированных новообразований, в частности назофарингеальная карцинома (НФК), характеризуется ограниченным географическим и расовым распространением. Являясь эндемичным для южных провинций Китая и ряда стран Юго-Восточной Азии, НФК редко встречается в большинстве стран мира, включая Россию. Причины выборочно высокой заболеваемости указанными ВЭБ-ассоциированными патологиями до сих пор не выяснены, не ясен и механизм канцерогенеза при этом заболевании. Одним из известных факторов, вносящих свой вклад в процесс канцерогенеза, приводящего к возникновению НФК, является онкоген ВЭБ, латентный мембранный белок 1 (*LMPI*), присутствие которого обнаружено в 50–70% случаев на белковом уровне и в 100% случаев на транскрипционном уровне. Целью настоящего исследования стало выяснение различий в генетической структуре *LMPI* в изолятах ВЭБ, полученных от больных ВЭБ-ассоциированными случаями НФК и больных другими опухолями (ДОПР), неассоциированными с этим вирусом, возникающих в одной и той же анатомической области, полости рта. Учитывая выраженную вариабельность *LMPI*, особенно его С-терминальной области, нами проведен сиквенсный анализ (транслированных в а.к. сиквенсы) вариантов *LMPI*, полученных из образцов опухоли, крови и смывов ротоглотки (СР) больных НФК и ДОПР. Исследования показали, что изучаемые структурные характеристики вариантов *LMPI* в обеих группах больных достаточно близки, а имеющиеся отдельные различия между сравниваемыми параметрами статистически недостоверны. Полученные данные позволяют предположить, что в России у больных НФК и ДОПР персистируют генетически родственные штаммы ВЭБ со структурно схожими вариантами *LMPI* что, скорее всего, отражает полиморфизм штаммов ВЭБ, циркулирующих в популяции. Эти данные также свидетельствуют о том, что кроме усиленной пролиферации ВЭБ у отдельных лиц, их генетической предрасположенности к НФК, на частоту возникновения этого заболевания в неэндемичных регионах оказывают влияние и другие, пока еще неизвестные факторы.

#### ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ АГЕНТОВ ОРВИ В г. НОВОСИБИРСКЕ И НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2011–2012 гг.

Е.И. Сергеева<sup>1</sup>, Е.В. Иванова<sup>2</sup>, А.Н. Швалов<sup>1</sup>, В.А. Терновой<sup>1</sup>, В.Н. Михеев<sup>1</sup>, А.П. Агафонов<sup>1</sup>, Л.К. Иванова<sup>2</sup>, А.Н. Сергеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская область

<sup>2</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области, г. Новосибирск

ОРВИ — термин, объединяющий группу заболеваний, поражающих респираторный тракт.

Цель исследования — изучение видовой разнообразия вирусов, вызывающих ОРВИ у жителей г. Новосибирска и Новосибирской области с октября 2011 г. по апрель 2012 г.

Материалы и методы. Исследовано 164 клинических образца. Порядок проведения исследования одобрен этическим комитетом ГНЦ ВБ «Вектор». Для экстракции вирусных РНК и ДНК, реакции обратной транскрипции и ПЦР были использо-

ваны наборы «РИБОпреп», «РевертаL», «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН «ЦНИИЭ», г. Москва).

Результаты. 164 образца от пациентов в возрасте от 5 месяцев до 76 лет с симптомами ОРВИ исследованы на наличие РНК вируса гриппа типов А (InfA) и В (InfB), респираторно-синцитиального вируса (RSV), риновируса (RhV), метапневмовируса (MpV), вируса парагриппа типа 1–4 (PIV 1–4), коронавируса (CoV) NL63, HKU1, 229E, OC43, а также ДНК адено- (AdV) и бокавируса (BoV). В 69 (43%) обнаружен хотя бы один из перечисленных агентов. В структуре заболеваемости преобладали CoV I серогруппы — NL63 и 229E (9%) и RhV (8%). Реже встречались PIV 1 (4%), PIV 3 (3%) и RSV (4%). AdV и BoV выявлены в 2% случаев. Вирус PIV 2 и PIV 4, MpV, CoV II серогруппы (HKU1 и OC43) обнаружены в 1% образцов. РНК вируса гриппа не была нами обнаружена ни в одном из исследованных образцов. В 7% случаев была зарегистрирована смешанная инфекция. Абсолютное большинство смешанных инфекций было вызвано комбинацией из двух вирусов, наиболее часто встречались BoV, RhV и/или RSV. Реже встречались AdV и CoV I серогруппы — NL63 и 229E. В рамках проводимого исследования нами было изучено распределение острых респираторных вирусных инфекций в различных возрастных группах населения. Пик видовой разнообразия вирусных респираторных инфекций приходится на возрастные группы детей до 7 лет, с максимумом в возрастной группе 2–4 года.

Заключение. В структуре заболеваемости преобладали коронавирусной (CoV NL63 и 229E), риновирусной инфекций и микст-инфекции. Пик видовой разнообразия в структуре заболеваемости ОРВИ приходится на возрастную группу детей 2–4 лет.

#### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА В ВЕЛИКОУСТЮГСКОМ РАЙОНЕ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

С.А. Сивков

*Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Вологодской области в Великоустюгском, Кичменгско-Городецком, Никольском районах, г. Великий Устюг, Вологодская область*

В Великоустюгском районе проживает около 60 тыс. человек. За 10 лет на изучаемой территории было зарегистрировано более 330 случаев туберкулеза, что позволяет рассматривать его как актуальную медико-социальную проблему. Распространенность инфекции обусловлена не только высоким уровнем контагиозности, но и поздним обращением заболевших за медицинской помощью, а также недостаточным охватом взрослого населения профилактическими обследованиями. Наибольший уровень заболеваемости регистрируется среди не имеющих постоянной работы и ведущих асоциальный образ жизни лиц; эти люди становятся «резервуаром» инфекции.

Регистрируемая заболеваемость в последние 10 лет характеризовалась: превышением в среднем на 44%, а бацилярным туберкулезом — на 30% областных значений; значительным различием в уровнях заболеваемости в отдельные годы ( $\sigma = 25,8\%$ ); общей тенденцией к снижению в среднем на 5,5% в год, бацилярными формами — на 9,1% в год; отсутствием значимых различий уровней в городе и на селе (51,48 и 55,7 на 100 населения соответственно).

Высокие показатели заболеваемости туберкулезом характеризуют не только неблагоприятие по данной инфекции, но и свидетельствует о лучшей выявляемости инфекции, чем в среднем по области. Снижение выявления больных с активными формами туберкулеза может привести к ухудшению эпидемиологической обстановки на территории.

Неблагополучие по туберкулезу подтверждают результаты туберкулинодиагностики детей и подростков, объем которой соответствует критериям ВОЗ. Количество детей с «выраженными» пробами в разные годы составляло от 1 до 2,8%, что определяет риск инфицирования туберкулезом на территории как высокий.

Проблему высокого риска заражения туберкулезом усугубляет низкий охват населения обязательными ФГЛ обследованиями (64% вместо рекомендуемых 85%). Значительная часть необследованных относится к так называемым «не декретированным» контингентам, среди которых и выявляется наибольшее количество случаев заболевания (73%).

Таким образом, истинный уровень заболеваемости туберкулезом значительно более высокий, чем регистрируемый: объективные причины ее снижения отсутствуют. Риск заражения подвержено все население района, в том числе и экономически активная его часть, что связано с наличием большого количества невыявляемых источников инфекции.

### **ИЗМЕНЕНИЕ ИММУННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА ДЖОЗАМИЦИНОМ**

**И.А. Сидорова, И.О. Малова**

*ГОУ ВПО Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ*

Цель исследования: изучить динамику функциональной активности нейтрофилов (ФАН) и секрецию гамма-интерферона (IFN $\gamma$ ) в процессе лечения джозамицином у женщин с урогенитальной хламидийной инфекцией.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 30 женщин репродуктивного возраста с урогенитальной хламидийной инфекцией, получавших джозамицин по 500 мг 3 раза в сутки в течение 10 дней. Материалом для исследования явилась венозная кровь, которую забирали трижды: до, после курса лечения, а также на контроле излеченности через 4 недели после окончания терапии. Определяли фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ), а также метаболическую активность в НСТ-тесте — спонтанном (НСТ-сп.) и индуцированном (НСТ-инд.). Процент содержания Т-лимфоцитов, вырабатывающих  $\gamma$ -интерферон (Тл-IFN $\gamma$ ), от общего количества Т-лимфоцитов (CD3) определяли методом проточной цитометрии на проточном цитофлюориметре «Beckman Coulter Cytoomics FC 500» с помощью автоматического гематологического анализатора «Sysmex XT 2000i» (Roche, Швейцария). Содержание IFN $\gamma$  в сыворотке крови изучали методом ИФА с помощью иммуноферментного набора для количественного определения человеческого IFN $\gamma$  в сыворотке крови (Bender Med Systems CmbH, Австрия). Аналогичные исследования проведены у контрольной группы — 30 здоровых женщин репродуктивного возраста (средний возраст — 25,8 лет).

Результаты исследования: в контрольной группе ФИ составил 64,87 $\pm$ 7,29%, ФЧ — 5,30 $\pm$ 1,83, НСТ-сп. — 37,3 $\pm$ 6,27%, НСТ-инд. — 51,0 $\pm$ 6,26%.

Анализ показателей ФАН до лечения показал, что ФИ (56,37 $\pm$ 8,96%), НСТ-сп. (34,60 $\pm$ 7,06%) и НСТ-инд. (42,46 $\pm$ 7,38%) были снижены по сравнению с контрольной группой, ФЧ (5,77 $\pm$ 2,03) имело тенденцию к повышению, что свидетельствует о слабой поглотительной и метаболической активности фагоцитарной системы. После проведения этиотропной терапии наблюдалось повышение всех показателей ФАН: ФИ — до 66,23 $\pm$ 7,59%, ФЧ — до 6,77 $\pm$ 2,27, НСТ-сп. — 43,03 $\pm$ 7,40%, НСТ-инд. — до 50,23 $\pm$ 9,50%.

Мы разделили больных на 3 группы в зависимости от содержания IFN $\gamma$ : 1 группа — значения выше нормы, 2 — в пределах нормы, 3 — значения ниже нормы.

У пациенток 2 группы до лечения уровень Тл-IFN $\gamma$  составил 3,9 $\pm$ 0,99%, IFN $\gamma$  — 2,61 $\pm$ 0,07 пг/мл. После окончания лечения джозамицином эти показатели повысились в 2–4 раза (9,67 $\pm$ 2,04%; 5,30 $\pm$ 0,54 пг/мл). Через 4 недели значения снизились до нормальных пределов (4,39 $\pm$ 1,14% и 3,03 $\pm$ 0,49 пг/мл).

В 1 группе пациенток до лечения доля Тл-IFN $\gamma$  — 6,93 $\pm$ 2,12%, уровень IFN $\gamma$  — 4,00 $\pm$ 0,31 пг/мл. После лечения значения стали еще выше (10,03 $\pm$ 2,59%; 6,17 $\pm$ 0,69 пг/мл соответственно). На контроле излеченности показатели снизились до нормальных значений (5,28 $\pm$ 1,58%; 3,06 $\pm$ 0,70 пг/мл).

В 3 группе пациенток показатели были снижены: Тл-IFN $\gamma$  составил 0,91 $\pm$ 0,70%, уровень IFN $\gamma$  — 2,02 $\pm$ 0,32 пг/мл. После лечения эти значения повысились до нормальных (4,30 $\pm$ 0,99%; 2,72 $\pm$ 0,47 пг/мл соответственно) и через 4 недели оставались в тех же пределах (4,35 $\pm$ 0,91%; 2,73 $\pm$ 0,37 пг/мл).

Выводы: на фоне монотерапии урогенитального хламидиоза джозамицином клиническое и этиологическое выздоровление наступило у 29 (96,7%) из 30 пациенток. Под действием джозамицина увеличилась поглотительная и метаболическая функция нейтрофилов, а также увеличилась выработка Тл-IFN $\gamma$  и повысился уровень IFN $\gamma$  у пациенток всех трех групп. Важным, на наш взгляд, является сохранение этих показателей в нормальных пределах через месяц после окончания терапии, что, безусловно, способствует не только наступлению этиологического и клинического выздоровления, но и предотвращает возможность развития персистирующей хламидийной инфекции.

### **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА В, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД**

**Е.В. Синайская, Т. Талло, Л.Г. Сулягина,  
В.Ю. Ряснянский, М.В. Алексеева, П.Н. Кислый,  
Г.Ю. Тимаховская, К.Г. Старосельский, С.Л. Мукомолов**  
*ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург*

Несмотря на строгий контроль за инфекцией, вызываемой вирусом гепатита В (ВГВ), и внедрение широкомасштабной вакцинации, которая привела к резкому снижению заболеваемости острым ВГВ, распространенность ВГВ в Санкт-Петербурге остается достаточно высокой. Об этом свидетельствует продолжающаяся регистрация острого ВГВ и высокие показатели вирусносительства.

В последнее десятилетие возрос интерес к изучению генетической вариабельности ВГВ для мониторинга за циркулирующими генотипами вируса,

некоторые из которых определяют хронические потенциалы вируса.

Целью настоящего исследования явилось определение молекулярно-генетических характеристик изолятов ВГВ, циркулирующих в Санкт-Петербурге в современный период.

Результаты и обсуждение. Образцы сывороток крови, полученные от ВГВ-инфицированных пациентов (20 — пациенты пяти отделений гемодиализа, 20 — наблюдающиеся в диспансерно-поликлиническом отделении НИИЭМ им. Пастера), были исследованы методом ПЦР с помощью коммерческих тест-систем «Вектор-Бест». Для последующего филогенетического анализа было получено 40 последовательностей нуклеотидов участка генома *preS/S* методом лимитированного секвенирования (861nt).

Филогенетический анализ показал, что среди инфицированных ВГВ пациентов НИИЭМ доминировал генотип D (субтипы D1, D2, D3) — 95%, генотип A (A2) обнаружен лишь в одном случае — 5%. Аналогичная ситуация сложилась в отделениях гемодиализа, при этом нуклеотидные последовательности изолятов ВГВ, полученные от пациентов трех отделений гемодиализа, формировали отдельные субкластеры.

Все клинические образцы были изучены методом молекулярной гибридизации с помощью тест-системы «INNO-LiPA PreCore» (Innogenetics, Бельгия). Среди изолятов ВГВ от пациентов гемодиализа не выявлено мутаций в области *pre-core* генома. В то же время среди пациентов НИИЭМ они встречались в 25% случаев.

Заключение. В Санкт-Петербурге циркулируют 2 генотипа вируса ВГВ (A, D), представленные 4 субтипами, с доминированием генотипа D. Распределение циркулирующих субтипов ВГВ в отделениях гемодиализа является отражением такового в популяции. Важно отметить, что среди населения выявлена большая доля пациентов с наличием мутации в *pre-core* области генома ВГВ, тогда как среди пациентов отделений гемодиализа их не было установлено. Использование методов молекулярной биологии для мониторинга циркулирующих штаммов вируса позволит оптимизировать эпидемиологический надзор за инфекцией.

#### КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИКСОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА, ВЫЗВАННОГО *BORRELIA MIYAMOTOI*, У ДЕТЕЙ

Н.В. Скрипченко, А.А. Балинова

ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА РФ, Санкт-Петербург

Актуальность. Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) является самой распространенной инфекцией, передаваемой клещами, характеризуется ростом заболеваемости, в том числе среди детского населения, этиологической неоднородностью структуры и полиморфизмом клинической картины.

Цель исследования: определение клинико-лабораторных и эпидемиологических аспектов ИКБ, вызванного *Borrelia miyamotoi*, у детей.

Материалы и методы. Под наблюдением находился 191 ребенок в возрасте от 1 года до 18 лет, поступивший в отделение нейроинфекций и органической патологии нервной системы ФГБУ НИИДИ ФМБА России за период с 2009 по 2011 гг. с инфекциями, передаваемыми клещами, включая 150 пациентов с ИКБ в виде моноинфекции, 29 боль-

ных клещевым энцефалитом (КЭ) и 12 пациентов с микст-инфекцией ИКБ и КЭ. Больным проводились клинический мониторинг и лабораторное обследование, включавшее в себя общеклинические методы и методы этиологической диагностики — ИФА и ПЦР на вирус КЭ, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia miyamotoi* (*B. miyamotoi*).

Результаты. Установлено, что в 2,5% случаев ( $n = 4$ ) этиология ИКБ у детей связана с *B. miyamotoi*. Заболевание встречалось только в виде моноинфекции, характеризовалось весенне-летней сезонностью и трансмиссивным путем передачи инфекции. Средний возраст пациентов был  $5,7 \pm 2,8$  лет, из них 75% были мальчики. Инкубационный период составил  $13,5 \pm 1,2$  дня. Заболевание отличалось острым течением, выраженностью общеинфекционного синдрома в виде фебрильной лихорадки до  $40^\circ\text{C}$  продолжительностью  $3,4 \pm 0,4$  дня в сочетании с неврологической симптоматикой в виде судорожного синдрома, общемозговыми и менингеальными симптомами на фоне отсутствия эритемы и наличия характерных изменений в гемограмме в виде лейкопении с относительным нейтрофилезом и тромбоцитопенией у всех больных. Диагноз был подтвержден на основании выделения *B. miyamotoi* из сыворотки крови больных методом ПЦР.

Заключение. На территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области установлена циркуляция *B. miyamotoi*, которая у детей вызывает развитие безэритемных форм ИКБ. Это является основанием обязательного обследования детей с подозрением на инфекции, передаваемые клещами, на *B. miyamotoi* с помощью метода ПЦР.

#### ЭТИОЛОГИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ СЕРОЗНЫХ МЕНИНГИТОВ У ДЕТЕЙ

Н.В. Скрипченко, Н.В. Матюнина, В.Н. Команцев, Е.А. Мурина, М.В. Иванова

ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА РФ, Санкт-Петербург

Серозные менингиты (СМ) являются одной из самых актуальных проблем нейроинфекционной патологии у детей, что обусловлено их повсеместным распространением. Заболеваемость СМ в мире составляет 11–15 на 100 000 населения в год и во многом зависит от эндемичности района, наличия регистрации и качества лабораторной диагностики.

Целью данного исследования явилось изучение этиологической структуры и эпидемиологических характеристик СМ у детей.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ историй болезней детей с СМ, поступивших в клинику ФГБУ НИИДИ ФМБА России в период с 01.2005 г. по 12.2012 г. За последние 8 лет в клинике ФГБУ НИИДИ ФМБА России наблюдалось 1132 случая СМ у детей в возрасте от 1 месяца до 18 лет. Чаще болели мальчики — 64%. Среди заболевших дети от 4 до 7 лет составили 31,5%, от 8 до 12 лет — 31,2% и старше 12 лет — 31%. По сравнению с предыдущими годами (2002–2004 гг.) отмечено увеличение заболеваемости СМ детей младшего возраста: до 3 лет (с 1,9 до 6,5%) и 4–7 лет (с 18 до 31,5%) соответственно. В этиологической структуре преобладали энтеровирусы — 42% (472 ребенка). Среди серотипов энтеровирусов доминировали ЕСНО 6, 11, 30. Значительно реже возбудителями СМ были вирусы клещевого энцефалита — 2% (22 ребенка), боррелии — 1% (12 детей), вирусы ветряной оспы, эпидемического паротита, Эпштейна–Барр,

герпесвирусы 1 и 2 типа и иерсинии. У 1,2% детей имела место смешанная этиология заболевания. В 52,6% случаев (596 детей) диагноз СМ не имел этиологического подтверждения. Однако с 2010 г., благодаря внедрению в ФГБУ НИИДИ ФМБА России современных методов вирусологической и бактериологической диагностики, этиологическая расшифровка СМ у детей возросла с 12–38% в 2006–2008 гг. до 60–72% в 2010–2012 гг. Сезонность заболевания сместилась на август–ноябрь месяцы, тогда как в предыдущие годы максимальное число случаев приходилось на июль–сентябрь.

Заключение. На основании проведенного исследования подтверждена ведущая роль энтеровирусов (до 42%) в развитии СМ у детей. В возрастной этиологической структуре СМ у детей старше 4 лет имеют место энтеровирусные СМ, тогда как арбовирусные (клещевой энцефалит) и боррелиозные характерны для дошкольников и детей младшего школьного возраста, смешанная этиология СМ — для старших возрастных групп. Внедрение современных методов лабораторной диагностики повысило степень этиологической расшифровки СМ у детей.

#### ВОЗДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТОВ СЕРЕБРА И НАНОСЕРЕБРА НА МИКРООРГАНИЗМЫ

О.Д. Смирнова, Л.Ф. Абаева, Е.Н. Петрицкая, Д.А. Рогаткин, Е.В. Русанова

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва

Принято считать, что ионы серебра обладают антимикробной активностью. Существуют медицинские антибактериальные препараты серебра (Колларгол, Протаргол, ляпис). Полагают, что ионы серебра связывают сульфгидрильные группы ферментов и таким образом ингибируют жизнедеятельность. Во многих источниках утверждается также чудодейственная антибактериальная активность наночастиц серебра.

Для проверки был поставлен стандартный микробиологический тест с суточной инкубацией бактерий и грибов на кровяном агаре при 37°C в присутствии препаратов серебра. Использованы грамотрицательные штаммы (*Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*), обладающие капсулой, и грамположительные (*Staphylococcus aureus* — золотистый стафилококк с наибольшим фактором патогенности), а также клинические штаммы грибов *Candida albicans*.

Основным объектом исследования являлся коллоидный раствор наночастиц серебра «Серебряный щит» (ООО «Фрактал-М») с концентрацией 50 мг/л и 100 мг/л и диаметром частиц 15±5 нм. В качестве объектов сравнения использовались: раствор ионов серебра с концентрацией 0,5 мг/л, полученный с помощью прибора «Георгий», 1% Протаргол, пластинки серебра, раствор фурацилина и антибиотики: оксациллин, ампициллин, цефотаксим, имипенем.

Для вычленения роли нитратов и ионов серебра сравнивалось воздействие на рост бактерий водных растворов Протаргола и растворов нитратов других металлов —  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Sn}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  и  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  — в эквивалентных для 1% Протаргола концентрациях.

Растворы наночастиц серебра 50 и 100 мг/л не оказали никакого бактерицидного влияния. Отсутствовал эффект и для раствора ионов серебра, полученного с помощью прибора «Георгий» на режиме с усиленным насыщением воды ионами серебра до 0,5 мг/л, а так-

же для чистых пластин серебра, положенных на агар. Эксперимент с дисками перечисленных антибиотиков давал отчетливую зону подавления роста вокруг диска, как и для 1%-го Протаргола.

Обнаружено, что в местах прикапывания всех 0,052-молярных растворов нитратов металлов рост *S. aureus* и *E. coli* полностью подавлялся, что было дополнительно подтверждено дополнительной культивацией на жидких средах.

Сделан вывод о неэффективности наночастиц серебра и коллоидного серебра как антимикробного средства и высказана гипотеза совместного антибактериального влияния тяжелых металлов с кислотными и щелочными анионами.

#### СПЕКТР ЦИТОКИНОВ ХОЗЯИНА В ОТВЕТ НА *FRANCISELLA TULARENSIS*

В.М. Сорокин, Н.В. Павлович, Н.Н. Оноприенко, Р.В. Писанов, Л.А. Прозорова

ФКУЗ Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

В последние годы научный интерес многих исследовательских групп сконцентрирован на изучении цитокинового ответа макроорганизма на туляремийный микроб, знание которого поможет осмыслить закономерности взаимодействия паразит-хозяин. Целью настоящей работы явилось изучение цитокин-индуцирующей способности природных вирулентных и изогенных ЛПС-дефектных авирулентных штаммов *F. tularensis* на модели перитонеальных полиморфоядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) белых мышей методом ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Все изученные авирулентные штаммы *F. tularensis* трех основных подвидов вызывали раннюю индукцию провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12p40 и фактора иммуносупрессии TGF- $\beta$ . При этом показано, что эти штаммы способны вызывать *in vitro* в инфицированных макрофагах и *in vivo* в организме белых мышей в течение нескольких дней. Полученные нами данные о способности ЛПС-дефектных мутантов *F. tularensis* разных подвидов вызывать индукцию провоспалительных цитокинов свидетельствуют о том, что модификация цитокинового ответа связана не с отсутствием узнавания авирулентных штаммов системой врожденного иммунитета макроорганизма, а, по-видимому, с супрессией провоспалительных цитокинов, связанной с индукцией фактора иммуносупрессии TGF- $\beta$ . При изучении цитокинового ответа ПМЯЛ белых мышей на вирулентные штаммы *F. tularensis* удалось выявить его дифференцированный характер в зависимости от подвидовой принадлежности бактерий. Обнаруженное отличие заключалось в отсутствии способности штаммов подвидов *mediasiatica* и *holarctica* вызывать как раннюю, так и позднюю индукцию TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ . В этих же условиях штамм *F. tularensis* подвида *tularensis* активировал индукцию как провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , так и противовоспалительного цитокина IL-10 и фактора иммуносупрессии TGF- $\beta$ , что, возможно, обеспечивало более эффективное подавление воспалительного ответа по сравнению со штаммами других подвидов. Полученные нами данные будут способствовать лучшему пониманию особенностей патогенеза при туляремии, вызванной штаммами разной подвидовой принадлежности.

## К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ БАКТЕРИЙ РОДА *YERSINIA*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ЯКУТИИ В УСЛОВИЯХ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

О.Н. Софронова<sup>1</sup>, Е.А. Богумильчик<sup>3</sup>, И.А. Романова<sup>1</sup>,  
А.М. Стенкова<sup>2</sup>, К.В. Гузев<sup>2</sup>, М.П. Исаева<sup>2</sup>, Г.Я. Ценева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Саха (Якутия), г. Якутск

<sup>2</sup>ФБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток

<sup>3</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Заболевания, вызываемые *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, составляют значительную часть инфекционной патологии. Важной особенностью возбудителей указанных заболеваний является изменение их биологических свойств, а также пейзажа циркулирующих *Yersinia*, снижение доли ранее доминирующих серотипов и выявление новых серо-био-генотипов, ранее считавшихся непатогенными.

Изучение молекулярно-генетических особенностей иерсиний вносит вклад в фундаментальные представления о циркуляции природных популяций микроорганизмов, их патогенном потенциале, обусловленном экологической средой обитания.

Изучены 78 культур иерсиний, изолированных на территории Якутии. Для штаммов *Yersinia enterocolitica* установлена принадлежность к серотипам O:5,27; O:6,31; O:7,8, а также наличие хромосомного гена *ustB*, кодирующего термостабильный энтеротоксин, что свидетельствует о патогенном потенциале популяции *Yersinia enterocolitica* биотипа 1А.

Известно, что *Y. enterocolitica* является гетерогенным видом. Изучены генетические особенности родственных связей между штаммами и популяциями иерсиний, на основе *gyrB*-генотипирования. Установлен высокий уровень дивергенции у штаммов *Yersinia kristensenii* и *Yersinia intermedia*. Штаммы *Yersinia enterocolitica* 1А биотипа на общем филогенетическом дереве иерсиний группируются с типовыми штаммами биотипа 1А, формируя собственную ветвь в пределах вида *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica* subsp. *palaearctica* и *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica*).

Показана возможность применения многопраймерной ПЦР для детекции бактерий рода *Yersinia*, на основе генотипирования *ompF* порина с дифференциацией патогенных видов *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*.

Таким образом, в условиях вечной мерзлоты циркулируют различные виды *Yersinia*, обладающие патогенным потенциалом и сложной генетической структурой.

## ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *Mycobacterium avium* SUBSP. *HOMINISSUIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ

Д.А. Старкова<sup>1</sup>, Т.Ф. Оттен<sup>2</sup>, И.В. Мокроусов<sup>1</sup>,  
А.А. Вязовая<sup>1</sup>, Б.И. Вишневский<sup>2</sup>, О.В. Нарвская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург

Нетуберкулезные микобактерии вида *Mycobacterium avium* — типичные обитатели окружающей среды, способные вызывать микобактериоз — инфекционное заболевание диких и домашних животных, птиц и человека. Растет число случаев заболевания микобакте-

риозом, особенно среди ВИЧ-инфицированных, у которых процесс носит диссеминированный характер с неблагоприятным прогнозом.

Целью исследования явилась генотипическая характеристика российских штаммов *M. avium*, выделенных от человека.

Объектом изучения были 85 штаммов *M. avium*, выделенных от различных групп эпидемиологически не связанных пациентов в Санкт-Петербурге в 2008–2011 гг. Анализ полиморфизма фрагментов рестрикции участка гена *hsp65* путем сравнения паттернов рестрикции *BstEII* и *HaeIII* подтвердил принадлежность штаммов к виду *M. avium*. Принадлежность штаммов *M. avium* к subsp. *hominissuis* была установлена на основе отсутствия продуктов амплификации инсерционных элементов IS901 и IS900, поскольку данные специфические последовательности имеются лишь в геномах штаммов *M. avium* subsp. *avium* (IS901), *paratuberculosis* (IS900) и *silyaticum* (IS901).

VNTR-типирование по 8 локусам (292, X3, 25, 47, 3, 7, 10 и 32 согласно международной схеме Thibault et al., 2007), впервые примененное для характеристики российской популяции *M. avium*, выявило генетическую неоднородность штаммов возбудителя микобактериоза человека. Шесть из 15 VNTR-типов с идентичными 8-значными числовыми профилями (число повторов в локусах) представлены кластерами, в состав которых входили 76 (89,4%) штаммов. Наиболее крупные кластеры с числовыми профилями 22221128 и 24221128 включали 45 (59,2%) и 15 штаммов (19,7%) соответственно; остальные кластеры содержали от двух до семи штаммов. Штаммы кластера 2533112г8 отличались от остальных «усеченным» локусом TR10 за счет внутренней делеции 15 п.н. (GenBank accession number JQ918769.1). Данный аллель описан нами впервые.

Учитывая, что заражение человека осуществляется от источников окружающей среды, высокий уровень кластеризации изученных штаммов *M. avium* при отсутствии связи между случаями заболевания можно объяснить невысокой вариабельностью восьми локусов VNTR; наибольшим полиморфизмом отличались локусы TR X3 и TR 25 (HGDI 0,61 и 0,34 соответственно), локусы TR 3 и TR 7 были однородны.

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГЕНОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА

Л.В. Сужаева, М.А. Макарова, З.Н. Матвеева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Согласно ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», штаммы *E. coli* относят к представителям нормальной микробиоты кишечника по фенотипическим признакам, при этом отсутствуют данные о наличии у них факторов вирулентности. Неизвестна также их принадлежность к филогенетическим группам.

Проведено изучение генов вирулентности (*lt*, *st*, *vt1*, *vt2*, *ial*, *ipaH*, *bfpA*, *eae*, *aaf*, *fimA*, *pap*, *afa*, *sfa*, *aer*), резистентности к антимикробным препаратам (АМП) и принадлежности к филогенетическим группам (ФГ) 100 штаммов *E. coli*, идентифицированных как

«нормальная» микробиота кишечника. Штаммы принадлежали к трем из четырех ФГ (группы: А — 0%, В2 — 50%, D — 10%). Гены диареегенных *E. coli* не были обнаружены ни у одного штамма. Штаммы имели гены эшерихий — возбудителей заболеваний внекишечной локализации: *fimA* — 73%, *pap* — 10%, *afa* — 6%, *sfa* — 17%, *aer* — 39%, а также сочетания: *fimA*, *pap* и *sfa* — 17%, *fimA* и *pap* — 14%, *fimA* и *afa* — 10%, *fimA* и *sfa* — 13%. Такие штаммы в основном отнесли к филогенетической группе В2.

Устойчивыми к АМП оказалось 37% штаммов. Отмечена резистентность к бета-лактамам, аминогликозидам, фторхинолонам, тетрациклинам, нитрофуранам, ко-тримоксазолу и хлорамфениколу. Частота выявления устойчивых штаммов варьировала от 1% (нитрофураны) до 23% (ампициллин), чувствительность сохранялась к карбапенемам, амикацину и фосфомицину. Резистентность к цефалоспорином расширенного спектра была выявлена у 4% штаммов и обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра преимущественно СТХ-М класса. Только 18 штаммов были чувствительны к АМП, не имели генов вирулентности и по этим характеристикам могли быть отнесены к «истинным» представителям нормальной микробиоты кишечника. Они принадлежали к филогенетической группе А.

Таким образом, штаммы *E. coli*, которые по существующему стандарту расцениваются как представители нормальной микробиоты, представляют гетерогенную группу по факторам вирулентности, отношению к АМП и принадлежности к ФГ. Наличие резистентных штаммов в составе нормальной микробиоты является следствием использования АМП в медицине и сельском хозяйстве. Штаммы *E. coli*, обладающие генами вирулентности (*pap*, *aer*), способны вызвать инфекционный процесс за пределами кишечного эпитопа.

#### ОПТИМИЗАЦИЯ NESTED-ВАРИАНТА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ МОНИТОРИНГА ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ

С.А. Татарников, А.В. Мазепа, С.В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Наличие на территории Российской Федерации активных природных очагов туляремии, приуроченных к водным биоценозам, обуславливает необходимость их постоянного комплексного мониторинга с применением современных технологий и подходов, в том числе и молекулярно-генетических, направленных на ускоренное обнаружение возбудителя. Эффективность обследования водных биоценозов экспресс-методами затруднена вследствие низких концентраций возбудителя. Известный факт, что заражающая доза для человека составляет всего 10 микробных клеток *Francisella tularensis*, тогда как чувствительность обычного метода ПЦР составляет 1,10<sup>3</sup> м.к. в пробах, также определяет приоритетность разработки и внедрения в практику эпидемиологического мониторинга очагов туляремии высокочувствительных методов индикации патогена. Nested-ПЦР — одна из наиболее эффективных модификаций ПЦР, характеризующаяся наибольшей чувствительностью и специфичностью.

Цель исследования — разработка nested-варианта ПЦР для индикации единичных бактерий *F. tularensis*.

Для выявления возбудителя туляремии nested-вариантом ПЦР, в качестве мишени был выбран ген «домашнего хозяйства» (англ. house-keeping gene) *putA*. На нуклеотидную последовательность данного гена сконструированы амплификационные праймеры, специфичность которых была проверена на базе данных GenBank с помощью приложения BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) и на коллекционных штаммах *F. tularensis* четырех подвидов (*tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida*), а также гетерологичных микроорганизмах. Оптимизированы состав реакционной смеси и программа амплификации. Чувствительность nested-варианта ПЦР определялась при исследовании микробных взвесей чистых культур и серийных разведений геномной ДНК *F. tularensis*, а также проб объектов внешней среды (воды и ила), искусственно инфицированных возбудителем туляремии. Полученные результаты подтвердили высокую чувствительность и специфичность сконструированной тест-системы, позволяя выявлять низкие концентрации ДНК, эквивалентные единичным клеткам *F. tularensis*, вплоть до 4 м.к./мл.

Вследствие более высокой чувствительности nested-варианта ПЦР по сравнению с обычной ПЦР, применение его целесообразно в случаях, когда в исследуемом материале предполагается низкое содержание микроорганизмов. Отмечена эффективность применения nested-варианта ПЦР при эпидемиологическом мониторинге водных биоценозов в природных очагах туляремии, основными объектами исследования которых являются вода, ил и гидробионты.

#### АПРОБАЦИЯ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА

Ж.В. Терентьева, Н.Е. Любимова, Ю.В. Останкова, Л.В. Лялина, А.В. Семенов, В.В. Дорошкевич, О.И. Федуняк

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

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

В Российской Федерации (РФ) в целом и на территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО) имеет место тенденция к снижению заболеваемости эпидемическим паротитом. Показатель заболеваемости с 2009 г. составляет менее 1 на 100 000 населения.

В настоящее время в практическом здравоохранении подтверждение диагноза эпидемического паротита проводится серологическими методами, в частности, методом ИФА, с помощью которого можно определить наличие вирусспецифических антител классов IgM и IgG. Однако указанные методы не позволяют установить генотип циркулирующего вируса, подтвердить достоверность предполагаемого источника инфекции, определить местные и завозные случаи заболевания, проводить дифференциальную диагностику серозных менингитов, вызванных дикими и вакцинными штаммами вируса эпидемического паротита. Согласно опубликованным данным, в мире выявлено 12 генотипов вируса, в РФ уста-

новлена циркуляция 2-х генотипов (С и Н). В связи с изложенным, разработка и внедрение в практику молекулярно-генетического метода диагностики паротитной инфекции и генотипирование вируса является актуальной задачей.

В работе использованы пробы слюны, взятые у взрослых пациентов с предварительным диагнозом эпидемического паротита, в качестве контроля использовалась слюна здоровых людей. Выделение РНК и обратная транскрипция проводились с применением наборов «Рибо-преп» и «Реверта-Л» (производство ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Для амплификации были использованы подобранные праймеры для полиморфного участка генома вируса, включающего в себя, в том числе, ген белка SH, по которому преимущественно проводят генотипирование вируса. Оценка амплификации осуществлялась в акриламидном геле, окрашенном бромистым этидием.

В ходе работы у двух человек с подтвержденным впоследствии диагнозом эпидемического паротита был детектирован продукт амплификации, соответствующий искомому. У лиц из контрольной группы и у контактных с больными такой продукт амплификации выявлен не был, что говорит об адекватной специфичности подобранных праймеров и условий реакции.

Продолжением данной работы будет секвенирование участка генома выделенных изолятов вируса эпидемического паротита.

#### **ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ВКЭ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИСТАНЦИИ БЕЛКА Е ШТАММОВ ВКЭ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЗАРАЖЕНИЯ**

Л.Л. Терехина, Ю.В. Рогова, Л.Ю. Романова,  
М.Ф. Ворович, Г.Г. Карганова

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

Изучение нуклеотидной и аминокислотной последовательностей ВКЭ, выделенных в разных регионах, позволило разделить эти вирусы на три подтипа: европейский, сибирский и дальневосточный. Недавно получены данные о циркуляции в Азии вариантов ВКЭ, филогенетически далеко отстоящих от других известных подтипов. На территории РФ циркулируют все подтипы вируса, но преобладает сибирский генотип. В настоящее время существует 4 препарата инаktivированных концентрированных очищенных вакцин для защиты от ВКЭ. Две вакцины приготовлены на основе штамма, относящегося к дальневосточному подтипу ВКЭ, и две — на основе штаммов европейского подтипа.

Целью этой работы было изучение влияния уровня различий аминокислотных последовательностей поверхностных белков Е штаммов, используемых для приготовления вакцин, и штаммов ВКЭ, используемых для заражения лабораторных животных, на протективную активность вакцинных препаратов.

Мышей линии BALB/c двукратно иммунизировали вакцинными препаратами внутримышечно с последующим разрешением их вирусами субкутанно (с/к) в дозе 30–1000LD<sub>50</sub>. В ходе работы использовали 11 штаммов ВКЭ всех известных генотипов (европейского, сибирского, дальневосточного и 2 новых),

вирус омской геморрагической лихорадки (ОГЛ), как наиболее близкий в серокомплексе КЭ, а также наиболее далекий вирус в комплексе — Повассан.

Уровень защиты от гетерологичных вирусов ОГЛ и Повассан был в прямой зависимости от молекулярной дистанции. При анализе защиты от разных штаммов ВКЭ прямой корреляции между молекулярной дистанцией и протективной активностью вакцин выявлено не было.

#### **МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ КЛЕЩЕЙ**

Д.И. Тимофеев<sup>1</sup>, Н.В. Фоменко<sup>1</sup>, М.К. Иванов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Кровососущие иксодовые клещи являются носителями множества патогенов, вызывающих инфекционные заболевания человека. В настоящее время для принятия взвешенного решения об экстренной профилактике укушенных лиц проводят анализ клещей на предмет выявления специфических маркеров клещевых инфекций. Кроме того, при развитии заболевания, наличие в анамнезе укуса инфицированным клещом может облегчить постановку диагноза. Для выявления нуклеиновых кислот (НК) боррелий, анаплазм, эрлийи и вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) активно применяют метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), а для выявления антигена ВКЭ — иммуноферментный анализ. Нередко в одной организации используют оба упомянутых метода. Однако, как правило, растворы, применяемые для гомогенизации клещей, рекомендованные производителями иммуноферментных тестов либо ПЦР-наборов, не являются взаимозаменяемыми. Неверное их использование может приводить к ложноотрицательным результатам. Потери НК в процессе экстракции, разрушение НК при хранении биоматериала, ошибки лаборанта и т.п. могут приводить к аналогичным последствиям в ПЦР-анализе. Для снижения вклада этих факторов необходима стандартизация анализа и надежный контроль эффективности выделения НК из клеща.

Нами подобран универсальный раствор для подготовки образцов клещей, пригодный для использования как с иммуноферментными, так и с ПЦР-наборами, производимыми ЗАО «Вектор-Бест». Показано, что амплификация консервативных фрагментов геномной ДНК клеща с полуколичественной оценкой при помощи ПЦР-РВ позволяет обеспечить эндогенный контроль качества экстракции НК из клещей и помогает выявить ошибки, связанные с их недостаточным измельчением. Разработаны и апробированы эффективные «ручные» процедуры выделения НК из клещей, не требующие использования жидкого азота, а также методика для измельчения клещей в закрытых пробирках с помощью электромеханического гомогенизатора. Показано преимущество использования гомогенизатора совместно с реагентом «Матрикс-К» при выявлении НК из клещей перед «ручными» методиками (высокая пропускная способность, независимость от человеческого фактора, повышение аналитической чувствительности и воспроизводимости, снижение риска кросс-контаминации).

**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ КОРЬЮ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ  
В ПЕРИОД ЕЕ ЭЛИМИНАЦИИ**Е.В. Тимофеева<sup>1</sup>, М.А. Окунева<sup>1</sup>, А.А. Соболевская<sup>2</sup>,  
О.В. Дегтярев<sup>2</sup>, М.А. Бичурина<sup>3</sup>, Л.В. Лялина<sup>3</sup><sup>1</sup>Управление Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу<sup>2</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Санкт-Петербурге<sup>3</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

В соответствии с рекомендациями ВОЗ, в 2002 г. в городе началась реализация Национальной программы ликвидации кори в Российской Федерации к 2010 г. С 2000 г. в Санкт-Петербурге регистрировались единичные случаи кори, в основном среди взрослых. Показатели заболеваемости как взрослого, так и детского населения не превышали 0,5 на 100 тыс. населения. Исключением стал 2006 г., когда показатель составил 1,1.

В 2010–2011 гг., несмотря на ухудшение эпидемической ситуации в отношении кори в странах Западной Европы и в отдельных субъектах Российской Федерации, а также завоз кори в Санкт-Петербург, распространения инфекции среди жителей города не произошло. В 2011 г. Национальной сертификационной комиссией была подтверждена готовность к сертификации Санкт-Петербурга как территории, свободной от эндемической кори.

В 2012 г. в Санкт-Петербурге заболеваемость корью была определена внутрибольничной вспышкой в детской больнице в связи с заносом кори больным, прибывшим из Чеченской Республики, и вовлечением в эпидемический процесс детей, не привитых по возрасту или имеющих медицинские противопоказания, а также детей, родители которых отказались от прививок. Поздняя диагностика кори, несоблюдение противоэпидемического режима в больнице явились основными причинами возникновения вспышки кори в лечебном учреждении. Регистрация внутрибольничной вспышки кори в детской больнице в Санкт-Петербурге стала типичным проявлением эпидемического процесса, который был характерен и для других субъектов Российской Федерации в 2011–2012 гг.

Благодаря проводимой в городе иммунизации детей и взрослых, был сформирован надежный коллективный иммунитет против кори, в связи с чем не произошло широкого распространения инфекции среди населения, и не было зарегистрировано групповых очагов кори в организованных коллективах. Приоритетными направлениями в работе остаются: работа с населением в части повышения охвата прививками против кори, своевременная клиническая диагностика и лабораторное подтверждение каждого случая коревой инфекции, включая типирование вирусов кори с помощью молекулярно-биологических методов исследования.

**ПРИЧИНЫ РОСТА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КОРЬЮ  
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2011–2012 гг.**Н.Т. Тихонова, О.В. Цвиркун, А.Г. Герасимова,  
Е.Б. Ежлова, С.В. Шульга, Т.А. Мамаева,  
М.А. Наумова, Д.Д. Мовчан*Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского*

Повсеместное использование живых вакцин привело к значительному снижению заболеваемости корью и краснухой во многих странах мира, в том

числе в России. Однако, начиная с середины 2009 г., во многих странах Западной Европы наблюдается выраженный рост заболеваемости корью. В 2011 г. в 38 странах европейского региона зарегистрировано более 25,8 тыс. случаев заболевания корью, показатель заболеваемости составил 28,4 случая на 1 млн населения.

Реализация Программы ликвидации местных случаев кори в России привела к выраженному снижению заболеваемости корью в стране к 2010 г. С 2007 г., при стабильно высоком охвате населения прививками ЖКВ (95% и более), относительные показатели заболеваемости корью не превышали 1 случая на 1 млн населения, и отсутствовала циркуляция эндемичного штамма вируса кори, что было подтверждено данными молекулярно-генетического мониторинга штаммов вируса кори, циркулировавших в разных регионах РФ.

Однако с конца 2011 г. в двух регионах России — ЮФО и Москве — начался выраженный рост заболеваемости корью, при этом среди заболевших более 70% не были привиты или не имели сведений о прививках. Показатели заболеваемости корью в стране составили в 2011 г. — 0,44, в 2012 г. — 1,5 на 100 000 населения и существенно превышали критерии элиминации кори (менее 1 случая на млн населения).

Основной причиной роста заболеваемости корью явились дефекты в планировании и проведении вакцинации, недостаточный контроль организации иммунопрофилактики, в первую очередь в группах высокого риска инфицирования, что приводит к появлению восприимчивой когорты населения и возникновению вспышек в случае завоза инфекции.

Рост заболеваемости корью в 2011–2012 гг. не исключает возможности ликвидации местных случаев кори на территории РФ. Основным условием является достижение достоверно высокого охвата населения прививками против этой инфекции на всей территории страны, в каждом субъекте, муниципальном образовании, ЛПУ, на каждом педиатрическом участке.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ  
СТРЕПТОКОККОВ**

Артем А. Тотолян

*ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН,  
Санкт-Петербург*

Задача молекулярной характеристики патогенов направлена на детальную оценку бактериального звена эпидемиологической ситуации. Внимание уделено разнообразию возбудителей на геномном и геномном уровнях, а также роли мобильных генетических элементов в дифференцировке патогенных потенциалов штаммов. Прогресс в анализе полногеномных последовательностей патогенов внес большой вклад в технологию характеристики микроорганизмов. Проблема рассматривается на модели патогенных стрептококков, вызывающих политропную патологию с высоким уровнем социально-экономических потерь.

Ежегодная заболеваемость, вызываемая *S. pyogenes*, исчисляется более чем 616 млн случаев тонзиллофарингитов и 111 млн — кожных инфекций, что соответствует 10% населения планеты; погибает более 0,5 млн человек от инвазивных, сердечных

и почечных заболеваний. Данный возбудитель является одной из причин глобальной заболеваемости и смертности. В этих цифрах не отражена патология, вызываемая стрептококками групп В, С и G. *S. agalactiae* лидирует среди инфекций новорожденных и занял видное место в этиологии болезней родовых путей беременных, бесплодия и патологии пожилых.

Для характеристики стрептококков следует исходить из знаний об их геноме и патогенных факторах. Во многих странах эту работу выполняют центры по контролю за заболеваемостью. Наиболее информативны следующие подходы:

- *emt*-генотипирование штаммов-изолятов по данным секвенирования *emt*-генов, кодирующих переменные участки типовых М-белков стрептококка;
- MLST-генотипирование штаммов по данным сравнительного секвенирования аллелей участков «house-keeping» маркерных генов конкретного вида;
- дифференцировка генетических вариантов изолятов по ДНК умеренных фагов и трансдуцируемых ими генов;
- дифференцировка штаммов по ДНК различных мигрирующих элементов и их генам;
- дифференцировка штаммов по данным электрофореза рестрикционных фрагментов ДНК;
- различные виды ПЦР на маркерные гены и их аллели.

## ГЕМОКОНТАКТНЫЕ ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ В И С В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Г.Ф. Трифонова, А.Ю. Грибанов, С.Л. Мукомолов  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Проблема гемоконтактных вирусных гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) по-прежнему остается весьма актуальной. По данным ВОЗ в мире около 2 млрд человек имеет серологические свидетельства текущей или перенесенной инфекции, вызванной вирусом гепатита В, и 130–170 млн человек — вирусом гепатита С.

Известно, что эти инфекции часто формируют хронический патологический процесс, завершающийся циррозом и раком печени и приводящий к преждевременной смерти пациентов. По данным CDC, среди основных причин, приводящих к хронической патологии печени, 11% приходится на ВГВ и 26% — на ВГС. Больные хроническими формами инфекции длительно остаются активными источниками инфекции.

Наряду со снижением заболеваемости острым ВГВ в Российской Федерации с 19,8 на 100 тыс. населения (2002 г.) до 1,4 на 100 тыс. населения (2012 г.) и Санкт-Петербурге — 25,2 на 100 тыс. населения (2002 г.) до 2,2 на 100 тыс. населения (2012 г.), наблюдается ярко выраженная тенденция роста заболеваемости хроническими ВГВ в Санкт-Петербурге в 2 раза и более (2002 г. — 33,3, 2009 г. — 72,5 и 2012 г. — 65,7 на 100 тыс. населения). В РФ уровень заболеваемости хроническими ВГВ колеблется на одном уровне 15,0 на 100 тыс. (2002 г.) и 14,4 на 100 тыс. (2012 г.). Аналогичная ситуация в Санкт-Петербурге наблюдается при ВГС: тенденция снижения заболеваемости острыми ВГС

с 22,1 на 100 тыс. (2002 г.) до 2,1 на 100 тыс. населения (2012 г.) и рост заболеваемости хроническими ВГС — 69,5 на 100 тыс. (2002 г.) и 116,6 на 100 тыс. населения (2012 г.).

Проводимый эпидемиологический надзор за острыми гепатитами В и С позволяет разработать стратегию профилактики этих инфекций, в том числе проведение вакцинации против гепатита В и контроля за эффективностью проведенных мероприятий.

Для профилактики ВГВ и ВГС важна не только специфическая профилактика, заключающаяся в массовой вакцинации против ВГВ, но и другие мероприятия, включающие целый комплекс действий, таких как тестирование доноров крови на маркеры вирусов ВГВ и ВГС, лечение хронических форм гепатитов современными противовирусными препаратами, соблюдение противоэпидемического режима в стационарах и объектах бытового обслуживания населения, правил личной гигиены и ряд других, не менее важных мер.

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ГЕПАТИТА С: ВАЖНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Г.Ф. Трифонова, С.Л. Мукомолов  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Санкт-Петербург

Вирусный гепатит С (ВГС) остается актуальной проблемой для общественного здравоохранения во многих странах мира по причине частого формирования хронического патологического процесса, завершающегося неблагоприятными исходами. Больные хроническими формами инфекции длительно остаются активными источниками инфекции.

Распространенность хронического вирусного гепатита С характеризуется географической неоднородностью. Так, в 2003 г. эксперты ВОЗ выделили четыре уровня распространенности этой инфекции по странам. Более 10% населения являются носителями ВГС в Египте, в некоторых странах Центральной Африки, Монголии; от 2,5 до 10% носителей ВГС проживает в северо-западной и центральной части Африканского континента, в большинстве стран Средней Азии, Китае и Румынии. Группа стран с показателями распространенности ВГС от 1 до 2,5% — самая многочисленная, она включает США, Бразилию, большинство стран Европы (среди них и Украина), Турцию, Россию, Казахстан, Ливию, а также запад и юг Африки, Саудовскую Аравию, Индию, страны Юго-Восточной Азии, Японию, Австралию и тихоокеанские острова. Относительно низкая распространенность инфекции — 0–1% — отмечается в Канаде, Центральной Америке, большинстве стран Южной Америки, в Скандинавии, Великобритании, Германии и Иране.

Географические различия в распространенности ВГС наблюдаются не только между отдельными регионами земного шара, но и в пределах одной страны. Так, уровень заболеваемости населения Российской Федерации ВГС значительно различается не только по федеральным округам (ФО), но существенные различия показателей могут иметь место в пределах одного округа, например, в пределах Уральского ФО. Причины такой территориальной неравномерности изучены недостаточно, что является одной из задач

в работе научно-методического центра по эпидемиологическому надзору за вирусными гепатитами при Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.

### К ВОПРОСУ ВЛИЯНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРИВИВОК ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ООИ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ СОТРУДНИКОВ, РАБОТАЮЩИХ С ПБА I–IV ГРУПП

Е.А. Тюрин, Л.В. Чекан

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболensk, Московская область

В соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами сотрудники, допускаемые к работам с возбудителями особо опасных инфекций (ООИ) бактериальной природы, должны делать профилактические прививки.

Цель работы: оценка влияния постоянной и/или периодической вакцинации на уровень заболеваемости сотрудников рядом других заболеваний инфекционной и соматической природы. Для анализа использованы амбулаторные карты сотрудников Центра, работающих с ПБА I–IV групп с учетом лиц, постоянно прививающихся против возбудителей ООИ, лиц, допущенных для работ с ПБА III–IV групп, больничные листы сотрудников за 2011 г. Все сотрудники были распределены на группы по количеству проводимых прививок с учетом пола и возраста.

Наибольшее количество заболеваний (114 случая или 60,3% от общего числа) пришлось на простудные заболевания. Показательно, что сотрудники, постоянно прививаемые против возбудителей ООИ, болели простудными заболеваниями в 3 раза реже, чем сотрудники, ранее не прививавшиеся, однако эти данные не могут быть достоверными из-за небольшого количества выборки. Работники, ранее прививаемые против возбудителей ООИ, но которые по роду своей деятельности в настоящее время не прививаются, болели простудными заболеваниями в 2 раза реже. Однако, если сравнивать суммарные показатели первых трех групп и четвертой группы, то они примерно равны и составляют 53 и 61 случая — соответственно 28 и 32% относительно общего числа зарегистрированных случаев. Выявлено, что наибольшее число заболевших составляют женщины, достигшие возраста 45 лет и выше. Мужчины моложе 45 лет практически не болеют. При анализе заболеваемости всех сотрудников, прививаемых против возбудителей ООИ, оказалось, что болели они, независимо от пола и возраста, относительно одинаково.

Преобладающим фактором, влияющим на здоровье сотрудников Центра, является переохлаждение и, как следствие — простудные заболевания. Наибольшее число таких сотрудников выявлено среди лиц, не подвергавшихся профилактическим прививкам против ООИ. Для решения вопроса влияния вакцинации на здоровье персонала необходимо проведение исследований с привлечением специалиста-иммунолога и применения методов анализа иммунного ответа на клеточном и гуморальном уровне.

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТИЦИЛЛИНОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ АМБУЛАТОРНЫХ И ГОСПИТАЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ г. КАЗАНИ

Ю.А. Тюрин

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

Учитывая рост числа как госпитальных, так и внебольничных инфекций, вызванных метициллинорезистентными штаммами *S. aureus*, исследования по генотипированию метициллинорезистентности у штаммов, циркулирующих среди различных групп пациентов в г. Казани, представляют практическую актуальность.

Цель исследования — сравнить генотипы метициллинорезистентных *S. aureus* по SCCmec комплексу у различных по источнику выделения штаммов для идентификации их происхождения.

В выборочное исследование были включены 194 клинических штамма *S. aureus*. Штаммы были получены за период с 2007–2011 гг. от амбулаторных и госпитальных пациентов специализированной поликлиники ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора и многопрофильного стационара г. Казани. Чувствительность к оксациллину определяли по стандартам NCLS, 2004. Генотипирование *Staphylococcus aureus* проводили по протоколу, представленному в методических рекомендациях Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. Идентификация типов SCCmec осуществляли методом мультипраймерной ПЦР-амплификации с использованием 12 пар праймеров, синтезированных в ЗАО «Синтол» (Москва, Россия).

У амбулаторных пациентов со слизистой носоглотки и гладкой кожи были выделены 166 штаммов *S. aureus*. Нозологическая структура амбулаторных пациентов, колонизированных штаммами *S. aureus*, включала в себя пациентов с atopическим дерматитом ( $n = 28$ ), аллергическим ринитом ( $n = 16$ ), неаллергическим ринитом ( $n = 12$ ), бронхиальной астмой ( $n = 35$ ). В данной группе пациентов частота MRSA штаммов по данным фенотипической идентификации составила 27,1%. Характерной особенностью всей совокупности выделенных штаммов от амбулаторных пациентов было преобладание (72,9%) метициллинчувствительных штаммов (MSSA). Госпитальные штаммы *S. aureus* (28 штаммов), выделенные с кожи и раневого отделяемого пациентов, госпитализированных в травматологическое отделение (28 пациентов), характеризовались полирезистентностью к антибиотикам и преобладанием метициллинорезистентных изолятов (56%). Молекулярно-генетический анализ ДНК штаммов выявил праймер-специфические ампликоны *mecA* гена: в 30,1% случаев у амбулаторных и в 64% — у госпитальных изолятов. При молекулярно-генетическом типировании SCCmec кассет у позитивных по *mecA* гену ДНК штаммов установлены существенные типовые различия между ними. Выявленное распределение типов SCCmec комплекса показало, что штаммы, выделенные от амбулаторных пациентов, содержали в своем составе генетические элементы SCCmec IV a, c, d типов, тогда как в метициллинорези-

стентных штаммах, выделенных от пациентов госпитального профиля, были идентифицированы только SCCmec кассеты II типа.

Выявлены генотипические различия по типу SCCmec между MRSA штаммами, выделенными от разных по эпидемиологической значимости источников.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЧИП-ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ЭПИДНАДЗОРА ЗА ТУБЕРКУЛЕЗОМ

**Е.Б. Тюрина, О.А. Землянский, А.А. Башкирев**

*НИУ Белгородский государственный университет  
ОГКУЗ Противотуберкулезный диспансер, г. Белгород*

Несмотря на то, что в Белгородской области в течение последних 3-х лет сохраняется стабильная эпидемическая ситуация по туберкулезу, остается высокой доля больных с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя. Если в 2010 г. среди новых случаев туберкулеза легких удельный вес МЛУ составлял 15,2%, то в 2011 г. — 18,5%, а в 2012 г. — 21,4%. Среди рецидивов туберкулеза доля МЛУ возросла с 51,5% в 2010 г. до 63% в 2011 г. и в 2012 г. составила 58,3%.

В этих условиях важна ускоренная лабораторная диагностика туберкулеза, которая дает возможность проведения оперативных и дифференцированных противозаразных мероприятий в очагах с учетом МЛУ возбудителя.

Начиная с 2009 г., в централизованной баклаборатории Белгородского областного противотуберкулезного диспансера прицельно исследуются методом биочипов пробы от наиболее эпидемиологически опасных больных-бактериовыделителей. Ежегодно биочип-исследованиями охватываются более 75% новых случаев туберкулеза легких с положительным мазком, выявленных в Белгородской области.

Сроки получения результата определения лекарственной чувствительности к изониазиду и рифампицину методом биочипов варьируют от 4 до 13 дней с момента сбора мокроты (4–5 дней — 10,6% больных; 6–8 дней — 53,8%; 9–11 дней — 27,3%; 12–13 дней — 8,3%); то есть максимальный срок получения результатов в биочипах в 2 раза меньше срока культуральных исследований на жидких средах в ВАСТЕС MGIT 960 (1 месяц) и тем более — на плотных средах (2–4 месяца).

Чувствительность и специфичность метода биочипов по выявлению устойчивости МБТ к изониазиду относительно «золотого стандарта» — метода абсолютных концентраций — составляют 92,4 и 94,1% соответственно; к рифампицину — 93,5 и 94,4%, что удовлетворяет требованиям точности определения лекарственной чувствительности к этим препаратам.

Таким образом, биочип-диагностика значительно сокращает сроки получения результатов тестов на лекарственную чувствительность МБТ. Точность и скорость определения лекарственной устойчивости к изониазиду и рифампицину методом биочипов позволяют фтизиатрам Белгородской области делать предварительные выводы о наличии у больного МЛУ, об условиях госпитализации и режиме лечения. В свою очередь, это ведет к снижению риска распространения лекарственно-устойчивых штаммов МБТ; появляется возможность дифференцированного подхода к проведению мероприятий в очагах туберкулезной инфекции.

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОКЛЮШНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ТЕРРИТОРИИ СОКОЛЬСКОГО РАЙОНА

**О.С. Тюрина, М.И. Малышева, И.Н. Головкина**

*Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Вологодской области в Сокольском, Усть-Кубинском, Вожегодском, Сямженском, Харовском, Верховажском районах, г. Сокол, Вологодская область*

Коклюш остается преимущественно детской инфекцией. В структуре заболевших коклюшем удельный вес детей в возрасте до 17 лет составлял 93,7%, из них на долю детей с 7 до 14 лет приходится 47,6%, с 3 до 6 лет — 28,7%, до 1 года и с 1 года до 2 лет — по 8,7%.

Эпидемиологической особенностью коклюша в последние годы является рост заболеваемости среди школьников, которым диагноз ставился лишь при эпидемиологическом обследовании. Среди заболевших — 21 человек (25,6%) были не привитые против коклюша (использовалась АДС-м вакцина), 14 человек (17%) были привитые с нарушением схемы иммунизации, остальные 47 человек (57,3%) — привитые АКДС вакциной, но со времени прививки прошло: 2 года — 1 человек, от 3 до 5 лет — 8 человек, более 6 лет — 38 человек.

Другой особенностью эпидемического процесса коклюша является возникновение периодических подъемов заболеваемости на фоне высокого охвата прививками детей раннего возраста. Высокая заболеваемость коклюшем среди детей 7–14 лет (47,6%) свидетельствует об утрате ими с годами поствакцинального иммунитета.

Участковые врачи направляют кашляющих на бактериологическое обследование очень поздно. Даже в первые 15 дней обследуется 51% кашляющих, тогда как они должны быть обследованы не позднее 5–7 дня заболевания.

Высеваемость в первые 10 дней составила в среднем 63,5%, на 11–15 день — 20%, далее — 16%. Таким образом, позднее обследование заболевших (после 10 дня) снижает вероятность подтверждения диагноза в 4 и более раза.

Из числа обследованных больных бактериологически диагноз подтверждается только у 43%, что ведет к снижению выявляемости и ухудшению эпидемиологической ситуации по коклюшу в районе.

Таким образом, эпидемиологическими особенностями коклюша являются: неоправданные противопоказания к проведению прививок без коклюшного компонента и, как следствие, снижение коллективного иммунитета, недостаточная напряженность и продолжительность поствакцинального иммунитета среди школьников, позднее выявление, низкий уровень бактериальной диагностики (особенно на поздних сроках заболевания), ошибки клинической диагностики.

## РОЛЬ *Mycobacterium tuberculosis* ГЕНОТИПОВ BEIJING И NON-BEIJING В РАСПРОСТРАНЕНИИ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА В УРАЛЬСКОМ РЕГИОНЕ

**Т.В. Умпелева<sup>1</sup>, А.Ю. Якушкина<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ Уральский НИИ фтизиатрии МЗ РФ, г. Екатеринбург

<sup>2</sup>ГБУЗ СО Противотуберкулезный диспансер, г. Екатеринбург

Проведено генотипирование 75 изолятов, полученных от вновь выявленных больных туберкулезом (18 ВИЧ-позитивных), поступивших на лечение

в Свердловский областной Противотуберкулезный диспансер в 2012 г. Выделение ДНК, качественную ПЦР и генотипирование осуществляли с использованием тест-систем ООО «Синтол» (Москва). Мутации, ассоциированные с устойчивостью *M. tuberculosis* к рифампицину и изониазиду, определяли с помощью тест-системы «ТБ-БИОЧИП» (ООО «Биочип-ИМБ», Москва).

По данным генотипирования 58 (77,3%) изолятов принадлежали к генотипу Beijing, остальные — к генотипу non-Beijing, причем 13 (22,4%) и 3 (27,3%) изолята соответственно были получены от ВИЧ-позитивных больных туберкулезом. От шести больных были выделены изоляты нескольких генотипов. При сопоставлении данных генотипирования с результатами определения мутаций устойчивости к рифампицину и изониазиду установлено, что мутацию groB Ser531→Leu (устойчивость к рифампицину) содержат 91,4% изолятов генотипа Beijing против 54,5% non-Beijing. Остальные типы мутаций в этом гене встретились в единичных случаях.

Мутация katG Ser315→Thr(1), ответственная за устойчивость к изониазиду, была выявлена у 87,9% изолятов генотипа Beijing и 72,7% — non-Beijing. Отличительной особенностью МЛУ изолятов генотипа non-Beijing была высокая доля другой мутации — inhA\_T15—54,5%, по сравнению с генотипом Beijing — 3%. В целом для МЛУ изолятов генотипа Beijing было характерно сочетание мутаций groB Ser531→Leu и katG Ser315→Thr(1) — 81%, в то время как у изолятов non-Beijing эти две мутации были выявлены только у трех изолятов и в сочетании с мутацией inhA\_T15.

Заключение. Среди МЛУ штаммов возбудителя туберкулеза, циркулирующих в Уральском регионе, преобладают представители генотипа Beijing. Выявлена связь между генотипом *M. tuberculosis* и спектром мутаций устойчивости к рифампицину и изониазиду.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНОГО ГНОЙНОГО МЕНИНГИТА МЕТОДОМ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Ю.Н. Урбан, Е.А. Егорова, В.В. Слободенюк,  
Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев

Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

Бактериальный гнойный менингит (БГМ), как особая форма инфекционной нейрпатологии, занимает важное место в структуре заболеваний нервной системы. Во всем мире ведущими возбудителями БГМ являются *Haemophilus influenzae* тип b, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*. Хотя бактериологические и биохимические методы и принято считать «золотым стандартом» для подтверждения случаев заболевания, уровень положительных результатов этих исследований относительно не высок по причине несоблюдения оптимальных условий хранения материала, транспортировки, низкого уровня подготовки специалистов и/или проведения антибактериальной терапии до взятия клинического материала.

Целью исследования являлось обнаружение основных возбудителей бактериального гнойного менингита методом ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ).

Для обнаружения основных возбудителей БГМ в спинномозговой жидкости (СМЖ) была использована методика ПЦР РВ. В работе использовались праймеры и флуоресцентно меченые зонды, рекомендованные ВОЗ.

Было исследовано 622 образца СМЖ, полученных из стран СНГ за период 2008–2012 гг. Образцы были взяты у детей в возрасте до 5 лет, поступивших в стационар с подозрением на БГМ.

По результатам исследования выявлено наличие возбудителей БГМ в 35% случаев, из них *H. influenzae* — 21%, *N. meningitidis* — 51%, *S. pneumoniae* — 28%.

По результатам генотипирования, проведенного методом ПЦР РВ, была показана принадлежность всех изолятов *H. influenzae* к типу b, *N. meningitidis* — серогруппе В — 42%, С — 13%, а также к серогруппам А, X, W135 в единичных случаях. По результатам генотипирования методом мультиплексной ПЦР выявлено, что доминирующими серотипами среди *S. pneumoniae* является серогруппа 6 — 31,5%, серотип 14 — 15% и серотип 23F — 13%, также встречались и другие серотипы *S. pneumoniae*.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об успешном применении метода ПЦР РВ для выявления и генотипирования возбудителей БГМ в СМЖ.

## ВСЕСТОРОННИЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА DR3/LARD ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

О.В. Уткин<sup>1,2</sup>, В.Д. Старикова<sup>1,2</sup>, Н.Р. Хилал<sup>2</sup>,  
А.А. Бабаев<sup>1,2</sup>, В.В. Новиков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. акад. И.Н. Блохиной

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского

Рецептор DR3/LARD экспрессируется в основном на поверхности лимфоидных клеток. Он характеризуется высоким полиморфизмом на уровне мРНК и белков. Выделяют мембранные (mDR3) и растворимые (sDR3) формы рецептора, выполняющие противоположные функции. Предполагается, что mDR3 (известно 4 формы) участвует в инициации апоптоза, а sDR3 (известно 10 форм) ингибирует этот процесс. Профиль экспрессии рецептора, а, следовательно, и восприимчивость клеток к апоптозу меняется в зависимости от функционального состояния, что может иметь клиническое значение.

Целью работы явился анализ экспрессии DR3 на уровне сплайсированных вариантов мРНК, кодирующих мембранные и растворимые формы, их количественной оценки, а также плотности экспрессии рецептора на мембране лимфоцитов и его содержания в сыворотке крови при герпесвирусной инфекции разной этиологии.

Обнаружено, что при инфицировании вирусом ветряной оспы (ВВО), цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ), уровень представленности пула мРНК mDR3 в 3, 2,9 и 4 раза превышал показатели здоровых волонтеров соответственно ( $p < 0,001$ ). При этом, вне зависимости от этиологии герпесвирусной инфекции (ГВИ), плотность экспрессии рецептора DR3 имела только тенденцию к увеличению ( $p > 0,05$ ). Повышение в 2,3 и 7 раз уровня представленности пула мРНК sDR3 наблюдалось только при инфицировании ВВО и ВЭБ соответ-

ственно ( $p < 0,001$ ). ЦМВ-инфекция сопровождалась снижением данного показателя в 4,2 раза ( $p < 0,001$ ). Сывороточный уровень sDR3 превышал показатели здоровых волонтеров в 8,7 раза только при ВЭБ-инфекции ( $p < 0,001$ ). В отношении других нозологических форм ГВИ различий обнаружено не было.

Дополнительно в крови здоровых волонтеров и инфицированных лиц с различной частотой выявлялись 4 формы мРНК DR3 (2 мембранные формы — LARD 1a и DR3 $\beta$ ; 2 растворимые формы — LARD 3 и soluble DR3 $\beta$ ). У здоровых волонтеров данные варианты мРНК DR3 выявлялись приблизительно с одинаковой частотой. При ГВИ, инициированной ВВО, мРНК soluble DR3 $\beta$  детектировалась в 1,4 раза реже ( $p = 0,035$ ). В отношении инфицирования ЦМВ и ВЭБ различий в частоте выявления сплайсированных вариантов мРНК DR3 обнаружено не было.

Всесторонний анализ экспрессии рецептора DR3 может быть использован для мониторинга герпесвирусной инфекции. В зависимости от этиологии возбудителя более информативными становятся конкретные показатели.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. и РФФИ (проект № 11-04-97088р\_поволжье\_а).*

#### **ФЕНОМЕН ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ ВИРУСА ЕСНО 11 ПО ПРИЗНАКУ РЕЦЕПТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ**

**Ф.А. Фадеев, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев**

*ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций  
Роспотребнадзора*

*ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия  
МЗ РФ, г. Екатеринбург*

Изменчивость рецепторной специфичности является одним из механизмов, позволяющих энтеровирусам адаптироваться к новым типам клеток. Основным клеточным рецептором большинства энтеровирусов является белок DAF (CD55).

На модели вируса ЕСНО 11 нами показано, что вирусная популяция является гетерогенной по признаку рецепторной специфичности: в ее составе присутствуют как аффинные к DAF ( $daf^+$ ) варианты, так и неаффинные к DAF ( $daf^-$ ) мутанты, сохраняющие инфекционность. Доля  $daf^-$  мутантов в популяции  $daf^+$  клона ЕСНО 11 ( $3 \times 10^{-5}$ ) соответствует частоте спонтанных точковых мутаций у пикорнавирусов. Секвенирование фрагмента вирусного генома, кодирующего структурные белки, показало, что утрата вирусом ЕСНО 11 аффинности к DAF обусловлена точковыми мутациями, приводящими к аминокислотным заменам в участке белка VP2, образующем антирецептор для DAF.

Нами показано, что на некоторых клеточных культурах наблюдается селекция вируса ЕСНО 11 по признаку рецепторной специфичности. Репродукция вируса в клетках рабдомиосаркомы (RD) сопровождается селекцией  $daf^+$  вариантов, тогда как на культуре клеток моноцитарного ряда Л-41, напротив, наблюдается накопление  $daf^-$  мутантов. В экспериментах с фотосенсибилизированными  $daf^+$  и  $daf^-$  клонами установлено, что, по крайней мере, одной из причин селекции  $daf^-$  вариантов на клетках Л-41 является их более высокая скорость интернализации на данной культуре по сравнению с  $daf^+$  вариантами.

Репродукция вируса на клетках Л-41 приводила к практически полному вытеснению из вирусной популяции  $daf^+$  вариантов. Возврат выделенных на клетках Л-41  $daf^-$  клонов на культуру RD приводил к появлению и постепенному накоплению в составе вирусной популяции  $daf^+$  ревертантов (реверсия к  $daf^+$  генотипу подтверждена секвенированием). Однако полного вытеснения  $daf^-$  вариантов из вирусной популяции не происходило, и между ними и  $daf^+$  ревертантами устанавливалось динамическое равновесие.

Изменчивость рецепторной специфичности вирусов может являться одним из механизмов преодоления ими тканевых барьеров. Инфицирование энтеровирусами различных органов и тканей может сопровождаться их селекцией по рецепторной специфичности. Исследование гетерогенности вирусной популяции по данному признаку может помочь в объяснении тканевого политропизма энтеровирусов и разнообразия клинических проявлений энтеровирусной инфекции.

#### **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОДОННОЙ ОПТИМИЗАЦИИ ГЕМАГГЛЮТИНИНА НА ИММУНОГЕННОСТЬ ШТАММА ВИРУСА ГРИППА, ПОДГОТОВЛЕННОГО НА ОСНОВЕ ПАНДЕМИЧЕСКОГО ВИРУСА А/CALIFORNIA/07/2009 (H1N1), ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ МОРСКИХ СВИНОК**

**Е.А. Федорова, Е.А. Баженова, И.А. Дубровина,  
Е.В. Иванова, И.В. Киселева**

*ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН,  
Санкт-Петербург*

Кодонная оптимизация антигенных детерминант — одна из новейших разработок в области исследований по повышению иммуногенности вакцин. Триплеты, кодирующие определенную аминокислоту, заменяются на синонимичные таким образом, чтобы повысить стабильность мРНК, использовать более обильные тРНК клетки и увеличить эффективность трансляции.

Метод кодонной оптимизации гемагглютини-на доказал свою перспективность при разработке высокоиммуногенных ДНК-вакцин против вируса гриппа. Включение кодон-оптимизированного гемагглютини-на в состав живого вируса теоретически также должно повысить эффективность иммунного ответа по сравнению с обычным гемагглютинином. Для проверки этого предположения было произведено заражение модельных животных (морские свинки) четырьмя вариантами вируса гриппа H1N1 на основе пандемического штамма A/California/07/2009 (H1N1pdm). Мы сравнивали два вакцинных штамма, содержащих внутренние гены от вируса A/PR/8/34, а гемагглютинин — от H1N1pdm, при этом у одного из вариантов вирусов гемагглютинин был кодон-оптимизирован (содержал более 400 некодирующих мутаций). В качестве контроля использовался «дикий» вирус H1N1pdm и подготовленный на его основе реассортантный вакцинный штамм живой гриппозной вакцины A/17/California/2009/38 (H1N1pdm-ЖГВ). Животные были интраназально заражены вируссодержащей аллантоисной жидкостью куриных эмбрионов в дозе  $2 \times 10^5$  вирусных частиц. Иммунный ответ оценивали в РТГА на сроке 2, 4 и 8 недель по наличию антител в сыворотке крови.

Иммуногенность вируса с оптимизированным гемагглютинином (H1N1pdm-PR8-опт) на всех изученных сроках была выше, чем у немодифицированного штамма (H1N1pdm-PR8). Кроме того, иммунный ответ на H1N1pdm-PR8-опт развивался быстрее, чем на вирус с обычным гемагглютинином H1N1pdm-PR8. Уже через 2 недели после заражения титры в сыворотках животных, зараженных H1N1pdm-PR8-опт, достигали значений, появляющихся в результате инфицирования «диким» вирусом, чего не наблюдалось в оставшихся двух группах (H1N1pdm-PR8 и H1N1pdm-ЖГВ).

Таким образом, кодонная оптимизация гемагглютинаина является перспективным методом повышения иммуногенности не только ДНК-вакцин, но и живых вакцинных препаратов.

### ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСИСТЕНЦИИ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ВИРУСУ ЗАПАДНОГО НИЛА, В КРОВИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ПОСЛЕ ВСПЫШКИ ЛЗН В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ В 2010 г.

М.В. Федорова<sup>1</sup>, Л.С. Карань<sup>1</sup>, К.А. Гриднева<sup>1</sup>, Г.А. Заболотная<sup>2</sup>, Г.А. Ткаченко<sup>3</sup>, Г.В. Маленко<sup>4</sup>, Н.М. Колясникова<sup>1,4</sup>, Н.В. Русакова<sup>5</sup>, Л.В. Шишкина<sup>5</sup>

<sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup>Министерство здравоохранения Волгоградской области,

<sup>3</sup>ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

<sup>4</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва

<sup>5</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Волгоградской области Роспотребнадзора

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) — природно-очаговое трансмиссивное заболевание, которое характеризуется лихорадочно-интоксикационным синдромом, а в тяжелых случаях — поражением ЦНС. Основным методом экстренной диагностики является ТИФА, позволяющий выявить специфичные к вирусу Западного Нила (ВЗН) антитела класса IgM в сыворотке крови или ликворе. Однако проведенные за рубежом в 1999–2010 гг. исследования показали, что IgM могут персистировать более года после перенесенного заболевания и, следовательно, их присутствие нельзя считать достаточным основанием для постановки диагноза. Целью нашей работы было: 1) определить наличие антител IgM и IgG у реконвалесцентов ЛЗН через год после перенесенного заболевания; 2) оценить эффективность метода ПЦР для диагностики острой инфекции.

Проанализированы сыворотки крови 87 пациентов с диагнозом ЛЗН, собранные в Волгограде и Волгоградской области в 2010 г. на 2–30 день после начала заболевания, повторно — через 5–23 дня и спустя 264–385 дней. Образцы исследовали методами ТИФА и ПЦР. Антитела класса IgM были обнаружены во всех первых сыворотках в титрах  $\geq 1:800$ , IgG — у 69, 85 и 92% пациентов, обследованных впервые на 1-й, 2-й и 3-й неделях после начала заболевания соответственно. Во вторых сыворотках IgM и IgG были обнаружены в 100% случаев. Сероконверсия титров IgG в  $\geq 4$  раза наблюдалась у 83% (30/36) пациентов. В 2011 г. антитела класса IgG были обнаружены у 91% пациентов (79/87), IgM — у 57% пациентов (50/87), причем у 25% (37/87) титры IgM были  $\geq 1:800$ . Вероятность сохранения IgM у мужчин была достоверно выше,

чем у женщин ( $\chi^2 = 7,26$ ), а у пациентов моложе 55 лет — достоверно выше, чем у пожилых ( $\chi^2 = 4,7$ ). В сыворотках, взятых в 1-ю и 2-ю недели заболевания, РНК вируса была обнаружена в 56% (18/32) и 60% (21/35) образцов соответственно, а при взятии крови на 15–21-й день и  $> 21$  дня положительными были 25% (7/28) и 17% (2/12) образцов соответственно. В сыворотках реконвалесцентов РНК вируса не обнаружена.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ни один из использованных в работе методов не является достаточным для подтверждения клинического диагноза ЛЗН. Очевидно, для этого требуется использование нескольких серологических диагностических критериев одновременно, например, выявление антител класса IgM в сочетании либо с четырехкратной сероконверсией антител класса IgG, либо с определением авидности IgG.

### ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *COXIELLA BURNETII*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ, НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ГЕНОВ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ

О.А. Фрейлихман<sup>1</sup>, А.Н. Ваганова<sup>1</sup>, И.В. Тарасевич<sup>2</sup>, Ю.А. Панферова<sup>1</sup>, Н.К. Токаревич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

<sup>2</sup>ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи, Москва

Целью работы являлся анализ полиморфизма генов *Coxiella burnetii*, ассоциированных с вирулентностью, для характеристики эволюционного процесса патoadaptации коксиеллы к различным биологическим видам хозяев.

В работе применялся метод систематического мутационного анализа с помощью прямого секвенирования по Сенгеру открытых рамок считывания пяти генов, ассоциированных с вирулентностью, — генов *enhA.1*, *enhA.2*, *enhB.1*, *dotD* и *icmV* штаммов *C. burnetii*, выделенных в различных географических регионах от хозяев, принадлежащих к различным биологическим видам. Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводили путем множественного выравнивания и филогенетического анализа с помощью метода UPGMA.

После секвенирования генов факторов вирулентности штаммов российской популяции коксиелл и их сравнения с референсными последовательностями, был выявлен ряд типов сиквенса для каждого из изучаемых генов, что позволило кластеризовать штаммы, выделенные от хозяев, принадлежащих к различным биологическим видам. Так, выделено 2 основные группы штаммов: группа 1 включает штаммы, выделенные от членистоногих, группа 2 — штаммы от млекопитающих (грызуны и человек); штаммы внутри каждой группы выделены в различных географических регионах.

Наряду с кластеризацией ранее описанных генотипов, для штамма «Жачкина», выделенного в 1958 г. от человека, большого Ку-лихорадкой, в г. Ленинграде, был выявлен новый генотип, характеризующийся однонуклеотидной заменой последовательности гена *enhA.1*, ассоциированного с инвазивным фенотипом *C. burnetii* и участвующего в осуществлении взаимодействия патогена с клетками хозяина. Обнаруженная миссенс-мутация 262 С > Т влечет несинонимичную аминокислотную

замену R93N в YkuD домене, участвующем в реализации альтернативного пути сшивки пептидогликанов, что может влиять на устойчивость бактерий к антибиотикам группы бета-лактамов.

Проведенное исследование позволило определить гены, в пределах которых наблюдается дивергенция в зависимости от принадлежности хозяина к тому или иному биологическому виду. Именно эти мишени могут служить основой для создания систем типирования штаммов и изолятов по признаку источника выделения.

### ЦЕФОТАКСИМАЗЫ СТХ-М У ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНОГО КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В РЕСПУБЛИКЕ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ – АЛАНИЯ

Н.Р. Хабалова, Л.А. Кафтырева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Известно, что цефотаксимазы СТХ-М являются наиболее распространенными бета-лактамазами расширенного спектра (БЛРС) и обнаружены у многих представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Работы отечественных авторов также свидетельствуют о широком распространении БЛРС СТХ-М типа в стационарах России среди нозокомиальных штаммов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. Typhimurium* и других энтеробактерий.

Целью исследования было изучение БЛРС у штаммов *K. pneumoniae* и *E. coli*, выделенных в многопрофильном стационаре Республики Северная Осетия – Алания (РСОА). 30 штаммов *K. pneumoniae* и 38 штаммов *E. coli* были выделены из мочи, гнойного отделяемого и мокроты. У штаммов, резистентных к цефалоспорином расширенного спектра, методом двойных дисков подтверждена продукция БЛРС. Спектр продуцируемых бета-лактамаз определяли в ПЦР с праймерами, специфичными для генов СТХ-М-, TEM- и SHV-бета-лактамаз.

Из 68 штаммов 15 были резистентными к бета-лактамам. Среди *E. coli* встречались штаммы, резистентные только к ампициллину за счет продукции бета-лактамазы широкого спектра (БЛШС) TEM класса (21,0%). У таких штаммов резистентность к бета-лактамам сочеталась с резистентностью к препаратам группы хинолонов. БЛРС, относящиеся к классу СТХ-М, обнаружены у 7 из 30 изученных штаммов *K. pneumoniae* (23,3%), которые были резистентны к цефалоспорином расширенного спектра (ЦРС) — цефтриаксону, цефтазидиму, цефепиму. Синергизм с клавулановой кислотой подтвердил у таких штаммов *K. pneumoniae* продукцию БЛРС. Спектр резистентности штаммов *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам включал больше маркеров резистентности по сравнению со штаммами *E. coli*. Штаммы *K. pneumoniae*, резистентные к ЦРС, характеризовались резистентностью к фторхинолонам, фосфомицину, левомецитину, ко-тримоксазолу, защищенным бета-лактамам. БЛРС, продуцирующие *K. pneumoniae*, выделялись из различного биоматериала (мочи, гнойного отделяемого и мокроты). Штаммы *E. coli* и *K. pneumoniae* имели типичные культурально-ферментативные свойства и рост на плотных питательных средах.

Наше исследование показало, что только 23,3% штаммов *K. pneumoniae* продуцировали БЛРС — цефо-

таксимазы, относящиеся к группе СТХ-М; популяция штаммов *E. coli* не имеет данного механизма резистентности. Уровень БЛРС-продуцирующих *K. pneumoniae* широко распространенной группы СТХ-М в 4 раза ниже, чем в других стационарах России, и это является положительным фактом для РСОА.

### ВЕРОЯТНОСТЬ СУЩЕСТВОВАНИЯ ОЧАГОВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА НА НЕЭНДЕМИЧНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

И.С. Холодилов<sup>1</sup>, А.С. Шевцова<sup>1</sup>, О.А. Белова<sup>1</sup>, Л.Ю. Романова<sup>1</sup>, О.В. Мотузова<sup>1</sup>, Е.А. Арумова<sup>2</sup>, А.В. Ермаков<sup>3</sup>, И.В. Ковальчук<sup>3</sup>, М.А. Морозова<sup>2</sup>, К.А. Пурмак<sup>4</sup>, Е.Н. Романенко<sup>4</sup>, Н.И. Соломашенко<sup>4</sup>, Г.Г. Карганова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва

<sup>2</sup>ФГУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Московской области, г. Мытищи, Московская область

<sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора по Ставропольскому краю, г. Ставрополь

<sup>4</sup>ФГУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае, г. Ставрополь

Европейская часть РФ является местом обитания иксодовых клещей — основных векторов для вируса клещевого энцефалита. Хотя на юго-западных территориях России случаи заболевания клещевым энцефалитом (КЭ) среди населения не регистрируются, имеется потенциальная возможность существования очагов этой инфекции. Основным критерием наличия циркуляции вируса является выявление его в клещах и существование иммунной прослойки.

Учитывая возможность циркуляции на одной территории, кроме ВКЭ, другого флавивируса, антигенно близкого к ВКЭ, сыворотки людей исследовали в реакции нейтрализации методом бляшек (РНБ) против штамма ВКЭ сибирского подтипа, изолированного в 2008 г. на территории Европейской части России, и вируса шотландского энцефаломиелита овец (ШЭО), а клещей — с помощью ПЦР с детекцией в режиме реального времени для ВКЭ и ПЦР с панфлави праймерами.

Нами были исследованы 47 сывороток из Московской области, полученные от условно здорового населения, по данным Роспотребнадзора, положительные на наличие АТ класса IgG к ВКЭ в ИФА. В РНБ положительный результат показали 24 сыворотки, а 1 сыворотка имела титр АТ выше к ШЭО, чем к ВКЭ. Было исследовано более 1500 клещей, положительных в ИФА, на наличие ВКЭ. РНК ВКЭ не выявлена.

Также были исследованы 8 сывороток из Ставропольского края, из которых 1 сыворотка показала положительный результат, и 933 клеща, положительных в ИФА, на наличие ВКЭ. РНК ВКЭ не выявлена. Попытка выделить вирус на сосунках белых мышей не увенчалась успехом.

Полученные данные о наличии иммунной прослойки населения не позволяют исключить возможность циркуляции ВКЭ на данной территории. Тем не менее, можно предположить возможность циркуляции другого флавивируса, антигенно близкого к ВКЭ. Только выделение вируса и анализ нуклеотидной последовательности позволит дать окончательный ответ.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ И ЗАРУБЕЖНЫХ СТРАН

Н.Б. Челдышова, Т.А. Кульшань, Н.И. Смирнова

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

Новая волна эпидемических осложнений по холере, охватившая в начале XXI века многие страны мира, свидетельствует о необходимости постоянного молекулярно-эпидемиологического мониторинга этой инфекции. Особенностью *V. cholerae* биовара Эль-Тор, возбудителя 7-й пандемии холеры, является его большая изменчивость, обусловленная наличием в его геноме мобильных генетических элементов (МГЭ), несущих гены вирулентности, патогенности, персистенции и пандемичности.

Целью данной работы явилось изучение генетического разнообразия 283 штаммов *V. cholerae* биовара Эль-Тор, у которых методом ПЦП было определено наличие 20 генов, входящих в состав 6-ти МГЭ (профагов — CTXφ, RS1φ, островов патогенности — VPI-1, VPI-2, пандемичности — VSP-1, VSP-2 и персистенции EPI). Анализ 168 клинических изолятов показал, что большинство из них (83%) несли в своем геноме профаг CTXφ, содержащий оперон *ctxAB*, ответственный за синтез холерного токсина (ХТ), и остров патогенности VPI-I, имеющий в своем составе ген *tcpA*, кодирующий синтез основного белка токсин-регулируемых пилей (ТКП), обеспечивающих колонизацию вибрионами тонкого кишечника. Еще 3,6% штаммов были лишены генов *ctxA*, но несли ген *tcpA*. Только 3% штаммов, выделенных от людей, были лишены практически всех генов вирулентности, входящих в МГЭ. Вместе с тем, среди 115 штаммов, выделенных из водной среды, 55,7% изолятов были лишены 6-ти МГЭ (CTXφ, RS1φ, VPI-1, VPI-2 VSP-1, VSP-2). Гены ХТ и ТКП несли только 22% изученных штаммов, большинство из которых было выделено в период активных эпидемических проявлений (1965–1975 гг.). Однако в относительно благополучный по холере период (1980–1981 гг.) из воды поверхностных водоемов было выделено 2 штамма с полным набором генов. Это может говорить о возможности длительного сохранения вирулентных штаммов в речной воде, что указывает на необходимость постоянного молекулярно-эпидемиологического мониторинга за данной инфекцией. Таким образом, полученные данные о генетических особенностях изученных штаммов холерного вибриона свидетельствуют о довольно значительных вариациях их генного состава, что может быть отражением как различных экологических условий их обитания, так и продолжающейся эволюции генома холерного вибриона.

## ВАРИАбельность СТРУКТУРЫ ОСТРОВА ПАНДЕМИЧНОСТИ VSP-II ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

А.В. Черкасов, Я.М. Краснов, Д.А. Агафонов,

А.В. Пашкова, Н.И. Смирнова

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

Седьмая пандемия холеры, начавшаяся в 1961 г. и продолжающаяся по настоящее время, сопровождается значительными изменениями в геноме ее

возбудителя — *V. cholerae* биовара Эль-Тор. Показано, что значительной вариабельностью обладает остров пандемичности VSP-II, являющийся генетической меткой возбудителя текущей пандемии и отсутствующий у вибрионов классического биовара — этиологического агента шести первых пандемий холеры. Данный мобильный элемент представляет собой участок ДНК протяженностью 26,9 kb, несущий в интактном состоянии 30 генов. В настоящее время выявлено несколько вариантов VSP-II, различающихся делецией ряда генов. Большой интерес представляют штаммы, утратившие значительную часть острова пандемичности, включающую 21 ген. Данный вариант VSP-II характерен для изолятов с повышенным эпидемическим потенциалом, вытеснивших штаммы с интактным VSP-II во многих эндемичных по холере регионах. Появление таких вариантов возбудителя в эндемичных очагах ставит вопрос об оценке возможности их заноса на территорию России и сопредельных государств. В этой связи нами, используя метод секвенирования, была изучена структура острова пандемичности 6 штаммов *V. cholerae* биовара Эль-Тор, выделенных на территории России в разные периоды седьмой пандемии.

Проведенные исследования показали, что структура VSP-II штамма M818, выделенного в начале седьмой пандемии (1970), и штамма M1293, вызвавшего вспышку холеры в 1994 г., полностью идентична прототипному VSP-II. В то же время три других изолята (L3226, P18899, 301), выделенные в период с 2006 по 2011 гг., имеют протяженную делецию VSP-II размером 13,5 kb, соответствующую таковой штаммов, вызвавших эпидемию холеры на о. Гаити. Вместе с тем, в геноме штамма P17744, изолированного в 1997 г. в Сибири, был обнаружен еще один вариант VSP-II, содержащий значительно менее протяженную делецию размером 2 kb, характерную для VSP-II, присутствующего в изолятах из Замбии (2003–2004 гг.).

Таким образом, остров пандемичности VSP II, присутствующий в геноме изученных штаммов *V. cholerae* биовара Эль-Тор, действительно нестабилен. При этом VSP-II с протяженной делецией может служить в качестве генетического маркера штаммов с высоким эпидемическим потенциалом.

## ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ ПАНЛЕЙКОПИИ КОШЕК

Г.С. Шабдарбаева, А.С. Ибажанова, Ж.Ж. Кенжебекова, А.И. Балгимбаева

Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы, Республика Казахстан

Ввоз из других стран животных редких пород, нередко с ослабленной резистентностью, при отсутствии ветеринарного контроля и профилактической иммунизации, способствуют возрастанию инфекционных болезней среди собак и кошек. Среди инфекционных болезней, заканчивающихся гибелью животных, первое место занимает панлейкопения кошек.

Панлейкопения — высококонтагиозная, смертельно протекающая болезнь домашних кошек, клинически проявляющаяся лейкопенией, лихорадкой, рвотой, сильной диареей и обезвоживанием организма. Летальность зависит от возраста животных, у котят она может составить 90%.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследования послужили органы и ткани

от 12 трупов. В данной работе анализируются материалы болезней, протоколы вскрытий и результаты макроскопических и гистологических исследований. Диагноз устанавливали на основании патоморфологических исследований с обнаружением специфических внутриядерных вирусных включений в парафиновых срезах.

Результаты исследований. Болезнь протекала в основном остро и сопровождалась отказом от корма, высокой температурой (до 42°C), угнетением, слабостью, рвотой и поносом. В двух случаях кошек находили мертвыми, без каких-либо видимых клинических признаков. При вскрытии обнаружили обезвоживание и истощение, слизисто-гнояный экссудат на слизистой оболочке носа и глаз. При исследовании внутренних органов изменения находили, главным образом, в тимусе и в органах желудочно-кишечного тракта. Во всех случаях отмечали уменьшение тимуса, что особенно сильно было выражено у молодых котят. Микроскопические изменения были хорошо выражены в тонком отделе кишечника, в лимфоидных органах и в костном мозге. При гистологическом исследовании кишечника изменения чаще обнаруживались в подвздошной кишке. Ворсинки слизистой оболочки редкие, укорочены, покрыты плоским эпителием. Обширные кровоизлияния обнаруживались в подслизистом слое и в мышечной оболочке. Крипты расширены, выстланы плоскими клетками, содержат клеточный детрит, в некоторых криптах обнаруживали макрофаги. В клетках эпителия кишечника, а также в лимфоузлах обнаруживали внутриядерные эозинофильные включения. Общая структура лимфатических узлов сохранена. В трех случаях отмечали нарушение строения лимфатического узла: отсутствие деления на зоны, расширение синусов. Микроскопические изменения селезенки были однотипными. Во всех случаях обнаруживали пролиферацию элементов стромы органа. Наблюдалось уменьшение количества фолликулов лимфатических узлов, отсутствие в них реактивных центров, разрежение клеточных элементов. В печени, наряду с дистрофическими и некробиотическими изменениями, во всех случаях обнаруживали отек и гиперемии пространства Диссе. В почках эпителий канальцев набухший, граница клеток плохо выражена, просветы сужены. В мозжечке у всех животных наблюдались дистрофические изменения в ганглиозном слое. Многие клетки Пуркинье были в состоянии гиперхроматоза, хроматолиза, «клетки-тени» и полный цитолиз.

Таким образом, проведенное исследование показало, что изменения в тонкой кишке при панлейкопении постоянны и наблюдаются у всех больных животных.

#### **СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСОВ ГРИППА, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2012–2013 гг.**

М.Г. Шаменова, Т.В. Кузнецова, Н.Г. Ишмухаметова,  
Т.И. Глебова, Б.Б. Баймаханова, С.Б. Байсеит  
РГП Институт микробиологии и вирусологии КН МОН  
Республики Казахстан, г. Алматы

Острые респираторные заболевания и грипп остаются одной из самых актуальных медицинских и социально-экономических проблем в Казахстане.

В последние эпидемические сезоны в человеческой популяции отмечалась, как и обычно, циркуляция вирусов гриппа всех трех подтипов А(Н1N1), А(Н3N2) и В. Однако в предпоследние три эпидемических сезона наблюдается активизация вирусов гриппа А(Н1N1).

Важное место в комплексном изучении циркуляции вирусов гриппа среди людей занимает серологическое обследование сывороток крови на наличие специфических антител, являющееся косвенным доказательством проведенной изоляции и способствующее своевременной расшифровке этиологии заболевания в очагах эпидемий.

Для серологических исследований в период с октября 2012 г. по март 2013 г. в больницах и поликлиниках г. Алматы от людей с диагнозами ОРВИ, ОРЗ, грипп, бронхит, пневмония собрано 75 сывороток крови. Для РТГА использовали набор, состоящий из 12 эталонных штаммов, полученных из референс-центра по гриппу ВОЗ (CDC, Атланта, США) и трех казахстанских штаммов: А/Алматы/347/09(Н1N1), А/Балхаш/693/11/(Н3N2), В/Алматы/414/09) вирусов гриппа человека, хранящихся в коллекции лаборатории биохимии вирусов РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК.

Результаты серологического анализа показали, что в 37 сыворотках крови (50%) обнаружены антигемагглютинины к вирусу сероподтипа А/Н3N2. Титры антител составили 1:160–1:320. 15 сывороток крови (20%) оказались серопозитивными по отношению к вирусу гриппа А/Н1N1, антитела отмечены в титрах 1:20–1:40. Лишь в четырех сыворотках (5%) обнаружены антигемагглютинины к вирусу гриппа типа В.

Таким образом, результаты серологических исследований сывороток крови подтвердили циркуляцию в эпидсезоне 2012–2013 гг. в Алматинской области разных штаммов вирусов гриппа А и В, с явным преобладанием сезонного вируса сероподтипа А/Н3N2.

#### **МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ НАДЗОРА И КОНТРОЛЯ ЗА ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ НА ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНОМ ТРАНСПОРТЕ**

К.В. Шевченко, Ю.М. Артеменков

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии по железнодорожному транспорту, Москва

Статистические данные за 2012 г. подтверждают высокий уровень и динамический рост на железнодорожном транспорте острых кишечных инфекций, вызванных неустановленным возбудителем — 86,61 на 100 тыс. населения (2011 г. — 83,94 на 100 тыс.). Для расшифровки этиологии этих инфекций микробиологическими лабораториями ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по железнодорожному транспорту» использовались общепринятые классические и иммуно-серологические методы.

Ввиду того, что Роспотребнадзором определена необходимость внедрения принципиально новых, высокочувствительных методов обнаружения и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний — таких как ПЦР — нами приняты меры по обеспечению соответствующим комплектным оборудованием головной микробиологической лаборатории в г. Москве и лабораторий дорожных

филиалов на Октябрьской и Северо-Кавказской железных дорогах; получены все разрешительные документы — лицензии на работу с микроорганизмами III–IV групп патогенности, медицинские лицензии, аттестаты аккредитации на соответствие требованиям стандарта ГОСТ ИСО/МЭК 17025 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».

В настоящее время для проведения: ПЦР с гибридной детекцией амплифицированной ДНК в режиме реального времени используется 3 комплекта оборудования, на которых проводятся ежемесячно более 80 исследований; ПЦР с гибридной детекцией по конечной точке — используется 1 комплект оборудования, на котором проводятся около 15 исследований в месяц; ПЦР с электрофоретической детекцией амплифицированной ДНК — используется 1 комплект оборудования с ежемесячной нагрузкой 15 исследований. Потенциал этого оборудования используется пока не в полной мере: для определения генетической модификации изучаемых объектов (продуктов питания и др.); обнаружения и идентификации патогенных микроорганизмов (в материале от больных и из объектов окружающей среды); проведения ускоренной и экспресс-диагностики при индикации.

В целях оптимизации выявления инфекционных заболеваний на железнодорожном транспорте приоритетными считаем дальнейшее оснащение микробиологических лабораторий дорожных филиалов оборудованием для молекулярно-биологической диагностики возбудителей инфекционных заболеваний и обучение персонала.

### **О МОЛЕКУЛЯРНЫХ АСПЕКТАХ ДЕЗИНФЕКТОЛОГИИ В ПРОФИЛАКТИКЕ АКТУАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

**Н.В. Шестопалов, М.Г. Шандала**

*ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора  
ГБОУ ВПО Первый московский государственный медицинский  
университет им. И.М. Сеченова*

Специфическим содержанием дезинфекционных мероприятий в системе профилактики инфекционных заболеваний является недопущение во внешней среде неблагоприятного воздействия различных биопатогенов на организм людей путем применения специальных дезинфектологических средств и технологий.

При этом, для достижения желаемого противоэпидемического эффекта во внешней среде, вступают во взаимодействие три стороны разыгрывающегося конфликта:

1. применяемые дезинфекционные средства;
2. биопатогены как целевые объекты дезинфекции;
3. организм человека как объект эпидемиологической защиты.

Каждая из этих сторон представляет собою сложные молекулярные образования, являющиеся:

- первая — физическими, химическими, биологическими препаратами и устройствами;
- вторая и третья — живыми организмами как молекулярно-биологическими и физиологическими объектами.

Встреча (столкновение!) применяемого дезинфекционного средства с биопатогеном как целевым объектом дезинфекции (патогенным микробом-

возбудителем, а также его переносчиком — членистоногим или грызуном) имеет по своему характеру молекулярно-биологическую природу и целенаправлена на устранение (уничтожение или инактивацию) биопатогена для недопущения его неблагоприятного действия на организм человека.

Одновременно с этим, внесенное во внешнюю среду биоцидное («жизнегубительное» по своей природе и предназначению) дезинфекционное средство может вступать во взаимодействие (в большей или меньшей степени) также и с организмом человека. Такое взаимодействие носит также молекулярно-биологический характер, но является при этом нежелательным, так как чревато токсикологическими эффектами, неблагоприятными для здоровья людей.

Анализ и оценка текущей инфекционной заболеваемости в РФ показывает, что ежегодно подавляющее число (более 90%) случаев инфекций обусловливается вакцинологически «неуправляемыми» болезнями.

В связи с этим борьба с некоторыми невакцинопрофилактируемыми болезнями, относящимися к категории «актуальных инфекций», пока что возможна только с помощью неспецифических (главным образом, дезинфектологических) средств.

Поскольку (как указывалось выше) дезинфектологическая профилактика по своей природе относится к молекулярно-биологическим процессам и явлениям, на настоящей Международной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» рассмотрение (или хотя бы упоминание!) «Молекулярных аспектов дезинфектологии» (по аналогии с «Молекулярными аспектами вакцинологии») представляется не только оправданным, но и необходимым.

### **КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА HBsAg-НЕГАТИВНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА В**

**Е.О. Шибаева, А.Д. Бушменкова, М.Н. Погромская,  
И.В. Хомченко, Е.В. Эсауленко**

*Санкт-Петербургский Государственный педиатрический  
медицинский университет  
Клиническая инфекционная больница № 30 им. С.П. Боткина,  
Санкт-Петербург*

Актуальность. Проявления и варианты течения хронического гепатита В (ХГВ) чрезвычайно разнообразны. В естественном течении заболевания выделяют пять фаз, последняя (пятая) из которых является «HBsAg-негативной» (J. Hepatol., 2009). Клиническое значение данного варианта ХГВ в настоящее время окончательно не определено. Однако существует мнение о возможности развития гепатокарциномы после спонтанного исчезновения HBsAg у пациентов с ХГВ в цирротической фазе.

Цель исследования. Определить долю и охарактеризовать клинически HBsAg-негативный ХГВ.

Материалы и методы. Обследовано 174 женщины, находившиеся на стационарном лечении в 29 отделении КИБ № 30 им. С.П. Боткина в 2012 г. с ХГВ. Диагноз установлен с использованием стандартных клинико-лабораторных и инструментальных методик. Моноинфицированность подтверждена отсутствием маркеров гепатитов А, С, D и ВИЧ-инфекции. Всем пациенткам определены сывороточные маркеры вируса гепатита В методом ИФА: HBsAg, HBsAb, HBcAB, HBeAg, HBeAb.

Результаты исследования. Установлено, что в 18,9% случаев HBsAg в сыворотке крови отсутствовал, то есть диагностирована HBsAg-негативная фаза ХВГ. Этиологическая принадлежность заболевания у данной категории пациенток подтверждена наличием HBeAb в сыворотке крови. Следует отметить, что в 15,5% случаев HBeAb выявлены в качестве единственного маркера вируса. Более чем у половины (55%,  $n = 15$ ) пациенток данной группы обнаружены признаки цирроза печени: в стадии декомпенсации у 10 пациенток, в стадии субкомпенсации — у четырех и в стадии компенсации — у одной. У двух пациенток обнаружены HBeAb в сочетании с HBeAb, у одной из которых диагностирован цирроз. У четырех пациенток наряду с HBeAb выявлены HBsAb в высоком титре: от 45,1 до 95,2 МЕ/л, что можно трактовать как пастифицированную ВГВ. Однако у трех из них отмечалась цирротическая стадия заболевания, причем у двух — декомпенсация заболевания.

Полученные данные свидетельствуют о том, что элиминация HBsAg при ХВГ не всегда ассоциирована с благоприятным течением заболевания и его исходом; возможно прогрессирование заболевания в цирротическую стадию.

#### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ТЕРРИТОРИИ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ В 2012 г.

**А.В. Шихин, Л.М. Кондратьева, М.В. Кондратьев**  
*ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Томской области, г. Томск*

Эпиднадзор за кишечными вирусными инфекциями на территории Томской области проводится на базе лаборатории вирусологических исследований. С 1988 г. начали диагностировать ротавирусную инфекцию методом РПГА. С 1997 г. с этой целью стал применяться метод ИФА. Но эти методы не позволяли получить полную этиологическую расшифровку случаев острых кишечных инфекций. С внедрением молекулярно-биологических методов (ПЦР) появилась возможность диагностировать другие вирусные инфекции, возбудители которых не культивируются в лабораторных условиях: с 2006 г. — норовирусы, а с 2008 г. — астровирусы.

Метод ПЦР с целью обнаружения РНК кишечных вирусов используется, в основном, при расследовании вспышек для исследования проб из окружающей среды, от больных и контактных лиц. За 2012 г. отмечается рост количества исследований материала, взятого от больных и контактных лиц, в 2,8 раза (за 2011 г. проведено 1358 исследований, а в 2012 г. — 3747 исследований). У 33,4% обследованных лиц был обнаружен ротавирус, у 18,2% — норовирус, у 10,9% — астровирус.

В 2012 г. по эпидпоказаниям было обследовано 157 человек (131 исследование на ротавирусную инфекцию, 157 — на норовирусную, 131 — на астровирусную). У 32 человек получены положительные результаты.

Так же в 2012 г. в лаборатории проводились исследования на вирусные кишечные инфекции проб окружающей среды: воды питьевой, смывов с поверхностей. При расследовании 11 вспышек в детских учреждениях было исследовано 170 смывов с поверхности мебели и оборудования на РНК рота-

вируса, 150 смывов на РНК норовируса и астровируса. При этом обнаружено: РНК ротавируса в 4 пробах (2,3%); РНК норовируса — 4 (2,7%); РНК астровируса — 2 (1,3%). При исследовании питьевой воды положительных результатов получено не было.

Для определения генотипов ротавирусов, циркулирующих на территории Томской области, 46 проб от больных с положительным результатом тестирования на ротавирусную инфекцию были отправлены в референс-центр по мониторингу за возбудителями ОКИ ЦНИИЭ. В полученном заключении отмечалась высокая вариабельность в распространении различных антигенных типов ротавирусов группы А. Наибольшую распространенность имел G4 генотип (61%), G1 — 22%, G3 — 9%, GX — 4% и Mixt — 4%.

#### ПЕЙЗАЖ ЭНТЕРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРОВАВШИХ НА ТЕРРИТОРИИ АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ В 2006–2011 гг.

**Л.А. Шишко<sup>1</sup>, Н.И. Романенкова<sup>3</sup>, М.А. Бичурин<sup>3</sup>, Л.Н. Голицына<sup>2</sup>, Н.А. Новикова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области, г. Архангельск

<sup>2</sup>ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной

<sup>3</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Актуальность энтеровирусной инфекции (ЭВИ) для населения Архангельской области подтверждается высокими показателями заболеваемости (21,63 на 100 000 населения в 2008 г.), ежегодной регистрацией сезонных подъемов заболеваемости, преобладанием энтеровирусного серозного менингита (88,3%) в структуре нозологических форм. Мониторинг циркуляции энтеровирусов на территории Архангельской области проводится путем исследования биологического материала от больных и из проб сточной воды вирусологическим и молекулярно-генетическим методами.

В 2006–2011 гг. вирусологическим методом исследовано 1377 проб от 903 больных с подозрением на ЭВИ. Вакцинные полиовирусы были выделены от больных с острыми вялыми параличами (11 штаммов) и энтеровирусной инфекцией (4 штамма). Частота выделения непوليوмиелитных энтеровирусов составила в среднем 7,8%. В структуре энтеровирусов вирусы ЕСНО серотипов 6, 9, 25 и 30 составили 55,7%, вирусы Коксаки В1–6, в основном представленные серотипом Коксаки В5, составили 44,5%.

При исследовании 313 проб сточной воды было выделено 3,8% энтеровирусов. В структуре преобладали вакцинные полиовирусы — 66,7%. Энтеровирусы ЕСНО серотипов 6, 25, 30 составили 25%, вирусы Коксаки В1–6 — 8,3%.

Штаммы энтеровирусов серотипов ЕСНО 6 и ЕСНО 30, которые циркулировали на территории Архангельской области в 2008–2011 гг., по молекулярно-генетической характеристике были сходны со штаммами, циркулировавшими в тот же период времени на других территориях России, в том числе и в Северо-Западном федеральном округе. Штаммы ЕСНО 6, циркулировавшие в области в 2010–2011 гг., сформировали 3 отдельные филогенетические группы, нуклеотидные последовательности области VP1 генома которых

отличались друг от друга не менее, чем на 10%. Штаммы ЕСНО 9 из очага энтеровирусного менингита в селе Красноборск Архангельской области образовали собственную филогенетическую ветвь в субкластере, сформированном другими вирусами этого серотипа.

Мониторинг циркуляции энтеровирусов с применением классических и современных методов лабораторных исследований является неотъемлемой частью эпидемиологического надзора за энтеровирусной инфекцией, направленного на определение закономерностей развития эпидемического процесса и прогнозирования заболеваемости этой инфекцией.

### **МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, ВЫЗВАННОГО *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR *ENTERITIDIS*, В СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ**

**Ф.Н. Шубин, А.В. Раков, Н.А. Кузнецова**

*ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток*

Централизованный мониторинг, основанный на данных плазмидного анализа, за *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) как наиболее значимым возбудителем сальмонеллеза, позволил осуществить генетическое маркирование популяций микроба в ряде субъектов РФ Сибири и Дальнего Востока, выяснить степень ее гетерогенности и объяснить механизмы формирования. В процессе централизованного микробиологического мониторинга изучены штаммы *S. Enteritidis*, выделенные в 2005–2012 гг. от 8615 больных людей и из 250 проб пищевых продуктов в 8 субъектах федерации в Сибири и на Дальнем Востоке. Установлено, что популяции *S. Enteritidis* у больных на изученных территориях высоко гетерогенны по спектру плазмид, выявляемых в штаммах бактерий, и представлены десятью плазмидными типами микроба. Во всех регионах плазмидная характеристика штаммов *S. Enteritidis*, выделенных от больных, соответствовала таковой для штаммов, изолированных из пищевых продуктов.

Многолетние динамики заболеваемости населения сальмонеллезом, вызванным отдельными плазмидными типами *S. Enteritidis*, имеют свои особенности. Они проявляются тем, что в многолетней динамике сальмонеллеза, обусловленного каждым из плазмидных типов, имеются годы сниженной и в 3–4 раза повышенной заболеваемости. Повышения заболеваемости, вызванные разными плазмидными типами, не связаны между собой и не носят циклического характера. Для каждого плазмидного типа характерны свои годы сниженной и повышенной заболеваемости населения.

Механизм формирования гетерогенных популяций *S. Enteritidis* у больных на конкретных административных территориях определяется тремя причинными факторами. Первым из них является гетерогенная популяция *S. Enteritidis*, циркулирующая на местных предприятиях птицеводства, поставляющих населению контаминированную сальмонеллами пищевую продукцию. Второй механизм связан с завозом контаминированной сальмонеллами продукции из других регионов. Однако определяющую роль играют племенные предприятия, поставляющие инфицированную

птицу на предприятия птицеводства. Эти поставки племенного материала обеспечивают поддержание на птицефабриках среди кур сальмонеллезного эпизоотического процесса и являются причиной появления у больных новых плазмидных типов *S. Enteritidis*.

### **АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В СНГ ГЕНОТИПОВ ВИРУСА КОРИ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ ПЕРСПЕКТИВ ЭЛИМИНАЦИИ ИНФЕКЦИИ**

**С.В. Шульга, Н.Т. Тихонова, Т.А. Мамаева, М.А. Наумова**

*Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора*

Стратегический план Европейского Бюро ВОЗ предполагает достижение к 2015 г. элиминации эндемичной кори. Генотипирование диких штаммов вируса позволяет отслеживать их распространение, дифференцировать местные и завозные случаи инфекции и является обязательным элементом сертификации элиминации.

Целью исследования являлась генетическая характеристика диких штаммов вируса кори, циркулировавших в регионе СНГ в 2008–2013 гг.

Для генотипирования штаммов вируса кори использована рекомендованная ВОЗ методика, основанная на анализе нуклеотидной последовательности С-концевого фрагмента N-гена длиной 450 нуклеотидов (нуклеотиды 1126–1575).

За период 2008–2013 гг. в регионе СНГ были выделены штаммы вируса кори генотипов D4, D5, D8, D9, H1, B3, и G3. Большинство генотипированных штаммов (518) были выделены в России, кроме того, были охарактеризованы дикие штаммы вируса, циркулировавшие в Украине (31), Узбекистане (1), Республике Молдова (2), Республике Казахстан (11) и Республике Кыргызстан (20).

Штаммы генотипа D6, активно циркулировавшие в большинстве стран региона в 2003–2007 гг., не были изолированы, что указывает на прерывание циркуляции ранее эндемичного генотипа, достижение фазы элиминации кори как в России, так и в регионе СНГ в целом, в 2007 г.

Со второй половины 2007 г. до середины 2010 г. на фоне низкой заболеваемости регистрируемые случаи и вспышки кори были связаны с импортированием кори из стран Южной и Юго-Восточной Азии, Китая, некоторых стран Западной Европы. Выделенные генотипы D4, D5, D8, D9 и H1 характеризовались выраженной гетерогенностью, что указывает на их повторное импортирование из разных регионов.

Очередной подъем заболеваемости корью и восстановление эндемичной циркуляции вируса были обусловлены импортированием в 2010 г. из Ирана штаммов генотипа D4 генетической линии «MV<sub>i</sub>/Bandarabas.IRN/05.10/2» (Узбекистан, Казахстан, Кыргызстан, Россия). Кроме того, импортирование в 2011 г. из Западной Европы штаммов генотипа D4 генетической линии «MV<sub>s</sub>/Manchester.GBR/10.09» привело к масштабной вспышке кори в Украине.

Таким образом, полученные данные продемонстрировали достижение фазы элиминации кори в регионе СНГ, связь заболеваемости и восстановления местной циркуляции вируса с импортированием инфекции.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР ДЛЯ МОНИТОРИНГА ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕНОСИМЫХ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ (*ACARINA, Ixodidae*), В ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ УКРАИНЫ

А.М. Шульган, И.И. Бень, О.Б. Семенишин,  
Г.В. Белецкая, И.Н. Лозинский

ГУ Львовский НИИ эпидемиологии и гигиены МОЗ Украины

Западные области Украины традиционно относятся к региону с высоким удельным весом клещевых инфекций (клещевого энцефалита — КЭ, Лайм-боррелиоза — ЛБ, лихорадки Ку) в структуре природно-очаговых трансмиссивных заболеваний, что обуславливает необходимость постоянного мониторинга их очагов, в частности, уровня зараженности клещей-переносчиков. Однако многолетние исследования в этом направлении в силу различных причин проводились с применением методов (микроскопия, НРИФ, ИФА) различного уровня чувствительности и специфичности, что повлияло на диагностическую достоверность результатов. Цель данного исследования — изучение целесообразности применения ПЦР-анализа, как наиболее приоритетного диагностического теста для мониторинга очагов клещевых инфекций. Для индикации ДНК/РНК патогенов в клещах использовали наборы «Амлисенс *Borrelia burgdorferi sensu lato*», «АмплиСенс TBE-FL», «Ампли-ГАЧ-ПЦР» («AmpliSens biotechnologies» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, ООО «НПФ «ЭПИТОП»). В период 2011–2012 гг. было обследовано 1310 экземпляров: *I. ricinus* (1040), *D. reticulatus* (150), *D. marginatus* (120) из 2-х областей — Львовской и Волынской. Полученные результаты подтвердили активную циркуляцию возбудителей как ранее известных (КЭ, ЛБ, лихорадка Ку), так и новых (ГАЧ) для региона инфекций, расширили представление об ареалах их природных очагов и составе паразитарных систем. Средний уровень природной зараженности клещей *I. ricinus* вирусом КЭ составил:  $10,3 \pm 0,3\%$  (максимально —  $20,0 \pm 2,5\%$ ), *B. burgdorferi* s.l. —  $53,0 \pm 0,5\%$  ( $81,4 \pm 0,8\%$ ), *A. phagocytophilum* —  $51,5 \pm 8,7\%$  ( $66,7 \pm 2,1\%$ ). Впервые установлено участие клещей рода *Dermacentor* в поддержании очагов вышеперечисленных патогенов, выявлены поливекторные очаги с 2 и 3 переносчиками, показан высокий уровень зараженности *D. reticulatus* возбудителями. Повсеместно выявлены территориально и популяционно сочетанные природные очаги КЭ-ЛБ, ЛБ-ГАЧ, КЭ-ГАЧ и КЭ-ЛБ-ГАЧ. Таким образом, применение ПЦР позволило получить данные, имеющие важное значение для анализа закономерностей динамики эпидемиологического процесса в природных очагах и свидетельствующие о необходимости обследовать больных с укусами клещей на весь спектр известных в регионе зоонозов для адекватной верификации клещевых инфекций.

## РЕКОМБИНАЦИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЭНТЕРОВИРУСОВ: НАСКОЛЬКО ИНФОРМАТИВЕН ОДИН УЧАСТОК ВИРУСНОГО ГЕНОМА?

Е.Ю. Шумилина, О.Е. Иванова, Т.П. Еремеева,  
В.И. Резник, О.Е. Троценко, А.Н. Лукашев

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

Энтеровирусы относятся к одному из самых больших вирусных семейств — пикорнавирусам (*Picornaviridae*). Энтеровирусы человека под-

разделяются на 4 вида (Human enterovirus A–D). Энтеровирусы человека распространены повсеместно и вызывают широкий спектр заболеваний.

Неполиомиелитные энтеровирусы имеют сложные филогенетические взаимоотношения, а все современные штаммы являются рекомбинантными относительно прототипных штаммов. Рекомбинация проходит строго между представителями одного вида и редко затрагивает область генома, кодирующую белки капсида. Довольно высокая частота рекомбинации позволяет фрагментам вирусного генома эволюционировать независимо друг от друга даже на короткой временной шкале (лет и десятилетий). Таким образом, вид энтеровирусов существует как всемирный пул генетической информации, свободно перемещающийся между вирусными геномами, что постоянно приводит к образованию новых вариантов.

Анализ циркуляции рекомбинантных форм энтеровирусов — новый подход, позволяющий значительно расширить объем получаемой информации по эпидемиологии и эволюции этих вирусов. В работе мы рассматриваем вид энтеровирус А (HEV-A) как целое, а не отдельные серотипы, как это было принято в большинстве предшествующих работ. Также мы изучали не отдельные рекомбинационные события, а динамику глобального пула генетической информации вида HEV-A.

Для данной работы были отобраны 78 образцов 14 различных серотипов энтеровирусов вида HEV-A, выделенные в разных городах Российской Федерации и стран СНГ в 2003–2011 гг. У всех образцов была определена нуклеотидная последовательность трех участков генома: VP1, 2С и 3D. Филогенетический анализ проводился путем построения Байесовых филогенетических деревьев с использованием модели замен SRD06.

В области генома VP1, определяющей серотип вируса, все изучаемые изоляты, как и следовало ожидать, сгруппировались в соответствии с их серотипами, но значительно отличались от прототипных штаммов.

В участках генома 2С и 3D филогенетические отношения штаммов не соответствовали области генома VP1, вследствие множественных рекомбинационных событий. Частота рекомбинации у разных серотипов вида HEV-A разительно отличалась.

На основе полученных данных можно предположить, что не все штаммы энтеровирусов участвуют в рекомбинации в равной степени. Мы предполагаем, что частота естественной рекомбинации является фенотипическим признаком вируса, по аналогии с мутаторным фенотипом вирусов и бактерий. Возможно, что у энтеровирусов вида HEV-A наблюдаются две эволюционные стратегии: максимальная лабильность неструктурных белков вирусов Коксаки, свободно сочетающихся с любыми капсидными белками, и адаптация неструктурных белков ЭВ71 к структурным белкам естественного серотипа.

## SURVEILLANCE AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MMR DISEASES IN FINLAND

I. Davidkin, M. Kontio

National Institute for Health and Welfare, Helsinki, Finland

Surveillance of particular infectious disease is essential when assessing a success and effectiveness of preventing measures, such as vaccinations against it.

Since 1982, MMR vaccinations against measles, mumps and rubella have belonged to the national vaccination program in Finland. A goal of these vaccinations was to eliminate all the three diseases. For monitoring a progress of this goal an enhanced surveillance of measles, mumps and rubella was started along with the MMR vaccinations.

The active investigations of suspected measles, mumps and rubella cases showed a rapid decline in the incidence of all the three diseases soon after the launchment of the nationwide MMR vaccinations. The enhanced surveillance also revealed that clinical diagnosis is not always reliable, particularly when measles, mumps or rubella is suspected in vaccinated individual. The high MMR vaccination coverage was reached in the end of 1980s and indigenous measles, mumps and rubella were eliminated by the mid of 1990s from Finland.

After the elimination of measles, mumps and rubella the importations of these diseases continued. Therefore, case-based laboratory surveillance and molecular epidemiological investigations became necessary to provide the required data in the elimination setting. Molecular epidemiological characterization of sporadic cases has helped to identify the sources of imported cases and revealed that different genotypes of these diseases were imported over time to Finland. In general, imported cases have not spread in the population, besides year 2011 when two clusters of import-related cases of measles were diagnosed. The two separate clusters were caused by the D4 genotypes of measles virus, imported from other European countries; while two other imported measles cases in the same year were caused by other genotypes (D8 and G3) of measles virus.

Enhanced laboratory surveillance and molecular epidemiological investigations of all measles, mumps and rubella viruses are indispensable for following and assuring the achieved elimination in Finland.

#### **CO-CIRCULATION AND MACRO-EVOLUTION OF POLIOVIRUSES AND OTHER ENTEROVIRUSES OF SPECIES C**

**F. Delpeyroux, S.A. Sadeuh-Mba, M. Bessaud, D. Massenet, M.-L. Joffret, M.-C. Endegue, R. Njouom, J.-M. Reynes, C. Burns, J. Shaw, D. Rousset**

*Institut Pasteur, Paris, France*

*Centre Pasteur, Cameroon*

*Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA*

Virtually all pathogenic circulating vaccine-derived polioviruses (cVDPVs) that have been fully characterized, including those found in sub-Saharan Africa, were recombinants between oral polio vaccine (OPV) strains and co-circulating Human enteroviruses (HEVs) of species C. HEVs are endemic worldwide and among the most common viruses infecting humans. Nevertheless, there is very limited data on the circulation and genetic diversity of HEVs in developing countries, and sub-Saharan countries in particular. We investigated the circulation and genetic diversity of HEVs among healthy children in a limited area of the far North region of Cameroon, in 2008 and 2009. This area neighbours Nigerian states in which epidemics of poliomyelitis due to wild polioviruses and cVDPVs have been ongoing. We also characterized the ge-

netic biodiversity of non-polio HEV isolates obtained from the stool specimens of patients with acute flaccid paralysis (AFP) in Cameroon, Chad and Gabon, in 2008. We found a high rate of non-polio HEV infections (36.9%) among healthy children in the far North region of Cameroon. Overall 45 different HEV types were found among healthy children and AFP patients. Interestingly, this study uncovered a high rate of HEVs of species C (HEV-C) among all typed non-polio HEVs: 63.1% (94/149) and 39.5% (49/124) in healthy children and AFP cases, respectively. Besides extensive circulation, the most prevalent HEV-C type, Coxsackievirus A-13, featured a tremendous intratypic diversity. In addition, four recombinant cVDPVs were discovered in AFP patients from Cameroon and Chad.

The extensive circulation of diverse HEV-C types and lineages in countries where OPV is massively used constitutes a major viral factor that could promote the emergence of recombinant cVDPVs in the Central African sub-region.

#### **HEPATITIS C VIRUS IN CENTRAL AFRICA: EPIDEMIOLOGY, TRANSMISSION, AND HISTORY OF DISSEMINATION**

**M. Kazanji**

*Pasteur Institute in Bangui, Bangui, Central African Republic*

Hepatitis C virus (HCV) is a leading cause of chronic liver disease, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. HCV infects about 170 million people worldwide (3% of the world's population) and is recognized as a major public health problem. Like Egypt, central Africa is considered a high-prevalence region, antibodies against HCV being detected in more than 6% of the population. We investigated in the last years the prevalence, genotype distribution and epidemic history of HCV in the Gabonese general population as well as in pregnant women in central Africa.

We showed that the seroprevalence of HCV varied significantly from 3,7% to more than 20% depending of age of the patients and the area where they live. The highest prevalence (20,5%) was found in the > 55-year age group. A lowest prevalence (1,6%) was found in the < 25-year age group as well as in pregnant women (2,1%) but was also differed significantly by region ( $p = 0,004$ ) and increased significantly with age.

History of parenteral injections, past hospital admission and age over 55 years were independent risk factors for HCV infection ( $p < 0,0001$ ).

To examine the rate of intrafamilial transmission of HCV between patients and their household members we also conducted a cross-sectional study in remote village in central Africa. A prevalence of 6,7% was found in the village but none of the children of infected patients tested positive. Using molecular epidemiology, no evidence for HCV transmission was found between sexual partners.

Phylogenetic analyses showed that majority of the strains were related to the genotype 4 (HCV-4) with more than eight subtypes, however, genotype 1 and genotype 2 were also found. Coalescence analyses of the various genotypes indicated that subtype 4e was the oldest, with an estimated most recent common ancestor of 1702. The epidemic profile indicated that it spread exponentially during the first part of the 20th century, probably by iatrogenic transmission.

## HLA DRB1 GENE POLYMORPHISM IN TICK-BORNE ENCEPHALITIS PATIENTS IN LATVIA

L. Kovalchuka<sup>1</sup>, J. Eglite<sup>1</sup>, I. Lucenko<sup>4</sup>, S. Gintere<sup>5</sup>,  
M. Zalite<sup>2,3</sup>, L. Viksna<sup>2,3</sup>, A. Krumina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Riga Stradiņš University, Clinical Immunology and Immunogenetic laboratory

<sup>2</sup>Riga Stradiņš University, Infectology and Dermatology department

<sup>3</sup>Riga Eastern Clinical University Hospital, Infectology Center of Latvia

<sup>4</sup>Centre for Disease Prevention and Control of Latvia, Riga

<sup>5</sup>Riga Stradiņš University, Family Medicine department

**Introduction.** Tick-borne encephalitis in recent years is very actual disease, and the level of Tick-borne Disease in Latvian is one of the highest in Europe. Compared to previous years, has increased tick activity and incidence. Spring 2012 year the tick incidence exceeds 10%, while the 2011 year it was 5,7% and 4,1% in 2010.

**Objective.** To investigate the genetically determined predisposition to fall ill with a tick-borne encephalitis of different severity by analyzing HLA DRB1 genes in patients with different clinical forms.

**Materials and methods.** The study included 64 patients of tick-borne encephalitis. The diagnosis was confirmed and imposed Latvian Infectology Center. Immunogenetic examinations were performed RSU Immunogenetic and Clinical Immunology Laboratory. HLA genotyping performed with PCR method using primers with a mixture of DRB1 16 allele gene variants.

**Results.** Patients were divided into three groups according to their situation and the seriousness of clinical forms. Allele HLA-DRB1 \*17 (03) is common in tick-borne encephalitis patients in both groups — both moderate and severe shocks (gf = 0,28 / OR = 2,32, p < 0,044; and gf = 0,17 / OR = 2,46, p < 0,012, accordingly). Moderately ill patients frequent allele DRB1 \*04 (gf = 0,36 / OR = 2,55, p < 0,016). On the other turn, in the group of severely ill: allele DRB1 \*05 (gf = 0,29 / OR = 2,10, p < 0,039).

**Conclusions.** The allele HLA-DRB1 \*17 (03) found the tick-borne encephalitis patients more frequently than in the control group. Moderate course of tick-borne encephalitis, viral meningitis cases often occurring in a gene allele HLA II-DRB1 \*04, whereas in severe cases, gait meningoencephalitis frequently detected gene allele HLA-DRB1 \*05. If a man lives tick-endemic area, and immunogenetic investigation found the risk allele, then recommend vaccination against tick-borne encephalitis.

## INVESTIGATIONS DQA1/DQB1 HAPLOTYPES IN PATIENTS WITH LYME BORRELIOSIS

L. Kovalchuka<sup>1</sup>, J. Eglite<sup>1</sup>, D. Kasjko<sup>1</sup>, I. Lucenko<sup>4</sup>,  
S. Gintere<sup>5</sup>, M. Zalite<sup>2,3</sup>, L. Viksna<sup>2,3</sup>, A. Krumina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Riga Stradiņš University, Clinical Immunology and Immunogenetic laboratory

<sup>2</sup>Riga Stradiņš University, Infectology and Dermatology department

<sup>3</sup>Riga Eastern Clinical University Hospital, Infectology Center of Latvia

<sup>4</sup>Centre for Disease Prevention and Control of Latvia, Riga

<sup>5</sup>Riga Stradiņš University, Family Medicine department

**Introduction.** The genes encoding the HLA-DQ heterodimer molecules, DQA1 and DQB1, have been found to have the association with Lyme borreliosis (LB) risk, al-

though there is cumulative evidence for the effect of other gene loci within the major histocompatibility complex gene region. **Objective.** The purpose of this study was to determine of HLA DQA1/DQB1 haplotypes in patients with clinical, epidemiological and laboratory approved Lyme borreliosis diagnosis.

**Materials and methods.** The study included 39 patients with clinical stage — erythema migrans and 100 control (healthy) persons. The diagnosis was confirmed and imposed Latvian Infectology Center. Immunogenetic examinations were performed RSU Clinical Immunology and Immunogenetic Laboratory. HLA genotyping performed with PCR method using primers.

**Results.** The frequency of haplotypes: DQA1\*02:01:01/DQB1\*03:02:01 (OR 3,17; p < 0,041); HLA-DQA1\*05:01:01/DQB1\*02:01:01 (OR 2,34; p < 0,048) and -DQA1\*01:01:01/DQB1\*02:01:01 (OR 2,01; p < 0,032) were significantly increased in the Lyme disease patients compared with the control groups. But, the haplotypes of DQA1\*01:02:01/DQB1\*06:02:01 (OR 0,24; p < 0,036); DQA1\*01:03:01/DQB1\*06:02:01 (OR 0,27; p < 0,046) and DQA1\*01:02:01/DQB1\*06:02:01 (OR 0,31; p < 0,029) were smaller in Borreliosis patients and significantly higher in controls.

**Conclusions.** This data suggest that HLA-DQ haplotypes may have a considerable effect on susceptibility/or protection to Lyme borreliosis.

## WHICH MOLECULAR TYPING METHODS FOR SALMONELLA WILL BE USED IN THE NEAR FUTURE?

F.-X. Weill

*Institut Pasteur, Paris, France*

*WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella*

Salmonellosis is one of the most common causes of foodborne diarrheal disease worldwide. Most of these infections are zoonotic and are transmitted from food animals to humans through contaminated food. An efficient laboratory surveillance system for salmonellosis is therefore crucial. This system would rely on fast typing and subtyping of isolates. Currently, the basic information provided by laboratories is the serotype of the isolates. To allow differentiation among isolates within the most common serotypes, subtyping methods such as phage-typing, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), and Multi Locus Variable number of tandem repeats (VNTR) Analysis (MLVA) have been developed and are widely used for outbreak investigation and surveillance despite numerous limitations.

During this conference, I will present pros and cons of recently developed methods for Salmonella typing/subtyping, such as Multilocus Sequence Typing (MLST), based on sequences of seven housekeeping gene fragments and CRISPOL, based on polymorphisms of a new family of repeated DNA sequences named CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). The whole genome sequencing (WGS) as an alternative in the future, once its cost and time to evaluate traces is decreasing, will also be discussed.