

# **НАУЧНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ НАСЕЛЕНИЯ: АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ**



**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ**

**Всероссийской научно-практической  
конференции с международным участием,  
посвященной 100-летию**

**ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной  
Роспотребнадзора**

**(11–12 сентября 2019 года, г. Нижний Новгород)**

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека**



**Федеральное бюджетное учреждение науки  
«Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии им.академика И.Н.Блохиной»**

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ**

**НАУЧНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ  
НАСЕЛЕНИЯ: АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ**

**Всероссийской научно-практической конференции с международным участием,  
посвященной 100-летию ФБУН НИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной  
Роспотребнадзора  
(11–12 сентября 2019 года, г. Нижний Новгород)**

**Нижний Новгород**

**2019**

УДК: 616.9:614.4.002

ББК: 55

Н 34

**Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения** // Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под ред. д.м.н., проф. Е.И. Ефимова. – Н. Новгород: Изд-во «Ремедиум Приволжье», 2019. – 396 с.

**ISBN 978-5-906125-69-9**

**Редакционная коллегия:**

**Е.И. Ефимов**, д.м.н., профессор; **Г.И. Григорьева**, д.б.н., профессор;  
**М.С. Снегирева**, к.б.н.; **В.В. Королева**, ведущий инженер.

В данном издании представлены публикации, приуроченные к Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения», проводимой в честь 100-летнего юбилея ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора 11–12 сентября 2019 года. В работе конференции и в формировании сборника приняли участие ведущие ученые и специалисты научных и практических учреждений Роспотребнадзора, Центров по профилактике и борьбе со СПИД и других организаций из разных регионов страны и мира.

В издании отражены результаты научных исследований по вопросам эпидемиологии актуальных инфекций, в том числе с применением ГИС-технологий, молекулярной эпидемиологии; достижения в области диагностики, молекулярно-генетических и молекулярно-биологических исследований патогенов бактериальной и вирусной природы; в изучении иммунных механизмов защиты, создании и совершенствовании профилактических и диагностических препаратов, средств обеспечения биологической безопасности; общей и популяционной экологии микроорганизмов различных биосистем, различные аспекты биотехнологии иммунобиологических препаратов.

Публикации сборника будут полезны как научным, так и практическим работникам службы Роспотребнадзора и других ведомств, участвующих в создании противоэпидемической защиты населения, а также эпидемиологам, микробиологам, вирусологам, иммунологам, биотехнологам, работающим в разных областях науки и практического здравоохранения.

Научные статьи опубликованы в авторской редакции.

ISBN 978-5-906125-69-9



© ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной  
Роспотребнадзора, 2019

© Издательство «РЕМЕДИУМ ПРИВОЛЖЬЕ», 2019

**Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection  
and Human Wellbeing**



**Federal Budgetary Institution of Science «Academician I.N. Blokhina  
Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology»**

**COLLECTION OF SCIENTIFIC PAPERS**

**SCIENTIFIC SUPPORT OF ANTI-EPIDEMIC PROTECTION  
OF THE POPULATION: ACTUAL ISSUES AND SOLUTIONS**

**dedicated to the all-Russian scientific-practical conference  
with international participation  
(September 11–12, 2019)**

**Nizhny Novgorod**

**2019**

**SCIENTIFIC SUPPORT OF ANTI-EPIDEMIC PROTECTION OF THE POPULATION: ACTUAL ISSUES AND SOLUTIONS** // Collection of Scientific Papers of the all-Russian scientific-practical conference with international participation. Ed. M.D., full prof. E.I. Efimov. – Nizhny Novgorod: Publishing House «Remedium Privolzhje», 2019. – 396 p.

**ISBN 978-5-906125-69-9**

**Editorial board:**

M.D., full prof. **E.I. Efimov**

Dr. of Biol., full prof. **G.I. Grigorieva**

PhD. in Biol. **M.S. Snegireva**

Lead engineer **V.V. Koroleva**

The collection contain publications of the all-Russian scientific-practical conference with international participation «Scientific support of anti-epidemic protection of the population: actual issues and solutions», dedicated to the 100<sup>th</sup> anniversary of the Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor (September 11–12, 2019). Leading scientists and specialists from scientific and practical institutions of the Rospotrebnadzor, AIDS Prevention and Control Centers and other organizations from different regions of the country and the world took part in the conference and in the compilation of proceedings.

This publication reflects the results of scientific research on the epidemiology of actual infections, including the use of GIS technologies, molecular microbiology; achievements in the field of diagnosis, molecular genetic and molecular biological studies of pathogens of bacterial and viral nature; in the study of immune mechanisms of protection, development and improvement of preventive and diagnostic drugs, means of ensuring biological safety; general and population ecology of microorganisms in different biological systems, different aspects of biotechnology of various immunobiological preparations.

Publications will be useful for both scientists and practitioners of the service of Rospotrebnadzor and other agencies involved in the anti-epidemic protection of the population, as well as epidemiologists, microbiologists, virologists, immunologists, biotechnologists working in various fields of science and practical health care.

All scientific articles in the collection are published in the author's version.

ISBN 978-5-906125-69-9



© Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, 2019  
© Publishing House «Remedium Privolzhje», 2019



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ  
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ  
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА  
(РОСПОТРЕБНАДЗОР)**

**П Р И К А З**

29.04 2019

№ 236

Москва

О проведении Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения», посвященной 100-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

В соответствии с п. 14.4 Плана основных организационных мероприятий Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на 2019 г. п р и к а з ы в а ю:

1. Провести 11–12 сентября 2019 года в г. Нижнем Новгороде на базе ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора Всероссийскую научно-практическую конференцию с международным участием «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения», посвященную 100-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора (далее – конференция).

2. Утвердить перечень основных вопросов, планируемых для рассмотрения на конференции (Приложение 1).

3. Утвердить состав организационного комитета конференции (Приложение 2).

4. Директору ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора Ефимову Е.И.:

4.1. Обеспечить выполнение необходимых организационных мероприятий по подготовке и проведению конференции и заседания, размещению участников;

4.2. В срок до 15 августа 2019 года представить в Роспотребнадзор проект Программы конференции;

4.3. В срок до 30 сентября 2019 года представить в Роспотребнадзор отчет по итогам проведения конференции.

5. Руководителям территориальных органов и подведомственных организаций Роспотребнадзора командировать специалистов для участия в работе конференции в соответствии с распределением мест (Приложение 3).

6. Оплату командировочных расходов провести по месту основной работы командируемых.

7. Контроль за исполнением настоящего приказа возложить на заместителя руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Смоленского В.Ю.

Руководитель

А.Ю. Попова

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Ефимов Е. И., Григорьева Г. И., Королева В. В.</b> Путь длиной в 100 лет. Федеральное бюджетное учреждение науки «НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. АКАДЕМИКА И.Н.БЛОХИНОЙ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 1919–2019 гг. ....	23
---	----

### РАЗДЕЛ 1. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА АКТУАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ И ПАРАЗИТАРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ОЦЕНКА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО РИСКА

<b>1.1. Агапитов Д. С., Зайцев А. А., Гнусарева О. А., Остапович В. В., Сазонов А. В., Дубянский В. М.</b> Оценка эпидемиологических рисков заражения людей туляремией в природном очаге степного типа на территории Ставропольского края в 2003–2018 гг. и пути их минимизации.....	30
<b>1.2. Агафонова Е. В., Исаева Г. Ш., Решетникова И. Д.</b> Влияние гельминтозов и протозоозов на распространенность и течение аллергических заболеваний в современных условиях.....	33
<b>1.3. Антипова А. Ю., Лаврентьева И. Н.</b> Диагностика парвовирусной В19 инфекции у лиц с экзантемными заболеваниями.....	36
<b>1.4. Белявцева Л. И., Ермолова Н. В., Давыдова Н. А.</b> Факторы, определяющие экологию блох малого и горного сусликов, и участие их в эпизоотическом процессе в природных очагах чумы Северного Кавказа.....	38
<b>1.5. Борисова О. Ю., Пименова А. С., Гадуа Н. Т., Борисова А. Б., Петрова М. С., Кафарская Л. И., Афанасьев С. С.</b> Состояние лабораторной диагностики коклюшной инфекции в Российской Федерации.....	41
<b>1.6. Быстрова Т. Н., Полянина А. В., Залесских А. А., Кашникова А. Д.</b> Молекулярно-генетический мониторинг возбудителей в системе эпидемиологического надзора и контроля вирусных гепатитов.....	44
<b>1.7. Венедиктова А. А., Квашнина Д. В., Благоданова А. С.</b> Клинико-эпидемиологические особенности перипротезных инфекций.....	46
<b>1.8. Водяницкая С. Ю., Сергиенко О. В., Лях О. В., Иванова Н. Г., Кононенко А. А., Воловикова С. В., Киреев Ю. Г., Балахнова В. В., Баташев В. В., Архангельская И. В., Непомнящая Н. Б., Историк О. А., Черный М. А., Палилов М. Б., Бабура Е. А., Григорян Т. Ю.</b> О результатах лабораторных исследований балластных вод судов, прибывших в международные морские порты Российской Федерации.....	50
<b>1.9. Водяницкая С. Ю., Павлович Н. В., Сергиенко О. В., Воловикова С. В., Иванова Н. Г.</b> Оценка возможности появления устойчивых форм <i>Vibrio cholerae</i> при химической деконтаминации балластных вод дезсредством из группы полигуанидинов.....	53
<b>1.10. Голошва Е. В., Маркова К. Г., Алешукина А. В., Алешукина И. С., Твердохлебова Т. И.</b> Эффективность применения современных дезинфицирующих средств для предотвращения возникновения вспышек ИСМП в лечебно-профилактических учреждениях города Ростова-на-Дону.....	55
<b>1.11. Григорьев М. П., Давыдова Н. А., Ермолова Н. В.</b> Биоценотическая структура южной части прикаспийского песчаного природного очага чумы как основа для эпизоотологического мониторинга и неспецифической профилактики.....	58

1.12. <b>Егоричева С. Д., Авчинников А. В., Якушева М. В., Рогутский С. В., Авчинникова Д. А., Захарова Л. А.</b> Особенности заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в лечебно-профилактических учреждениях Смоленской области.....	60
1.13. <b>Ефременко Д. В., Ефременко В. И.</b> Оценка угрозы возникновения чрезвычайной ситуации биологического характера при заносе на территорию Российской Федерации опасных инфекций.....	63
1.14. <b>Зарипова А. З., Баязитова Л. Т., Тюпкина О. Ф., Чазова Т. А., Тюрин Ю. А., Исаева Г. Ш.</b> Особенности пневмококкового бактерионосительства у детей, посещающих детские дошкольные учреждения, в Республике Татарстан.....	67
1.15. <b>Зацепина А. О., Плышевский Г. В., Брагина Е. А.</b> Аденовирусная инфекция у детей дошкольного возраста г. Тюмени в период 2016–2018 гг.....	70
1.16. <b>Иванова О. Е., Морозова Н. С., Еремеева Т. П., Михайлова Ю. М., Шакарян А. К., Козловская Л. И.</b> Актуальные вопросы глобальной программы искоренения полиомиелита. Проблемы постсертификационного этапа (2003–2018 гг.) в Российской Федерации.....	72
1.17. <b>Катаева Л. В., Карпухина Н. Ф., Бычкова Л. А., Степанова Т. Ф.</b> Структура сероваров бактерий рода <i>Salmonella</i> , циркулирующих в Уральском федеральном округе.....	75
1.18. <b>Ковалев Е. В.</b> Эпидемиологический надзор за энтеровирусной инфекцией на территории Ростовской области.....	77
1.19. <b>Кряжев Д. В.</b> Влияние ультрафиолетового излучения на рост и спорообразование условно-патогенных микромицетов рода <i>Aspergillus</i> .....	79
1.20. <b>Левченко Д. А., Кругликов В. Д., Архангельская И. В., Ежова М. И., Водопьянов А. С., Ренгач М. В.</b> Анализ результатов мониторинга холеры на территории Российской Федерации с 2013 по 2017 гг.....	82
1.21. <b>Леонтьева С. А., Брагина Е. А., Степанова Т. Ф.</b> Клещевой риккетсиоз в Тюменской области.....	85
1.22. <b>Лисовская С. А., Халдеева Е. В., Хабипова Н. Н., Хазеева К. К., Петухова Е. Н.</b> Микробные ассоциации на медицинских катетерах у больных урологического отделения... ..	86
1.23. <b>Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Никифоров А. К., Демченко В. А., Зайцева Л. В., Феськова А. С., Миронова Н. П., Галетова С. С., Сивохина А. А.</b> Анализ и способы управления рисками при обращении медицинских изделий для диагностики <i>in vitro</i> особо опасных инфекций.....	89
1.24. <b>Лучинина С. В., Романова Г. В., Косарева Р. Р., Зинько Н. Ю., Валеуллина Н. Н., Галкина Е. А., Чиркова Г. Г.</b> Характеристика водной вспышки острых кишечных инфекций в поселке городского типа Кропачево Ашинского муниципального района Челябинской области.....	91
1.25. <b>Мельникова О. В., Андаев Е. И., Тимофеева А. А., Быкова Н. А.</b> Риск заражения трансмиссивными клещевыми инфекциями на территории города Иркутска.....	94
1.26. <b>Морозова О. В., Сашина Т. А., Новикова Н. А.</b> Филогеография российских ротавирусов вида А генотипа G1.....	97
1.27. <b>Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Шилова Ю. А., Богуш З. Ф.</b> Молекулярная эпидемиология энтеровирусной инфекции в Республике Беларусь: преобладающие серотипы возбудителей и их генетическое разнообразие.....	99
1.28. <b>Прислегина Д. А., Дубянский В. М., Василенко Н. Ф., Малецкая О. В., Куличенко А. Н.</b> Комплексный анализ факторов, влияющих на интенсивность эпидемических и эпизоотических проявлений крымской геморрагической лихорадки в Российской Федерации (на примере Ставропольского края).....	102



1.29. Скворода В. В., Буцкая М. Ю. Эпидемиологический надзор за острым гепатитом В в Северо-Западном федеральном округе.....	105
1.30. Слись С. С., Ковалев Е. В., Ерганова Е. Г., Ненадская С. А., Мирошниченко Г. А., Литовко А. Р. Анализ структуры случаев гриппа и ОРВИ не гриппозной этиологии на территории Ростовской области.....	107
1.31. Смирнова С. С., Панина Ц. А., Сидоренко О. Н., Иванова Н. А., Степанова К. Б., Степанова Т. Ф. Результаты обследования на эхинококкоз пациентов ФБУН «Гюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора.....	110
1.32. Старостина О. Ю. Актуальные биогельминтозы Омской области и проблемы их диагностики.....	112
1.33. Тураева Н. В., Герасимова А. Г., Цвиркун О. В., Тихонова Н. Т., Мамаева Т. А., Ежлова Е. Б., Мельникова А. А. Элиминация краснушной инфекции в России.....	115
1.34. Ушаков А. В., Фаттахов Р. Г. Оценка риска заражения населения в природном очаге клонорхоза в среднем течении р. Амур.....	118
1.35. Хакимуллина А. Х., Юзлибаева Л. Р., Авдонина Л. Г., Пяташина М. А. Обеспечение эпидемиологической безопасности нестерильных эндоскопических вмешательств в Республике Татарстан.....	120
1.36. Хуторянина И. В., Димидова Л. Л., Черникова М. П. Санитарно-эпидемиологическая исследования внешней среды по паразитарным показателям....	122
1.37. Чеканова Т. А. Индекс авидности антител класса G к <i>Coxiella burnetii</i> в эпидемиологическом мониторинге Q лихорадки.....	124
1.38. Шкарин В. В., Ковалишена О. В., Квашнина Д. В. Комплексная коморбидность как актуальная проблема медицины.....	127
1.39. Шукелайть С. Н., Кистенев А. А., Агеева О. Т. Заболеваемость энтеровирусной инфекцией населения воронежской области и особенности циркуляции энтеровирусов.....	132

## РАЗДЕЛ 2. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МОНИТОРИНГЕ И ИЗУЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПРОГНОЗНО-МОДЕЛИРУЮЩИЕ СИСТЕМЫ

2.1. Водопьянов А. С., Титова С. В., Пичурина Н. Л., Москвитина Э. А., Водяницкая С. Ю., Воловикова С. В., Янович Е. Г., Мишанькин Б. М., Водопьянов С. О., Олейников И. П. Онлайн ГИС «Единая система мониторинга внешних эпидемиологических угроз».....	135
2.2. Вьюшков М. В., Побединский Г. Г. О структуре БД ГИС «Эпидемиологический атлас России».....	137
2.3. Ершов В. И., Сарсков С. А. Социально-значимые и представляющие опасность для окружающих болезни в Приволжском федеральном округе. Анализ за 2018 и прогноз на 2019 годы.....	141
2.4. Ковалев Е. В., Слись С. С., Ерганова Е. Г., Ненадская С. А., Мирошниченко Г. А., Водопьянов А. С., Литовко А. Р., Лялина Л. В. Использование геоинформационных технологий для оценки заболеваемости гриппом в масштабах крупного города.....	145
2.5. Летюшев А. Н., Степанова Т. Ф., Шарухо Г. В., Фольмер А. Я. Результаты оценки уровня знаний основных принципов профилактики энтеробиоза у сотрудников дошкольных образовательных организаций.....	147
2.6. Низоленко Л. Ф., Бачинский А. Г. Теоретическая оценка необходимого запаса ресурсов регионов Сибирского федерального округа для противодействия эпидемиям особо опасных инфекций.....	150

2.7. Остапович В. В., Прислегина Д. А., Дубянский В. М., Малецкая О. В. Использование «ZIKAMAP» при эпизоотологическом мониторинге комаров-переносчиков опасных арбовирусов.....	153
2.8. Янович Е. Г., Москвитина Э. А. Информационные технологии, как инструмент для эпидемиологического анализа, в реализации задач эпидемиологии.....	155

### РАЗДЕЛ 3. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ И АЛГОРИТМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПОИСК ИНФОРМАТИВНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

3.1. Быстрова Т. Н., Полянина А. В., Кашникова А. Д. Выявляемость серологических и молекулярно-генетических маркёров вируса гепатита С у пациентов крупного соматического стационара.....	157
3.2. Елагин В. В., Игнатова Н. И., Гребенкин Е. В., Стрельцова О. С., Каменский В. А. Сравнение бактерицидных эффектов фотодинамической инактивации и лазерного излучения с длиной волны 405 нм в отношении уропатогенных микроорганизмов.....	159
3.3. Елифанова Н. В., Калашникова Н. А., Погодина Л. В., Хохлова Н. М., Зверев В. В., Кашников А. Ю., Шарбакина М. А., Садыкова Н. А., Новикова Н. А. Идентификация этиологического агента вспышки острой кишечной инфекции в общеобразовательном учреждении Нижнего Новгорода.....	162
3.4. Ерш А. В., Филатов П. В., Полтавченко А. Г. Разработка иммунохимического теста для первичного скрининга и серомониторинга ортопоксвирусных инфекций.....	165
3.5. Колесникова Е. А., Бруснигина Н. Ф., Кишоян К. Г. Распространенность и антибиотикорезистентность урогенитальных микоплазм среди женщин репродуктивного возраста.....	167
3.6. Кудрявцева Т. Ю., Мокриевич А. Н. Идентификация возбудителя туляремии молекулярно-генетическими и другими методами. особенности диагностики туляремии.....	170
3.7. Неумоина Н. В., Перфилова К. М., Шутова И. В., Неумоина М. В., Трошина Т. А., Бутина Т. Ю., Кузнецова И. В. Характеристика генетического профиля <i>H. pylori</i> у пациентов с впервые и повторно выявленной инфекцией.....	180
3.8. Новикова Л. И., Волков А. В., Зуева М. М., Матвеевская Н. С., Синчугова Т. В., Кострова О. М. Оценка стабильности экспериментальных серий препарата «КИП назальный» при хранении.....	183
3.9. Новикова Т. С., Асташкин Е. И., Карцев Н. Н., Ершова О. Н., Курдюмова Н. В., Фурсова Н. К. Бессимптомное носительство грамотрицательных бактерий и генов антибиотикорезистентности у пациентов нейрореанимации.....	186
3.10. Порин А. А. Балдэ Раматулай Выделение бактерий рода <i>Campylobacter</i> от кур в личных хозяйствах в Республике Гвинея.....	190
3.11. Ребещенко А. П., Степанова Т. Ф., Катаева Л. В. Структура и характеристика микроорганизмов, колонизирующих пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии.....	192
3.12. Ульшина Д. В., Еременко Е. И., Ковалев Д. А., Рязанова А. Г., Аксенова Л. Ю., Семенова О. В., Жиров А. М., Сирица Ю. В., Бобрышева О. В., Кузнецова И. В., Писаренко С.В., Жилченко Е. Б., Куличенко А. Н. Межвидовая дифференциация микроорганизмов рода <i>Bacillus</i> с использованием масс-спектрометрического анализа.....	194

3.13. <b>Чемисова О. С., Водопьянов А. С., Полеева М. В., Водопьянов С. О., Сагакянц М. М.</b> Алгоритм анализа данных масс-спектрометрии штаммов холерного вибриона с применением искусственных нейронных сетей.....	197
3.14. <b>Щербаков И. Т., Леонтьева Н. И., Грачева Н. М., Соловьева А. И., Лиханская Е. И., Воропаев А. Д.</b> Морфологическая диагностика бластоцистоза по биоптатам.....	200
3.15. <b>Якушева О. А., Алексеева Л. П., Зюзина В. П., Яговкин М. Э.</b> Получение специфических иммунореагентов и применение их в диагностике холеры.....	202

#### РАЗДЕЛ 4. ДОСТИЖЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ И ПАРАЗИТОЛОГИИ

4.1. <b>Алексеева А. Е., Бруснигина Н. Ф.</b> Структура генома штамма <i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i> A1-14.....	205
4.2. <b>Борискина Е. В., Беляева Е. В., Ермолина Г. Б., Шкуркина И. С., Кряжев Д. В.</b> Сравнительная характеристика биологических свойств коагулазонегативных стафилококков, циркулирующих в стационарах различного профиля.....	208
4.3. <b>Бруснигина Н. Ф., Махова М. А., Черневская О. М., Орлова К. А., Колесникова Е. А., Сперанская Е. В., Барышева Н. Н., Скобло Л. Е., Кленина Н. Н., Кишоян К. Г.</b> Результаты многолетнего мониторинга возбудителей негонококковых уrogenитальных инфекций у репродуктивного населения Нижнего Новгорода.....	212
4.4. <b>Егорова С. А., Кафтырева Л. А., Останкова Ю. В.</b> Генетическое разнообразие механизмов резистентности к антибиотикам штаммов <i>Salmonella</i> .....	216
4.5. <b>Кафтырева Л. А., Егорова С. А., Кулешов К. В., Матвеева З. Н.</b> Гетерогенность популяции и филогенетическая структура возбудителя брюшного тифа, зарегистрированного в Российской Федерации.....	219
4.6. <b>Козловская Л. И., Золотарева А. Д., Черников В. С., Осолодкин Д. И.</b> Спектр противозентеровирусной активности производных нуклеозидов.....	222
4.7. <b>Колесникова Е. А., Бруснигина Н. Ф., Махова М. А., Алексеева А. Е., Черневская О. М., Барышева Н. Н., Орлова К. А.</b> Молекулярные механизмы резистентности к фторхинолонам и макролидам уrogenитальных микоплазм.....	224
4.8. <b>Косырева А. Н., Бакштановская И. В., Степанова Т. Ф., Степанова К. Б., Кальгина Г. А., Григорьева С. А., Курлаева Л. В., Зматракова Е. А., Ожирельева И. В.</b> Влияние генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушением липидного обмена, на некоторые лабораторные показатели у больных хроническим описторхозом, вызванным <i>Opisthorchis felineus</i> .....	228
4.9. <b>Макарова М. А., Кафтырева Л. А.</b> Взаимосвязь внутривидового разнообразия и генетических детерминант патогенности <i>Escherichia coli</i> .....	230
4.10. <b>Мохонов В. В., Новиков Д. В., Новиков В. В.</b> Создание штамма <i>Escherichia coli</i> для продукции рекомбинантных белков.....	233
4.11. <b>Мохонова Е. В., Мелентьев Д. А., Лапин В. А., Талаева М. В., Неумоина Н. В., Перфилова К. М.</b> Оценка про- и противовоспалительной активности CD4+ лимфоцитов при прямом контакте с <i>H. pylori</i> .....	237
4.12. <b>Новиков Д. В., Селиванова С. Г., Красногорова Н. В., Горшкова Е. Н., Плескова С. Н., Новиков В. В.</b> Транскрипционный ответ клеток крови на наночастицы магнетита и квантовые точки.....	240
4.13. <b>Сашина Т. А., Морозова О. В., Епифанова Н. В., Новикова Н. А.</b> Реассортантные штаммы ротавируса А генотипа G4-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-N1 в Нижнем Новгороде.....	242

4.14. <b>Тедиков В. М.</b> Клетки <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , формирующие мелкие колонии, могут восстанавливать фенотипические характеристики дикого типа.....	245
4.15. <b>Точилина А. Г., Белова И. В., Соловьева И. В., Жирнов В. А., Молодцова С. Б.</b> Характеристика белковых спектров и полного генома пробиотических штаммов <i>L. fermentum</i> .....	248

## РАЗДЕЛ 5. МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИЯХ. ЭКОЛОГИЯ БИОСИСТЕМ

5.1. <b>Алексанина Н. В.</b> Микроэкологические особенности кишечной микробиоты у детей раннего возраста групп риска.....	251
5.2. <b>Белова И. В., Точилина А. Г., Соловьева И. В., Барболина С. Ф., Репина Н. Б., Жирнов В. А., Молодцова С. Б.</b> Видовой состав микробиоты толстой кишки больных туберкулезом легких.....	254
5.3. <b>Валиева Р. И., Баязитова Л. Т., Тюпкина О. Ф., Чазова Т. А., Исаева Г. Ш.</b> Микробиота носоглотки у детей-носителей <i>S. pneumoniae</i> с частыми респираторными инфекциями.....	257
5.4. <b>Гапон М. Н., Тагиров З. Т., Костоева М.Г., Логинов И. А.</b> Состояние местной неспецифической резистентности у беременных с дисбиозом толстой кишки как фактор оценки риска распространения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.....	260
5.5. <b>Заславская М. И., Александрова Н. А., Махрова Т. В.</b> Антикандидозная активность энтерококков в вагинальном биотопе и экспериментах <i>in vitro</i> .....	263
5.6. <b>Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алешкин В. А.</b> Потенциал пробиотических взаимодействующих с гликоконъюгатами белков в организме человека: синергисты лекарств, носители пребиотиков, источники постбиотиков, ингредиенты функционального питания, инструменты влияния на биотоп.....	266
5.7. <b>Полищук И. С., Алешукина И. С., Алешукина А. В., Твердохлебова Т. И.</b> Анализ чувствительности микроорганизмов микробиоты влагалища к гелевой и жидкой форме поливалентных бактериофагов.....	269
5.8. <b>Полищук И. С., Алешукина И. С., Алешукина А. В., Твердохлебова Т. И.</b> Анализ микробиоты ротоглотки у ВИЧ-инфицированных .....	271
5.9. <b>Тюрин Ю. А., Исаева Г. Ш., Григорьева Т. В., Ризванов А. А.</b> Микрофлора поражённой кожи у больных атопическим дерматитом с сенсibilизацией к консервативным эпитомам стафилококкового энтеротоксина А (SEA).....	273
5.10. <b>Халдеева Е. В., Глушко Н. И., Лисовская С. А., Хисматулина И. М., Хайдарова Г. Г.</b> Микробиота ногтевых пластин у пациентов с онихомикозом кистей, длительно применявших стойкие маникюрные покрытия.....	276

## РАЗДЕЛ 6. НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

6.1. <b>Антонычева М. В., Холматов К. И., Лобовикова О. А., Белоусов А. Д., Чалбушев М. М., Волох О. А.</b> Практика валидации системы получения воды очищенной в производстве холерной вакцины.....	279
6.2. <b>Гаевская Н. Е., Погожова М. П., Кочеткова А. О., Тюрина А. В.</b> Усовершенствование диагностического препарата на основе бактериофагов для дифференциации на биовары холерных вибрионов O1 серогруппы.....	284

6.3. Кошкидько А. Г., Курчева С. А., Жарникова И. В., Старцева О. Л. Проверка соответствия технических, функциональных и эксплуатационных характеристик экспериментальных серий набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий».....	287
6.4. Курчева С. А., Пономаренко Д. Г., Жарникова И. В., Ковалев Д. А., Кошкидько А. Г., Ракитина Е. Л., Костюченко М. В., Логвиненко О. В., Жданова Е. В., Геогджаян А. С. Разработка антигенного бруцеллезного полисахаридно-белкового комплекса для использования в клеточных тестах in vitro.....	290
6.5. Старцева О. Л., Зуенко А. А., Курчева С. А., Богданова Ю. В., Гридина Т. М. Изучение стабильности и установление сроков годности набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий».....	292
6.6. Шипко Е. С., Дуванова О. В., Писанов Р. В. Определение спектра жирных кислот в клетках <i>Vibrio cholerae</i> O139 серогруппы при стандартных и переменных условиях культивирования.....	294

## РАЗДЕЛ 7. СОВРЕМЕННЫЕ ВАКЦИННЫЕ СТРАТЕГИИ, НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ВАКЦИН И ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ

7.1. Андреев Ю. Ю., Топтыгина А. П. Иммунный ответ на вакцинацию против кори у взрослых.....	297
7.2. Бабайкина О. Н., Талаев В. Ю., Заиченко И. Е., Талаева М. В., Воронина Е. В., Соловьева И. В., Белова И. В., Точилина А. Г. Количественная оценка эндоцитоза различных микроорганизмов дендритными клетками.....	300
7.3. Бугоркова С. А., Клюева С. Н., Кравцов А. Л., Щуковская Т. Н. Характеристика влияния сочетанного применения адъювантов нового поколения с вакцинным штаммом <i>Yersinia pestis</i> EV НИИЭГ на клетки APUD-системы в лимфоидных органах биомодели.....	303
7.4. Генералов С. В., Абрамова Е. Г., Гаврилова Ю. К., Жулидов И. М., Никифоров А. К. Современные биотехнологии производства иммунобиологического препарата для постэкспозиционной профилактики бешенства – антирабического иммуноглобулина.....	305
7.5. Заиченко И. Е., Талаев В. Ю., Талаева М. В., Бабайкина О. Н., Воронина Е. В., Соловьева И. В., Белова И. В., Точилина А. Г. Влияние микроорганизмов на созревание и миграционные свойства дендритных клеток.....	308
7.6. Ильичева Т. Н., Дурыманов А. Г., Святченко С. В., Буланович Ю. А., Рыжиков А. Б. Популяционный иммунитет к сезонному гриппу накануне эпидемического сезона и тяжелые случаи заболевания в 2018–2019 гг.....	311
7.7. Карпенко Л. И., Бажан С. И., Антоненко Д. В., Дудко С. Г., Каплина О. Н., Ильичев А. А. Разработка и изучение свойств искусственных полиэпитопных иммуногенов вируса Эбола.....	313
7.8. Клюева С. Н., Кравцов А. Л., Бугоркова С. А., Кожевников В. А., Гончарова А. Ю. Влияние полиоксидония на фагоцитарную активность гранулоцитов крови мышей линии BALB/C по отношению к чумному микробу.....	316
7.9. Коврижко М. В., Яговкин Э. А., Твердохлебова Т. И., Цивин В. С., Решетов А. А., Троценко А. А., Маркова К. Г., Курбатов Е. С. Состояние и перспективы разработки иммуногенной субстанции гемофильного типа b микроба.....	318

7.10. <b>Кравцов А. Л., Гончарова А. Ю., Бугоркова С. А.</b> Зависимость эффективности поствакцинальной противочумной защиты у мышей от формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек.....	320
7.11. <b>Кудрявцева О. М., Гончарова А. Ю., Бугоркова С. А., Ключева С. Н., Кравцов А. Л., Кожевников В. А., Щуковская Т. Н.</b> Определение дополнительных факторов, влияющих на иммунологический статус вакцинированных против чумы лиц.....	322
7.12. <b>Макарова В. Г., Устинова О. Ю., Долгих О. В.</b> Состояние поствакцинального иммунитета к кори у детей, проживающих в условиях техногенного загрязнения окружающей среды.....	325
7.13. <b>Мамаева Т. А., Калашникова Н. А., Шершнева Н. Н., Семенова А. В., Наумова М. А.</b> Оценка эффективности использования коммерческих тест-систем для определения коревых IgG методом ИФА.....	328
7.14. <b>Топтыгина А. П., Гребенников Д. С., Бочаров Г. А.</b> Прогнозирование специфического иммунного ответа на основании параметров иммунного статуса при вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита.....	331
7.15. <b>Ярковская И. В., Вендеревская Е. И., Щукина И. А., Зубчонок Н. В., Ходякова И. А., Бондарев В. А., Савельев С. И.</b> Изучение популяционного иммунитета к гриппу и оценка эффективности иммунизации в сезон 2018–2019 гг.....	334

## РАЗДЕЛ 8. ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА, ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

8.1. <b>Воронина Е. В., Талаев В. Ю., Талаева М. В., Заиченко И. Е., Бабайкина О. Н.</b> Исследование созревания Т-фолликулярных хелперов.....	337
8.2. <b>Григорьева С. А., Степанова Т. Ф., Степанова К. Б., Кальгина Г. А., Курлаева Л. В.</b> Фенотип лимфоцитов у пациентов, инфицированных <i>Toxoplasma gondii</i> .....	340
8.3. <b>Дубков Н. А., Счесленок Е. П., Семижон П. А., Ткачев С. В., Школина Т. В., Владыко А. С.</b> Получение высокоочищенного препарата мышинных иммуноглобулинов G, содержащих антитела к участкам FC-фрагмента IGG человека.....	341
8.4. <b>Кальгина Г. А., Степанова К. Б., Степанова Т. Ф., Григорьева С. А., Курлаева Л. В.</b> Неспецифическая резистентность у людей с хронической описторхозной инвазией в Тюменской области (миелопероксидаза, интерлейкин-8, фагоцитоз).....	344
8.5. <b>Курлаева Л. В., Степанова Т. Ф., Степанова К. Б., Кальгина Г. А., Григорьева С. А.</b> Основные показатели клеточного и гуморального иммунитета при хроническом описторхозе у лиц, проживающих на территории Тюменской области.....	346
8.6. <b>Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алешкин В. А., Афанасьев С. С.</b> Перспективы системы С4А+С4В комплемента человека имэджевой диагностике патологий.....	348
8.7. <b>Лахтин М. В., Лахтин В. М., Комбарова С. Ю., Алешкин В. А., Афанасьев С. С.</b> Распознающие и связывающие гликоконъюгаты – опорные системы настройки здоровья человека.....	352
8.8. <b>Лукова О. А., Заславская М. И., Кропотов В. С., Махрова Т. В., Александрова Н. А.</b> Экспрессия TLR-2 и TLR-4 на буккальном эпителии при пародонтите и кандидозе полости рта.....	356
8.9. <b>Сахарнов Н. А., Филатова Е. Н., Князев Д. И., Преснякова Н. Б., Уткин О. В.</b> Анализ экспрессии МРНК основных участников сигналинга апоптоза в лейкоцитах крови детей с острым ВГЧ-6 инфекционным мононуклеозом.....	359

<b>8.10. Талаев В. Ю., Матвейчев А. В., Заиченко И. Е., Талаева М. В., Бабайкина О. Н., Воронина Е. В.</b> Вакцинный адъювант «Полиоксидоний®» усиливает иммунный ответ на низкую дозу антигенов гриппа.....	363
<b>8.11. Талаев В. Ю., Талаева М. В., Воронина Е. В., Заиченко И. Е., Бабайкина О. Н., Неумоина Н. В., Перфилова К. М.</b> Экспрессия хемокиновых рецепторов на Т-хелперах крови при <i>Helicobacter pylori</i> -инфекции и болезни Крона.....	366
<b>8.12. Уткин О. В., Филатова Е. Н., Князев Д. И., Сахарнов Н. А., Преснякова Н. Б.</b> Современный подход к поиску новых транскриптом- ассоциированных маркеров патологии с помощью биочипов на примере заболеваний, вызываемых онкогенными герпесвирусами ВЭБ и ВГЧ-6.....	369

## РАЗДЕЛ 9. ДОСТИЖЕНИЯ, ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РЕАЛИЗАЦИИ ГОСУДАРСТВЕННОЙ СТРАТЕГИИ ПО ПРОТИВОДЕЙСТВИЮ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

<b>9.1. Зайцева Н. Н., Альтова Е. Е.</b> ВИЧ-инфекция в субъектах Приволжского федерального округа в 2018 году.....	373
<b>9.2. Кузоватова Е. Е.</b> Организация диспансерного наблюдения за ВИЧ-позитивными лицами в Приволжском федеральном округе в 2018 г.....	375
<b>9.3. Любимова Н. Е., Семёнов А. В.</b> Частота аллеля CCR5delta32 в популяции Санкт-Петербурга.....	378
<b>9.4. Пятяшина М. А., Авдоница Л. Г., Борисова Л. О., Мокеева М. В.</b> О проведении информационно-образовательных мероприятий по профилактике ВИЧ-инфекции в трудовых коллективах в Республике Татарстан.....	381
<b>9.5. Питерский М. В.</b> Изучение возможности прогнозирования распространённости ВИЧ/СПИД с использованием искусственных нейронных сетей.....	382
<b>9.6. Твердохлебова Т. И., Матузкова А. Н., Пшеничная Н. Ю., Суладзе А. Г., Журавлев А. С.</b> Мониторинг эффективности диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией на Юге России.....	384
<b>9.7. Твердохлебова Т. И., Суладзе А. Г., Рындич А. А., Сухова А. Г., Колпаков Д. С.</b> ВИЧ-инфекция на Юге России: молекулярно-эпидемиологические аспекты.....	389
<b>9.8. Тюменцев А. Т., Левахина Л. И., Довгополюк Е. С., Сергеева И. В.</b> Обзор эпидситуации по ВИЧ-инфекции в Сибирском федеральном округе в 2018 году.....	391

## CONTENTS

<b>Efimov E. I., Grigorieva G. I., Koroleva V. V.</b> Route of 100 years in length. Federal budgetary scientific institution «Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod scientific research institute of epidemiology and microbiology» of Federal service for surveillance on consumer rights protection and human wellbeing 1919–2019.....	23
--	----

### SECTION 1. IMPROVEMENT OF EPIDEMIOLOGICAL ACTUAL INFECTIOUS AND PARASITIC DISEASE SURVEILLANCE, EPIDEMIC RISK ASSESSMENT

1.1. <b>Agapitov D. S., Zaitsev A. A., Gnusareva O. A., Ostapovich V. V., Sazonov A. V., Dubyansky V. M.</b> Assessment of the epidemiological risk of human tularemia infection in the natural focus of steppe type in the territory of the Stavropol krai in 2003–2018 and ways to minimize them.....	30
1.2. <b>Agafonova E. V., Isaeva G. Sh., Reshetnikova I. D.</b> Effects of helminthosis and protozooses on the prevalence and course of allergic diseases in modern conditions.....	33
1.3. <b>Antipova A. Yu., Lavrentieva I. N.</b> Diagnosis of parvovirus B19 infection in patients with erythema diseases.....	36
1.4. <b>Belyavtseva L. I., Ermolova N. V., Davydova N. A.</b> Factors determining the ecology of fleas of small and mountain sousliks, and their participation in the epizootic process in natural plague foci of North caucasus.....	38
1.5. <b>Borisova O. Yu., Pimenova A. S., Gadua N. T., Borisova A. B., Petrova M. S., Kafarskaya L. I., Afanasiev S. S.</b> Condition of laboratory diagnosis of the pertussis infection in the Russian Federation.....	41
1.6. <b>Bystrova T. N., Polyanina A. V., Zalesskikh A. A., Kashnikova A. D.</b> Molecular-genetic monitoring of viral hepatitis pathogens in the system of epidemiological surveillance and control.....	44
1.7. <b>Venediktova A. A., Kvashnina D. V., Blagonravova A. S.</b> Clinical and epidemiological features of periprosthetic infections.....	46
1.8. <b>Vodyanitskaya S. Yu., Sergienko O. V., Lyakh O. V., Ivanova N. G., Kononenko A. A., Volovikova S. V., Kireev Yu. G., Balahnova V. V., Batashev V. V., Arkhangelskaya I. V., Nepomnyashaya N. B., Istorik O. A., Cherniy M. A., Palilov M. B., Babura E. A., Grigoryan T. Yu.</b> On the results of laboratory studies of ballast waters of ships arriving in the international seaports of the Russian Federation.....	50
1.9. <b>Vodyanitskaya S. Yu., Pavlovich N. V., Sergienko O. V., Volovikova S. V., Ivanova N. G.</b> Assessment of possibility of emergence of drug resistant <i>Vibrio cholerae</i> while treating ballast water with polyguanidine disinfectant.....	53
1.10. <b>Goloshva E. V., Markova K. G., Aleshukina A. V., Aleshukina I. S., Tverdokhlebova T. I.</b> Efficiency of application of modern disinfectants for the prevention of outbreaks of HCAI in hospitals of Rostov-on-Don.....	55
1.11. <b>Grigorev M. P., Davydova N. A., Ermolova N. V.</b> Biocenotic structure of the southern part of the Caspian sandy natural focus of plague as a basis for the epizootological monitoring and nonspecific prevention.....	58
1.12. <b>Egoricheva S. D., Avchinnikov A. V., Yakusheva M. V., Rogutsky S. V., Avchinnikova D. A., Zaharova L. A.</b> The incidence of health care associated infections in medical institutions of the Smolensk region.....	60
1.13. <b>Efremenko D. V., Efremenko V. I.</b> Assessment of threat of emergency situation of biological character at the drift on the territory of the Russian Federation of dangerous infections..	63



1.14. <b>Zaripova A. Z., Bayazitova L. T., Tupkina O. F., Chazova T. A., Tyurin Y. A., Isaeva G. Sh.</b> Propeptics of pneumococcal carriage in children attending preschool institutions in the Republic of Tatarstan.....	67
1.15. <b>Zatsepina A. O., Plyshevskiy G. V., Bragina E. A.</b> Adenovirus infection in preschool children of Tyumen in the period 2016–2018.....	70
1.16. <b>Ivanova O. E., Morozova N. S., Eremeeva T. P., Mikhailova Yu. M., Shakaryan A. K., Kozlovskaya L. I.</b> Current issues of the global polio eradication program. problems of the post-certification period (2003–2018) in the Russian Federation.....	72
1.17. <b>Kataeva L. V., Karpukhina N. F., Bychkova L. A., Stepanova T. F.</b> Structure of serovars bacteria of the genus <i>Salmonella</i> circulating in the Ural federal district.....	75
1.18. <b>Kovalev E. V.</b> Epidemiological surveilliance of enterovirus infection on the territory of Rostov region.....	77
1.19. <b>Kryazhev D. V.</b> Influence of ultra-violet radiation on growth and sporulation of opportunistic micromycetes of the <i>Aspergillus</i> genus.....	79
1.20. <b>Levchenko D. A., Kruglikov V. D., Arkhangelskaya I. V., Ezhova M. I., Vodopyanov A. S., Rengach M. V.</b> Analysis of the results of cholera monitoring in the territory of the Russian Federation from 2013 to 2017.....	82
1.21. <b>Leontyeva S. A., Bragina E. A., Stepanova T. F.</b> Tick-borne rickettsiosis in Tyumen region.....	85
1.22. <b>Lisovskaya S. A., Khaldeeva E. V., Habipova N. N., Khazeyeva K. K., Petukhova E. N.</b> Microbial associations on medical catheters in patients of urological department.....	86
1.23. <b>Lobovikova O. A., Shulgina I. V., Nikiforov A. K., Demchenko V. A., Zaytseva L. V., Feskova A. S., Mironova N. P., Galetova S. S., Sivohina A. A.</b> Analysis and risk-management methods for handling medical devices for <i>in vitro</i> diagnosis of especially dangerous infections.....	89
1.24. <b>Luchinina S. V., Romanova G. V., Kosareva R. R., Zin'ko N. Yu., Valiullina N. N., Galkina E. A., Chirkova G. G.</b> Characteristics of the water outbreak of acute intestinal infections in the urban-type settlement of Kropachevo, Ashinsky municipal district of the Chelyabinsk region.....	91
1.25. <b>Melnikova O. V., Andaev E. I., Timofeeva A. A., Bykova N. A.</b> Risk of transmissible tick-borne infections in the territory of the city of Irkutsk.....	94
1.26. <b>Morozova O. V., Sashina T. A., Novikova N. A.</b> Phylogeography of Russian rotaviruses A, genotype G1.....	97
1.27. <b>Poklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Shilova Yu. A., Bogush Z. F.</b> Molecular epidemiology of enteroviral infection in the Republic of Belarus: predominant serotypes and their genetic diversity .....	99
1.28. <b>Prislegina D. A., Dubyanskiy V. M., Vasilenko N. F., Maletskaya O. V., Kulichenko A. N.</b> Comprehensive analysis of factors explaining the intensity of epidemic and epizootic Crimean-Congo hemorrhagic fever manifestations in the Russian Federation (on the example of Stavropol krai).....	102
1.29. <b>Skvoroda V. V., Butskaya M. Yu.</b> Epidemiological surveilliance of acute hepatitis B in the North-Western federal district.....	105
1.30. <b>Slis' S. S., Kovalev E. V., Erganova E. G., Nenadskaya S. A., Miroshnichenko G. A., Litovko A. R.</b> Analysis of the structure of the influenza and ARVI cases of non-influenza etiology on the territory of Rostov region.....	107
1.31. <b>Smirnova S. S., Panina Ts. A., Sidorenko O. N., Ivanova N. A., Stepanova K. B., Stepanova T. F.</b> Results of a survey on the echinococcosis of patients of Tyumen scientific research institute of regional infectious pathology .....	110
1.32. <b>Starostina O. Yu.</b> Actual biohelminthiasis of Omsk region and the problems of their diagnostics.....	112

1.33. <b>Turaeva N. V., Gerasimova A. G., Tsvirkun O. V., Tihonova N. T., Mamaeva T. A., Ezhlova E. B., Melnikova A. A.</b> Elimination of rubella infection in Russia.....	115
1.34. <b>Ushakov A. V., Fattahov R. G.</b> Assessment of infection risk in the population in the natural clonorchosis focus in the middle reaches of the Amur river.....	118
1.35. <b>Khakimullina A. Kh., Yuzlibaeva L. R., Avdonina L. G., Patyashina M. A.</b> Ensuring epidemiological safety of non-sterile endoscopic procedures in medical organizations of the Republic of Tatarstan.....	120
1.36. <b>Khutoryanina I. V., Dimidova L. L., Chernikova M. P.</b> Sanitary and epidemiological studies of the environment based on parasitic indicators.....	122
1.37. <b>Chekanova T. A.</b> Avidity index of class G antibodies to <i>Coxiella burnetii</i> for epidemiological monitoring of Q fever.....	124
1.38. <b>Shkarin V. V., Kovalishena O. V., Kvashnina D. V.</b> Complex comorbidity as an actual problem of medicine.....	127
1.39. <b>Shukelayt S. N., Kistenev A. A., Ageeva O. T.</b> The incidence of enterovirus infection in the population of the Voronezh region and the peculiarities of circulation of enteroviruses.....	132

## SECTION 2. INFORMATION TECHNOLOGIES IN THE MONITORING AND STUDY OF INFECTIOUS DISEASES, PREDICTIVE-MODELING SYSTEMS

2.1. <b>Vodopianov A. S., Titova S. V., Pichurina N. L., Moskvitina E. A., Vodjanickaja S. Yu., Volovikova S. V., Janovich E. G., Mishan'kin B. M., Vodopianov S. O., Olejnikov I. P.</b> Online GIS «Unified system for monitoring external epidemiological threats».....	135
2.2. <b>Vyushkov M. V., Pobedinsky G. G.</b> On the structure of GIS database «Epidemiological atlas of Russia».....	137
2.3. <b>Ershov V. I., Sarscov S. A.</b> Socially significant and dangerous to others diseases in the Volga federal district. Analysis for 2018 and forecast for 2019.....	141
2.4. <b>Kovalev E. V., Slis' S. S., Erganova E. G., Nenadskaya S. A., Miroshnichenko G. A., Vodop'yanov A. S., Litovko A. R., Lyalina L. V.</b> Using geographic information technologies to assess the incidence of influenza in a large city.....	145
2.5. <b>Letyushev A. N., Stepanova T. F., Sharukho G. V., Folmer A. Ya.</b> Results of the assessment of the level of knowledge of the main trailers of the prevention of enterobiosis in the preschool educational organizations employees.....	147
2.6. <b>Nizolenko L. F., Bachinsky A. G.</b> Theoretical assessment of the necessary reserves of resources in regions of the Siberian federal district to combat especially dangerous infections.....	150
2.7. <b>Ostapovich V. V., Prislegina D. A., Dubyanskiy V. M., Maletskaya O. V.</b> Using the GIS portal «ZikaMap» for epizootological monitoring of mosquitoes-carriers of dangerous arboviruses.....	153
2.8. <b>Yanovich E. G., Moskvitina E. A.</b> Information technologies as a tool for epidemiological analysis in implementation of epidemiological problems.....	155

## SECTION 3. MODERN METHODS AND ALGORITHMS FOR IDENTIFYING OF INFECTIOUS DISEASE PATHOGENS, SEARCH FOR INFORMATION MARKERS FOR THE PURPOSES OF CLINICAL AND LABORATORY DIAGNOSTICS

3.1. <b>Bystrova T. N., Polyanina A. V., Kashnikova A. D.</b> Detection of serological and molecular genetic markers of the HCV infection in hospital patients with non-infectious pathology.....	157
---	-----

3.2. <b>Elagin V. V., Ignatova N. I., Grebenkin E. V., Streltsova O. S., Kamensky V. A.</b> Comparison of bactericidal effects of photodynamic inactivation and 405 nm laser radiation in relation to uropathogenic microorganisms.....	159
3.3. <b>Epifanova N. V., Kalashnikova N. A., Pogodina L. V., Khokhlova N. M., Zverev V. V., Kashnikov A. Yu., Sharabakina M. A., Sadykova N. A., Novikova N. A.</b> Identification of an etiological agent of acute enteric infection outbreak in general educational institution of Nizhny Novgorod.....	162
3.4. <b>Ersh A. V., Filatov P. V., Poltavchenko A. G.</b> Development of immunochemical test for the primary screening and seromonitoring orthopoxvirus infections.....	165
3.5. <b>Kolesnikova E. A., Brusnigina N. F., Kishoyan K. G.</b> Prevalence and antibiotic resistance of urogenital mycoplasmas among women of reproductive age.....	167
3.6. <b>Kudryavtseva T. Yu., Mokrievich A. N.</b> Identification of the causative agent of tularemia by molecular genetic and other methods. Features of tularemia diagnosis.....	170
3.7. <b>Neumoina N. V., Perfilova K. M., Shutova I. V., Neumoina M. V., Troshina T. A., Butina T. Yu., Kuznetsova I. V.</b> Characteristic of the <i>H. pylori</i> genetic profile in patients with first and repeated revealed infection.....	180
3.8. <b>Novikova L. I., Volkov A. V., Zueva M. M., Matveevskaya N. S., Sinchugova T. V., Kostrova O. M.</b> Stability evaluation of experimental batches of the drug «KIP nasal» during storage.....	183
3.9. <b>Novikova T. S., Astashkin E. I., Kartsev N. N., Ershova O. N., Kurdyumova N. V., Fursova N. K.</b> Asymptomatic carriage of gram negative bacteria and antibacterial resistance genes in patients of neurological intensive care unit.....	186
3.10. <b>Porin A. A., Balde Ramatoulaye</b> Isolation of <i>Campylobacter spp.</i> from chickens in farms in the Republic of Guinea.....	190
3.11. <b>Rebeshchenko A. P., Stepanova T. F., Kataeva L. V.</b> Structure and characteristics of microorganisms colonizing patients of the division of reanimation and intensive therapy.....	192
3.12. <b>Ulshina D. V., Eremenko E. I., Kovalev D. A., Ryazanova A. G., Aksenova L. Yu., Semenova O. V., Zhirov A. M., Siritsa Yu. V., Bobrisheva O. V., Kuznetsova I. V., Pisarenko S. V., Zhilchenko E. B., Kulichenko A. N.</b> Interspecific differentiation of microorganisms of the <i>Bacillus</i> genus by mass spectrometric analysis.....	194
3.13. <b>Chemisova O. S., Vodop'yanov A. S., Poleeva M. V., Vodop'anov S. O., Sagakyants M. M.</b> The algorithm for mass spectrometry data analysis of <i>Vibrio cholerae</i> strains using artificial neural networks.....	197
3.14. <b>Sherbakov I. T., Leontyeva N. I., Gracheva N. M., Solovyeva A. I., Likhansaya E. I., Voropaev A. D.</b> Morphological diagnosis of blastocystis using biopsy.....	200
3.15. <b>Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Zuzina V. P., Yagovkin M. E.</b> Obtaining specific immunoreagents and their use in the diagnosis of cholera.....	202

#### SECTION 4. ACHIEVEMENTS OF MOLECULAR BIOLOGICAL RESEARCH IN THE FIELD OF MICROBIOLOGY, VIROLOGY, IMMUNOLOGY AND PARASITOLOGY

4.1. <b>Alekseeva A. E., Brusnigina N. F.</b> Genome structure of <i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i> strain A1-14.....	205
4.2. <b>Boriskina E. V., Belyaeva E. V., Ermolina G. B., Shkurkina I. S., Kryazhev D. V.</b> Comparative characteristics of biological properties of coagulase-negative staphylococci circulating in hospitals of various profiles.....	208
4.3. <b>Brusnigina N. F., Makhova M. A., Chernevskaya O. M., Orlova K. A., Kolesnikova E. A., Speranskaya E. V., Barysheva N. N., Skoblo L. E., Klenina N. N., Kishoyan K. G.</b> Results of long-term monitoring of causative agents of non-gonococcal urogenital infections in the reproductive population of Nizhny Novgorod.....	212

4.4. <b>Egorova S. A., Kaftyreva L. A., Ostankova Yu. V.</b> Genetic diversity of the antimicrobial resistance mechanisms in <i>Salmonella</i> .....	216
4.5. <b>Kaftyreva L. A., Egorova S. A., Kuleshov K. V., Matveeva Z. N.</b> The population heterogeneity and phylogenetic structure of <i>S. typhi</i> registered in the Russian Federation.....	219
4.6. <b>Kozlovskaya L. I., Zolotareva A. D., Chernikov V. S., Osolodkin D. I.</b> Anti-enteroviral activity spectrum of nucleoside derivates.....	222
4.7. <b>Kolesnikova E. A., Brusnigina N. F., Makhova M. A., Alekseeva A. E., Chernevskaya O. M., Barysheva N. N., Orlova K. A.</b> Molecular mechanisms of resistance to fluorhinolones and macrolides of urogenital mycoplasmas.....	224
4.8. <b>Kosyreva A. N., Bakshtanovskaya I. V., Stepanova T. F., Stepanova K. B., Kalgina G. A., Grigorieva S. A., Kurlaeva L. V., Zmatrakova E. A., Ozhireleva I. V.</b> Effect of genetic polymorphisms associated with lipid metabolism disturbance on some laboratory parameters in patients with chronic opisthorchiasis caused by <i>Opisthorchis felineus</i> .....	228
4.9. <b>Makarova M. A., Kaftyreva L. A.</b> The relationship of intra-species diversity and genetic determinants of pathogenicity <i>Escherichia coli</i> .....	230
4.10. <b>Mokhonov V. V., Novikov D. V., Novikov V. V.</b> <i>Escherichia coli</i> strain development for production recombinant proteins.....	233
4.11. <b>Mokhonova E. V., Melent'ev D. A., Lapin V. A., Talaeva M. V., Neumoina N. V., Perfilova K. M.</b> Assessment of pro- and anti-inflammatory activity of CD4 <sup>+</sup> lymphocytes in direct contact with <i>H. pylori</i> .....	237
4.12. <b>Novikov D. V., Selivanova S. G., Krasnogorova N. V., Gorshkova E. N., Pleskova S. N., Novikov V. V.</b> Blood cells transcriptional response to magnetite and quantum dots nanoparticles.....	240
4.13. <b>Sashina T. A., Morozova O. V., Epifanova N. V., Novikova N. A.</b> Genotype G4-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1 reassortant rotavirus A strains in Nizhny Novgorod.....	242
4.14. <b>Tedikov V. M.</b> Small colony variant of <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> can restore wild phenotype in vitro.....	245
4.15. <b>Tochilina A. G., Belova I. V., Soloveva I. V., Zhirnov V. A., Molodtsova S. B.</b> Characteristics of protein spectrums and whole genome of probiotic strains <i>L. fermentum</i> .....	248

## SECTION 5. HUMAN MICROBIOTA IN NORM AND PATHOLOGY. ECOLOGY OF BIOSYSTEMS

5.1. <b>Aleksanina N. V.</b> Microecological features of the intestinal microbiota in young children at risk.....	251
5.2. <b>Belova I. V., Tochilina A. G., Soloveva I. V., Barbolina S. F., Repina N. B., Zhirnov V. A., Molodtsova S. B.</b> The large intestine microbiota species composition of the patients with lungs tuberculosis.....	254
5.3. <b>Valieva R. I., Bayazitova L. T., Tyupkina O. F., Chazova T. A., Isaeva G. Sh.</b> Nasopharyngeal microbiota in children, carriers of <i>S. pneumoniae</i> with respiratory infections.....	257
5.4. <b>Gapon M. N., Tagirov Z. T., Kostoyeva M. G., Loginov I. A.</b> The state of nonspecific resistance in pregnant women with colon dysbiosis as a factor in assessing the risk of spreading infections, associated with the rendering of medical aid.....	260
5.5. <b>Zaslavskaya M. I., Alexandrova N. A., Makhrova T. V.</b> Anti-candida activity of enterococci in vaginal biotope and in vitro experiments.....	263

5.6. <b>Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A.</b> Potential of the probiotic interacting with glycoconjugates proteins in human organism: synergists of drugs, carriers of prebiotics, sources of postbiotics, ingredients of the functional food, instruments of influence on biotope.....	266
5.7. <b>Polishchuk I. S., Aleshukina I. S., Aleshukina A. V., Tverdokhlebova T. I.</b> Sensitivity analysis of microorganisms of the vaginal microbiota to the gel and liquid form of polyvalent bacteriophages.....	269
5.8. <b>Polishchuk I. S., Aleshukina I. S., Aleshukina A. V., Tverdokhlebova T. I.</b> Oropharynx microbiota analysis of HIV-patients.....	271
5.9. <b>Tyurin Yu. A., Isaeva G. Sh., Grigorieva T. V., Rizvanov A. A.</b> Microflora of damaged skin in patients with atopic dermatitis with sensitization to conservative epitopes of enterotoxin A (SEA).....	273
5.10. <b>Khaldeeva E. V., Glushko N. I., Lisovskaya S. A., Khismatulina I. M., Khaidarova G. G.</b> Mycobiota of nail plates in patients with onychomycosis of hands, after long-time applying stable manicure coatings.....	276

## SECTION 6. NEW BIOTECHNOLOGIES FOR THE PRODUCTION OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS FOR LABORATORY DIAGNOSIS, TREATMENT AND PREVENTION OF INFECTIOUS DISEASES

6.1. <b>Antonycheva M. V., Kholmatov K. I., Lobovikova O. A., Belousov A. D., Chalbushev M. M., Volokh O. A.</b> Validation of water purification system in the production of cholera vaccine.....	279
6.2. <b>Gayevskaya N. E., Pogozhova M. P., Kochetkova A. O., Tyurina A. V.</b> Improvement of diagnostic preparation on the basis of bacteriophages for differentiation on biovars of o1 serogroup cholera vibrios.....	284
6.3. <b>Koshkidko A. G., Kurcheva S. A., Zharnikova I. V., Startseva O. L.</b> Verification of the conformity of technical, functional and operational characteristics of experimental series of the reagent kits «Diagnosticum erythrocyte plague immunoglobulin liquid».....	287
6.4. <b>Kurcheva S. A., Ponomarenko D. G., Zharnikova I. V., Kovalev D. A., Koshkidko A. G., Rakitina E. L., Kostyuchenko M. V., Logvinenko O. V., Zhdanova E. V., Geogdzhayan A. S.</b> Development of antigenic brucellosis polysaccharide-protein complex for use in the cell tests in vitro.....	290
6.5. <b>Startseva O. L., Zuenko A. A., Kurcheva S. A., Bogdanova Yu. V., Gridina T. M.</b> Study of stability and shelf-life estimation of a reagent kit «Diagnosticum erythrocyte plague immunoglobulin liquid».....	292
6.6. <b>Shipko E. S., Duvanova O. V., Pisanov R. V.</b> The definition of the fatty acids spectrum in the cells of <i>Vibrio cholerae</i> O139 serogroup in standard and variable cultivation conditions.....	294

## SECTION 7. MODERN VACCINE STRATEGIES, NEW APPROACHES TO VACCINE DEVELOPMENT AND QUALITY ASSESSMENT OF IMMUNOPROPHYLAXIS

7.1. <b>Andreev Yu. Yu., Toptygina A. P.</b> The immune response to measles vaccination in adults.....	297
7.2. <b>Babaykina O. N., Talayev V. Yu., Zaichenko I. E., Talayeva M. V., Voronina E. V., Soloveva I. V., Belova I. V., Tochilina A. G.</b> Quantification of endocytosis of various microorganisms by dendritic cells.....	300
7.3. <b>Bugorkova S. A., Klyueva S. N., Kravtsov A. L., Shchukovskaya T. N.</b> Characterization of the effect of the combined using new generation adjuvants and vaccine strain <i>Yersinia pestis</i> EV NIIEG on the APUD-system cells of the lymphoid organs.....	303

7.4. <b>Generalov S. V., Abramova E. G., Gavrilova Yu. K., Zhulidov I. M., Nikiforov A. K.</b> Current biotechnologies of immunobiological production for the postexposition prevention of rabies – antirabic immunoglobulin.....	305
7.5. <b>Zaichenko I. E., Talayev V. Yu., Talaeva M. V., Babaykina O. N., Voronina E. V., Soloveva I. V., Belova I. V., Tochilina A. G.</b> Effect of microorganisms on the maturation and migration properties of dendritic cells.....	308
7.6. <b>Ilyicheva T. N., Durymanov A. G., Svyatchenko S. V., Bulanovich Yu. A., Ryzhikov A. B.</b> Humoral immunity to seasonal influenza and severe flu cases in 2018–2019.....	311
7.7. <b>Karpenko L. I., Bazhan S. I., Antonets D. V., Dudko S. G., Kaplina O. N., Ilyichev A. A.</b> Development and study of properties of Ebola virus artificial polyepitopic immunogenes.....	313
7.8. <b>Klyueva S. N., Kravtsov A. L., Bugorkova S. A., Kozhevnikov V. A., Goncharova A. Yu.</b> Influence of polyoxidonium on the BALB/c mice blood granulocyte phagocytic activity with respect to plague microbe.....	316
7.9. <b>Kovrizhko M. V., Yagovkin E. A., Tverdokhlebova T. I., Tsivin V. S., Reshetov A. A., Trotsenko A. A., Markova K. G., Kurbatov E. S.</b> Current status and future prospects of developing an immunogenous substance of hemophilic type b microbe.....	318
7.10. <b>Kravtsov A. L., Goncharova A. Yu., Bugorkova S. A.</b> Dependence of the effectiveness of post-vaccine anti-plague protection in mice on the formation of neutrophil extracellular traps.....	320
7.11. <b>Kudryavceva O. M., Goncharova A. Yu., Bugorkova S. A., Klyueva S. N., Kravcov A. L., Kozhevnikov V. A., Shchukovskaya T. N.</b> Identification of additional factors influencing the immunological status of persons vaccinated against plague.....	322
7.12. <b>Makarova V. G., Ustinova O. Yu., Dolgikh O. V.</b> Status of post-vaccination immunity to measles in children living in conditions of anthropogenic pollution.....	325
7.13. <b>Mamaeva T. A., Kalashnikova N. A., Shershneva N. N., Semenova A. V., Naumova M. A.</b> Evaluation of the effectiveness of the use of commercial test systems for the determination of measles IgG by ELISA.....	328
7.14. <b>Toptygina A. P., Grebennikov D. S., Bocharov G. A.</b> The prediction of specific immune responses using baseline immune status parameters to measles-mumps-rubella vaccination.....	331
7.15. <b>Yarkovskaya I. V., Venderevskaya E. I., Shchukina I. A., Zubchonok N. V., Khodyakova I. A., Bondarev V. A., Savelyev S. I.</b> Studying population immunity to the influenza and evaluating the efficacy of immunization in the season 2018–2019.....	334

#### SECTION 8. IMMUNOLOGY OF THE INFECTIOUS PROCESS, DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF THE IMMUNE STATUS IN INFECTIOUS DISEASES

8.1. <b>Voronina E. V., Talayev V. Yu., Talaeva M. V., Zaichenko I. E., Babaykina O. N.</b> Research of maturing T-follicular helper cells.....	337
8.2. <b>Grigoreva S. A., Stepanova T. F., Stepanova K. B., Kalgina G. A., Kurlaeva L. V.</b> Phenotype of lymphocytes in patients infected with <i>Toxoplasma gondii</i> .....	340
8.3. <b>Dubkov N. A., Scheslenok E. P., Semizhon P. A., Tkachev S. V., Shkolina T. V., Vladyko A. S.</b> Production of highly-purified murine IgG, containing anti-human antibodies against fc-fragment of IgG.....	341
8.4. <b>Kalgina G. A., Stepanova K. B., Stepanova T. F., Grigorieva S. A., Kurlaeva L. V.</b> Non-specific resistance in people with chronic opistorchose invasion in the Tyumen region (myeloperoxidase, interleukin-8, phagocytosis).....	344

<b>8.5. Kurlaeva L. V., Stepanova T. F., Stepanova K. B., Kalgina G. A., Grigoreva S. A.</b> Key indicators of cellular and humoral immunity in chronic opisthorchiasis by persons living in the Tyumen region.....	346
<b>8.6. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S.</b> Prospects of the system C4A+C4B of human complement in imaging diagnostics of pathologies.....	348
<b>8.7. Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Kombarova S. Yu., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S.</b> Recognizing and binding glycoconjugates basis selective systems of tuning human health.....	352
<b>8.8. Lukova O. A., Zaslavskaya M. I., Kropotov V. S., Makhrova T. V., Alexandrova N. A.</b> Expression of TLR-2 and TLR-4 on buccal epithelium in parodontitis and candidose of oral cavity.. ..	356
<b>8.9. Sakharnov N. A., Filatova E. N., Knyazev D. I., Presnyakova N. B., Utkin O. V.</b> Expression analysis of apoptotic genes mRNA in blood leukocytes of children with acute HHV-6 infectious mononucleosis.....	359
<b>8.10. Talayev V. Yu., Matveichev A. V., Zaichenko I. E., Talaeyva M. V., Babaykina O. N., Voronina E. V.</b> Polyoxidonium <sup>®</sup> vaccine adjuvant enhances the immune response to low dose of influenza antigens.....	363
<b>8.11. Talayev V. Yu., Talaeyva M. V., Voronina E. V., Zaichenko I. E., Babaykina O. N., Neumoina N. V., Perfilova K. M.</b> Chemokine receptor expression on blood T-helper cells at <i>Helicobacter pylori</i> infection and Crohn's disease.....	366
<b>8.12. Utkin O. V., Filatova E. N., Knyazev D. I., Sakharnov N. A., Presnyakova N. B.</b> A modern approach to searching for new transcript-associated markers of pathology using biochips on the example of diseases caused by EBV and HHV6 oncogenic herpesviruses.....	369

## SECTION 9. ACHIEVEMENTS, PROBLEMS, PROSPECTS OF IMPLEMENTING THE STATE STRATEGY TO COMBAT THE SPREAD OF HIV INFECTION

<b>9.1. Zaytseva N. N., Altova E. E.</b> Analysis of the epidemiological situation of HIV infection in the subjects of the Volga federal district in 2018.....	373
<b>9.2. Kuzovatova E. E.</b> Management of medical care of HIV-positive persons in Volga federal district in 2018.....	375
<b>9.3. Liubimova N. E., Semenov A. V.</b> The CCR5delta32 allele frequency in the population of St. Petersburg.....	378
<b>9.4. Patyashina M. A., Avdonina L. G., Borisova L. O., Mokeeva M. V.</b> On the conduct of information and educational activities for the prevention of HIV infection in labor collectives in the Republic of Tatarstan.....	381
<b>9.5. Piterskiy M. V.</b> Study of a possibility of forecast HIV/AIDS prevalence using artificial neural networks.....	382
<b>9.6. Tverdokhlebova T. I., Matuzkova A. N., Pshenichnaya N. Yu., Suladze A. G., Zhuravlev A. S.</b> Monitoring the efficiency of dispensary observation and treatment of patients with HIV infection in the South of Russia.....	384
<b>9.7. Tverdokhlebova T. I., Suladze A. G., Ryndich A. A., Sukhova A. G., Kolpakov D. S.</b> HIV infection in the South of Russia: molecular-epidemiological and clinical and immunological aspects.....	389
<b>9.8. Tyumenzev A.T., Levahina L. I., Dovgopolyuk E. S., Sergeeva I. V.</b> A review of the epidemiological situation on HIV infection in the Siberian federal district in 2018.....	391

**ПУТЬ ДЛИНОЮ В 100 ЛЕТ.  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. АКАДЕМИКА И.Н. БЛОХИНОЙ»  
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА  
1919–2019 гг.**

**Ефимов Е. И., Григорьева Г. И., Королева В. В.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной является одним из ведущих научных учреждений, ориентированных на получение новых знаний об актуальных и социально значимых инфекциях и совершенствование способов и средств их диагностики, профилактики и лечения, и одним из старейших в стране – в 2019 году институт отмечает 100 лет со дня основания.

За столь долгий период активной работы на благо здоровья населения страны институтом проделана огромная работа по борьбе с инфекциями, такими как бешенство, корь, коклюш, холера, различными кишечными, раневыми и другими заболеваниями, оказана помощь органам практического здравоохранения как путем непосредственного участия сотрудников в ликвидации аварий, вспышек инфекционных заболеваний, так и путем внедрения научно-методических и информационно-методических разработок.

На сегодняшний день в сферу научных интересов института входят вопросы эпидемиологии, диагностики и профилактики актуальных бактериальных и вирусных инфекций (вирусные гепатиты, ВИЧ/СПИД, энтеровирусные инфекции, ОКИ, ИСМП, НУГИ, ПВИ, оппортунистические, нейро-бронхолегочные инфекции, в том числе внебольничные пневмонии). Конструируются новые образцы пробиотических препаратов для корректировки микробиоценозов.

Разработан и внедрен в практику работы органов и организаций Роспотребнадзора ПФО ГИС-проект «Электронный эпидемиологический атлас ПФО», начаты работы по созданию «Электронного эпидемиологического атласа России». Ведутся исследования по изучению эффективности и безопасности вакцинации. Проводятся работы по конструированию экспресс-тест-систем в формате белковых биочипов для выявления информативных показателей для иммунозависимой оценки риска различных заболеваний.

Перешагнув 100-летний рубеж, институт по-прежнему реально востребован как центр научно-методического и научно-практического обеспечения эпидемиологического надзора Нижегородской области, Приволжского федерального округа и России в целом, и успешно выполняет свою благородную и нужную работу, способствуя защите людей от инфекционных болезней.

**ROUTE OF 100 YEARS IN LENGTH.  
FEDERAL BUDGETARY SCIENTIFIC INSTITUTION  
«ACADEMICIAN I.N. BLOKHINA NIZHNY NOVGOROD SCIENTIFIC RESEARCH  
INSTITUTE OF EPIDEMIOLOGY AND MICROBIOLOGY» OF FEDERAL SERVICE  
FOR SURVEILLANCE ON CONSUMER RIGHTS PROTECTION AND HUMAN  
WELLBEING  
1919–2019**

**Efimov E. I., Grigorieva G. I., Koroleva V. V.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology is one of the leading scientific institutions focused on obtaining new knowledge about current and socially significant infections and improving methods and means of diagnosing, preventing and treating them, and one of the oldest in the country – in 2019, the institute celebrates the centenary of its Foundation.



Over such a long period of vigorous activity for the benefit of the country's population's health, the Institute has done a lot of work to combat infections such as rabies, measles, whooping cough, cholera, various intestinal and wound infections etc., provided assistance to practical health authorities both through direct participation of Institute employees in the elimination of accidents, outbreaks of infectious diseases, and through the introduction of scientific-methodical and information-methodical developments.

Today, the Institute's scientific interests include issues of epidemiology, diagnosis and prevention of current bacterial and viral infections (viral hepatitis, HIV/AIDS, enterovirus infections, acute intestinal infections, HAI, NGUI, HPVI, opportunistic, neuro-bronchial infections, including community-acquired pneumonia).

New samples of probiotics for correction of microbiocenosis are being constructed.

The GIS-project «Electronic Epidemiological Atlas of the Volga Federal District» has been developed and introduced into the practice of the bodies and organizations of Rospotrebnadzor, and work has begun on the creation of an «Epidemiological Atlas of Russia».

The effectiveness and safety of vaccination are being studied. Work is underway to design rapid test systems in the format of protein biochips to identify informative indicators for immunodependent risk assessment of various diseases.

Having crossed the 100-year mark, the Institute is still really demanded as a center for scientific-methodical and scientific-practical support of the epidemiological surveillance of the Nizhny Novgorod region, the Volga Federal District and Russia as a whole, and successfully performs its noble and necessary work, contributing to the protection of people from infectious diseases.

Нижегородский (с 1932 по 1992 гг. – Горьковский) НИИ эпидемиологии и микробиологии является одним из старейших научно-исследовательских учреждений этого профиля. Официальным годом его образования считается 1919 год, когда была организована Пастеровская станция [1], которую возглавила один из ведущих рабиологов России Елизавета Ивановна Миролюбова. А в следующем, 1920 году, Нижгубздрав организовал совместно с медицинским факультетом Нижегородского государственного университета Губернскую санитарно-гигиеническую лабораторию, руководство которой было возложено на известного в городе специалиста в области пищевой и коммунальной санитарии Николая Петровича Вейсова. Лаборатория обеспечивала не только исследования в области пищевой, коммунальной санитарии и гигиены, но и учебный процесс медицинского факультета Нижегородского университета. В 1923 году Санитарно-бактериологическая лаборатория была объединена с Губернской санитарно-гигиенической лабораторией с образованием Нижегородской губернской санитарно-бактериологической станции, целью которой было развитие санитарно-химической и эпидемиологической работы в губернии. Директором станции был назначен Виктор Васильевич Покровский, под руководством которого был завершён подготовительный этап образования института (1919–1929 гг.) [1, 2] и положено начало периоду его становления как самостоятельного учреждения науки (1929–1955 гг.) [3].

В октябре 1929 года, согласно постановления Нижкрайисполкома № 3 от 06.09.1929 и приказа по Нижегородскому краевому отделу здравоохранения № 19 от 24.09.1929, путём слияния Пастеровской, Нижегородской губернской санитарно-бактериологической и Малярийной станций, санитарного бюро и кабинета судебной медицины был организован Нижегородский краевой санитарно-бактериологический институт, руководство которым было возложено на В. В. Покровского [4-6]. Небольшой коллектив сотрудников, наряду с профильными исследованиями, производил в то время один препарат – вакцину против бешенства. В 1931 году директором института становится Иван Емельянович Макаров.

В октябре 1932 года учреждение получило наименование «Горьковский краевой институт эпидемиологии и микробиологии», научная тематика которого была подчинена проблемам противоэпидемической борьбы с инфекционными заболеваниями: кишечными,

воздушно-капельными, раневыми инфекциями, вопросам совершенствования методов лабораторной диагностики, профилактики изучаемых заболеваний. Расширилась и производственная составляющая деятельности: институт кроме вакцины против бешенства стал выпускать еще и противокоревую сыворотку [7].

В феврале 1940 года институт возглавила Антонина Николаевна Мешалова, под руководством которой был организован производственный отдел и начат выпуск целого ряда препаратов [8]. Таким образом, к началу Великой Отечественной Войны институт сформировался как самостоятельный научно-производственный комплекс, что позволило оперативно включиться в разработку средств противоэпидемической защиты воюющей армии и населения страны. Институт был самым близким к фронту учреждением, сумевшим полностью взять на себя выпуск продукции эвакуированных предприятий аналогичного профиля. Как следствие, коллектив освоил новую номенклатуру препаратов и выпускал их в достаточных для страны количествах. Всего за этот период было освоено 18 наименований новых препаратов, которыми бесперебойно снабжались Красная Армия и гражданское население. Велась также интенсивная работа по подготовке кадров для собственных нужд, потребностей области и фронта [7].

В 1949 году институт перешёл в ведение МЗ РСФСР и получил наименование «Горьковский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» (ГНИИЭМ). Под руководством директора А. Н. Мешаловой и научного руководителя Ф. Т. Гринбаума институт в тяжелейшее для страны послевоенное время превратился в крупное научно-производственное учреждение, занимавшее одно из ведущих мест среди профильных институтов. Основные направления научно-исследовательской деятельности, сложившиеся в тот период, включали изучение актуальных инфекционных заболеваний, в том числе изменчивости возбудителей и иммунитета человека, научных основ производства и усовершенствования бактериальных препаратов. Продолжалось освоение ряда новых профилактических и диагностических препаратов, среди которых вакцины и бактериофаги против кишечных инфекций, туберкулин, гамма-глобулин, диагностические сыворотки. Было начато освоение передовых для того времени технологий: глубинного культивирования вакцинных штаммов и реакторного метода приготовления бактериофагов [3, 9, 10].

С 1955 по 1999 гг. институтом руководила профессор, действительный член Российской академии медицинских наук Ирина Николаевна Блохина [11] – талантливый администратор и перспективно мыслящий ученый. По ее инициативе в институте внедрялись новые для тех лет научные направления: биохимия, вирусология, иммунология, геносистематика, биотехнология и другие, что сопровождалось созданием соответствующих лабораторий. Так, лаборатория физиологии и биохимии бактерий (1958 г.) была перепрофилирована в лабораторию биохимии и биофизики, на базе которой затем последовательно были сформированы: лаборатория иммунохимии, лаборатория электронной микроскопии и культуры тканей, лаборатория молекулярных структур клетки, лаборатория геносистематики бактерий с изотопной группой, лаборатория генетики. Создавались и новые лаборатории эпидемиологической и лечебно-профилактической направленности. В 50-е годы, когда резко обострилась заболеваемость полиомиелитом, в институте была сформирована первая в Горьковской области вирусологическая лаборатория, сотрудники которой, овладев передовыми методами диагностики, активно включились в расшифровку вспышек полиомиелита, одновременно большое внимание уделялось разработке способов эффективной иммунизации. В последующие годы в ответ на резкое увеличение заболеваемости дифтерией специально расширенный состав лаборатории детских инфекций активно занимался разработкой новых диагностических экспресс-методов, что позволило решить в регионе одну из важнейших эпидемиологических проблем дифференцирования стертых форм дифтерии от ангин и бактерионосительства.

В 50–60-е годы XX века были разработаны и внедрены в практические учреждения города Горького новейшие методы лабораторного исследования активизировавшегося

вирусного гепатита, позволяющие диагностировать бессимптомные формы болезни. Впервые разработаны приёмы предсезонной профилактики вирусного гепатита с применением иммуноглобулина на основе прогнозирования годовой заболеваемости, также впервые внедренного в практику санитарно-эпидемиологической службы региона и страны в целом.

В 1958 году в структуре института создана Клиника инфекционных болезней для госпитализации больных с различными формами гепатитов (до 1983 г.), ныне ведется комплексное исследование и лечение больных хеликобактерной инфекцией в стационаре на 100 коек.

Долгие годы институт весьма продуктивно функционировал как уникальный по составу научно-производственно-клинический комплекс, состоящий из собственно НИИ, предприятия по производству биопрепаратов и клиники инфекционных болезней [3]. Эти три составляющие института способствовали поиску и совершенствованию методических и диагностических приемов по запросам времени, скорейшей их апробации и прямому внедрению научных разработок в практику здравоохранения. Целесообразность и эффективность такого комплекса подтверждалась существенными достижениями института, которые помогли ему войти в число передовых научно-производственных учреждений страны. Яркий пример тому участие коллектива ГНИИЭМ в борьбе с «чумой XX века» – стафилококковой инфекцией, которая в 80-х годах двадцатого века стала главной причиной септических заболеваний в больницах и родильных домах, причем нередко с летальными исходами. В ответ на сложившуюся эпидситуацию в институте была создана специальная лаборатория по изучению стафилококковых инфекций с включением в нее специалистов широкого профиля (микробиологов, иммунологов, эпидемиологов). Одновременно велись комплексные работы по получению и изучению антистафилококковых препаратов (антистафилококкового иммуноглобулина, иммуноглобулина для внутривенного введения, стафилококкового бактериофага). В результате была разработана первая в стране система комплексных мероприятий по эпидемиологическому надзору за стафилококковыми инфекциями, внедрение которой позволило снизить заболеваемость среди новорожденных и рожениц в 3 раза. За эту работу группе сотрудников ГНИИЭМ во главе с И. Н. Блохиной в 1984 г. была присуждена Государственная премия СССР.

Начиная с 1989 года, институт, наряду с другими НИИ эпидемиологического профиля, активно включился в решение вопросов, связанных с противодействием развитию эпидемии ВИЧ-инфекции (СПИД). Созданный на его базе Приволжский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД курирует 14 административных территорий России, осуществляя проведение профилактических мероприятий и модернизацию скрининговых и верификационных диагностических исследований.

Традиционно ведущим направлением института было изучение кишечных инфекций [9, 10, 12, 13]. Наряду с непосредственным участием в решении задач практического здравоохранения в этой области, большое внимание уделялось новейшим научным разработкам, используемым, в частности, в целях классификации и идентификации энтеробактерий. Среди них и создание тест-систем для экспресс-идентификации культур (бумажные индикаторные системы и пластины биохимические дифференцирующие), и разработка методических подходов, направленных на совершенствование научной классификации бактерий, так называемая численная (числовая, нумерическая, компьютерная) таксономия, основанная на использовании большого количества фенотипических признаков, и новейшие направления – геносистематика и молекулярная эпидемиология, включающие изучение структуры хромосомной ДНК и плазмид, белковые спектры и жирнокислотный состав бактерий, рестрикционный анализ, ДНК-зонды и ПЦР-диагностику.

Оригинальные биотехнологические разработки, осуществленные на основе результатов фундаментальных исследований, позволили институту одному из первых в стране внедрить в производство метод глубинного культивирования микроорганизмов, как более

производительный, и получать высококачественные биопрепараты: вакцины, бактериофаги, коли-, лакто- и бифидумбактерин, иммуноглобулины и другие [3].

Особо следует остановиться на развитии геносистематического направления в институте. Созданная в 1973 году лаборатория геносистематики бактерий, единственная в нашей стране, по праву стала «визитной карточкой» института, которая отличала его от остальных учреждений аналогичного профиля. Под руководством И. Н. Блохиной и в тесном содружестве с учениками школы основоположника данного направления академика АН СССР А. Н. Белозерского были получены первые данные о значении нуклеотидного состава ДНК в систематике бактерий, и таким образом, институт имеет прямое отношение к становлению геносистематики как науки. В 1980 году на базе лаборатории геносистематики был организован Всесоюзный таксономический центр, который оказывал безвозмездную научно-практическую помощь десяткам учреждений СССР по вопросам классификации различных групп бактерий и идентификации атипичных форм на основе критериев геномного родства [14].

В периоды сложных эпидемических ситуаций в стране институт оперативно мобилизовался для активного участия в их ликвидации. Так было при предотвращении опасности развития эпидемий в результате крупных взрывов в г. Арзамасе и Уфе, при разрушительном землетрясении в Армении, а также при вспышках эпидемий холеры, гепатита, ВИЧ-инфекции и других инфекционных заболеваний [15].

В 1999 году институт возглавил доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный врач Российской Федерации Евгений Игоревич Ефимов, которому, несмотря на все сложности постперестроечного периода, удалось сохранить основные высококвалифицированные кадры и традиционные научные направления, отдавая приоритеты в область эпидемиологических исследований по слежению за сменой видов патогенных и условно-патогенных возбудителей, совершенствования способов диагностики актуальных инфекций и разработки методов борьбы с ними. Вместе с тем, в своей научной и научно-практической деятельности институт ориентировался на решение актуальных для региона проблем инфекционной заболеваемости, что потребовало значительных усилий по внедрению новых технологий, особенно молекулярно-биологических и молекулярно-генетических, что, в свою очередь, потребовало существенного укрепления и обновления материально-технической базы.

С 2005 года институт вошел в систему Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав человека и благополучия населения.

Сегодня ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора – современное многопрофильное научное учреждение, структура которого состоит из: научных подразделений, включающих: **3** отдела (эпидемиологии; микробиологии и эндозоологии; иммунологии и молекулярной биологии), **9** лабораторий, клинику инфекционных болезней (на 100 коек), Приволжский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД. В институте, на функциональной основе, созданы и работают 4 научно-практических и научно-методических Центра: Российский референс-центр по мониторингу за энтеровирусными инфекциями; Приволжский региональный научно-методический Центр по изучению энтеровирусных инфекций; Региональный научно-методический центр по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV группы патогенности Приволжского федерального округа; Волго-Вятский региональный научно-практический центр по индикации, идентификации и таксономии микроорганизмов и организации противоэпидемической работы в экстремальных условиях.

В институте трудится опытный научный коллектив, в том числе **10** докторов наук, из них **7** имеют ученое звание «профессор», **41** кандидат наук, **1** Заслуженный врач РФ, **1** Заслуженный работник здравоохранения РФ, **4** Почетных работника Роспотребнадзора, **1** Почетный работник науки и техники РФ, **1** Заслуженный работник геодезии и картографии РФ. Важно, что в коллективе много талантливой молодежи [16], доля которой в общем составе сотрудников, выполняющих научные исследования, составляет около 40%. За

последние 6 лет практически полностью обновлена материально-техническая база института, в том числе построен и введен в эксплуатацию в 2013 году новый лабораторный корпус с полным оснащением современным научно-исследовательским оборудованием.

В настоящее время институт, ориентированный на проведение исследований и разработок в области совершенствования систем противэпидемической защиты населения по актуальным для региона инфекциям и обеспечения биобезопасности населения, сохраняет положение одного из ведущих научных учреждений Роспотребнадзора. В сферу его исследований входят вопросы эпидемиологии, диагностики и профилактики актуальных бактериальных и вирусных инфекций (вирусные гепатиты, ВИЧ/СПИД, энтеровирусные инфекции, ОКИ, ИСМП, НУГИ, ПВИ, оппортунистические, нейро-бронхолегочные инфекции, в том числе внебольничные пневмонии). Внедряются новые методические подходы к оценке и прогнозированию распространения антибиотикорезистентных форм бактериальных патогенов, что позволяет по-новому взглянуть на механизмы формирования последних. Получена значимая информация о биоценологических взаимоотношениях бактерий, вегетирующих в различных биотопах человеческого организма. Конструируются новые образцы пробиотических препаратов для коррекции микробиоценозов. Разработан и внедрен в практику работы органов и организаций Роспотребнадзора ПФО ГИС-проект «Электронный эпидемиологический атлас ПФО», начаты работы по созданию «Электронного эпидемиологического атласа России». Следует особенно отметить и пионерские исследования в области вакцинологии: разработан комплекс методов, позволяющий моделировать действие вакцин на функциональное состояние дендритных клеток взрослых и новорожденных, что даст возможность в дальнейшем вести целенаправленный поиск потенциальных компонентов вакцин для более эффективной иммунопрофилактики инфекционных заболеваний. Ведутся исследования по изучению эффективности и безопасности вакцинации, оценке изменения аутоиммунного статуса вакцинированных лиц. Разработаны и реально проводятся работы по конструированию экспресс-тест-систем в формате белковых биочипов, предназначенных для выявления информативных иммунологических показателей, характеризующих состояние иммунной системы человека и ориентированных на иммунозависимую оценку риска развития инфекционных, онкологических и иных заболеваний.

В 2017 году сотрудники института стали лауреатами премии лучшим врачам России «Призвание», в номинации «За создание нового метода диагностики».

Кроме научной деятельности сотрудники института постоянно оказывают помощь практическому здравоохранению, органам и организациям Роспотребнадзора, осуществляют диагностические исследования более 30 нозологических форм инфекций, участвуют в расшифровке вспышечной заболеваемости, привлекаются к разработке и внедрению систем противэпидемических и оздоровительных мероприятий, обучению профильных специалистов в системе постдипломного образования.

Сегодня, перешагнув 100-летний рубеж, институт реально востребован в качестве центра по научно-методическому и научно-практическому обеспечению эпидемиологического надзора Нижегородской области, Приволжского федерального округа и России, и успешно продолжает выполнять свою благородную и нужную работу, способствуя защите людей от инфекционных болезней.

#### Использованные источники:

1. Выписка из протокола № 31 заседания Коллегии Санитарно-Эпидемиологической секции Народного комиссариата здравоохранения от 15 апреля 1919 г., направленная в Нижегородский Медико-санитарный отдел в начале мая 1919 г. за № 3270 «Об организации Пастеровской станции в Н. Новгороде» (ГКУ ГАНУ фонд 102 опись 1 дело 492 лист 40, 39).
2. Обзор деятельности санитарно-бактериологической, пастеровской станций, санитарного бюро и кабинета судебной медицины Губздрава (за период 1924–1928 гг.) (ГКУ «Государственный архив Нижегородской области» Ф. 102 опись 1 дело 2257 листы 5–13).

3. Блохина И.Н. Основные этапы развития Горьковского НИИ эпидемиологии и микробиологии // Итог. конф. «Применение колибактерина для профилактики и лечения кишечных заболеваний и технология его производства». – М., 1967. – С. 13–22.
4. Протокол № 3 заседания Президиума Нижкрайисполкома от 06 сентября 1929 г. «Об учреждении Нижегородского Краевого санитарно-бактериологического института путем слияния Нижегородской Краевой санитарно-бактериологической станции, Пастеровской станции, Малярийной станции, Санбюро и кабинета судебной медицины» (Архивные выписки Государственного архива Нижегородской (Горьковской) области от 18.01.1978 и 19.01.1998).
5. Паспорт института по состоянию на 1 июля 1944 г. на 37 листах (арх. справка ГКУ «Государственный архив Нижегородской области» № 721/01-16 от 15.08.2002, ГУ ГАНО фонд 2235 опись 5 дело 7а лист 4).
6. Книга учета кадров Нижегородского краевого санитарно-бактериологического института 1918-1949 гг. на 319 листах (фонд 2235 опись 3. Ед. хранения № 2).
7. Война. Труд. Победа. Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной в годы Великой Отечественной Войны (1941–1945) / Ефимов Е.И., отв. редактор. – Н. Новгород, 2015. – 225 с.
8. Ефимов Е.И., Житова Е.И., Якимычева Е. А. Антонина Николаевна Мешалова – директор Горьковского института эпидемиологии и микробиологии 1940–1953 гг. (к 100-летию со дня рождения) // II рег. научно-просветительской конф. «Краевая история медицины: люди, события, факты». – Н. Новгород, 2008. – С. 70–73.
9. Думеш М.Г. Краткий обзор работ по кишечным инфекциям Горьковского института эпидемиологии и микробиологии // Сборник трудов Горьковского НИИ эпидемиологии и микробиологии. – Горький, 1961. – В. 7. – С. 3–34.
10. Григорьева Г.И., Леванова Г.Ф., Якимычева Е.А. Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора // Юб. Всеросс. НПК «Научное обеспечение противозидемической защиты населения». – Н. Новгород, 2009. – С. 16–19.
11. Григорьева Г.И., Бруснигина Н.Ф., Иванова Н.И., Черневская О.М. Идеал личности в науке. Взгляд за горизонт // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2016. – № 6. – С. 76–78.
12. Сучкова К.И. Обзор деятельности научной конференции Горьковского краевого института эпидемиологии и микробиологии // Горьковский медицинский журнал. – 1933. – № 3-4. – С. 110–112.
13. Греннаус Г.И. Научно-исследовательский институт эпидемиологии и гигиены // Культурное строительство Горьковской области 1917–1957. – Горький, 1957. – С. 119–122.
14. Дегтева Г.К. Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии на рубеже веков // НК «Естественные факторы защиты в профилактике и лечении экологически обусловленных заболеваний». – Н. Новгород, 2000. – С. 16–29
15. Беляев Е.И. Работа санэпидслужбы в условиях чрезвычайных ситуаций (1988–1989 гг.) // Санитарно-эпидемиол. службе России – 75 лет. Ветераны вспоминают. – Н. Новгород, 1997. – С. 39–41.
16. Ефимов Е.И., Дегтева Г.К. Роль отраслевого НИИ в подготовке квалифицированных медицинских кадров // Всеросс. НПК «Современные проблемы преподавания эпидемиологии». – Н. Новгород, 2001. – С. 75–76.

**РАЗДЕЛ 1. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА  
ЗА АКТУАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ И ПАРАЗИТАРНЫМИ  
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ОЦЕНКА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО РИСКА**

УДК: 616.98:579.841.95:614.4(470.63)

**ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ ЗАРАЖЕНИЯ ЛЮДЕЙ  
ТУЛЯРЕМИЕЙ В ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ СТЕПНОГО ТИПА НА ТЕРРИТОРИИ  
СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ В 2003–2018 ГГ. И ПУТИ ИХ МИНИМИЗАЦИИ**

**Агапитов<sup>1</sup> Д. С., Зайцев<sup>1</sup> А. А., Гнусарева<sup>1</sup> О. А., Остапович<sup>1</sup> В. В., Сазонов<sup>2</sup> А. В.,  
Дубянский<sup>1</sup> В. М.**

<sup>1</sup>*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

<sup>2</sup>*Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека по Ставропольскому краю, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Проведена оценка эпидемиологических рисков заражения людей туляремией в природном очаге степного типа на территории Ставропольского края (СК) за период 2003–2018 гг. для выработки тактики по их минимизации в будущем. Проанализировано 100 местных случаев заболевания туляремией, которые зарегистрированы за вышеуказанный промежуток времени. Установлены охотничье-пищевой (38,0%), бытовой (30,0%) и водный (30,0%) эпидемиологические типы заболевания людей туляремией. Необходимо оптимизировать проведение комплекса профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение аналогичных случаев эпидемиологических типов заболевания людей туляремией.

**ASSESSMENT OF THE EPIDEMIOLOGICAL RISK OF HUMAN TULAREMIA  
INFECTION IN THE NATURAL FOCUS OF STEPPE TYPE IN THE TERRITORY  
OF THE STAVROPOL KRAI IN 2003–2018 AND WAYS TO MINIMIZE THEM**

**Agapitov<sup>1</sup> D. S., Zaitsev<sup>1</sup> A. A., Gnusareva<sup>1</sup> O. A., Ostapovich<sup>1</sup> V. V., Sazonov<sup>2</sup> A. V.,  
Dubyansky<sup>1</sup> V. M.**

<sup>1</sup>*Stavropol Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Stavropol, Russia*

<sup>2</sup>*Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare  
in the Stavropol Region, Stavropol, Russia*

**Abstract.** An assessment of the epidemiological risks of tularemia infecting people in a natural steppe type in the Stavropol Region (SR) for the period 2003–2018 was carried out to develop tactics to minimize them in the future. Analyzed 100 local cases of tularemia, which are registered for the above period of time. Installed hunting and food (38.0%), household (30.0%) and water (30.0%) epidemiological types of human disease tularemia. It is necessary to optimize the implementation of a complex of preventive and anti-epidemic measures aimed at preventing similar cases of epidemiological types of human tularemia.

На территории Ставропольского края (СК) существует обширный и стойкий природный очаг туляремии степного типа с эпидемическими осложнениями различной интенсивности [1, 2]. Для предотвращения местных случаев заболевания людей туляремией в СК необходимы дополнительные исследования.

**Цель** исследования состояла в оценке эпидемиологических рисков заражения людей туляремией в природном очаге степного типа на территории СК в периоды эпидемических проявлений различной интенсивности 2003–2018 гг. для выработки тактики по их минимизации путем проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Эпидемиологические типы заболевания людей туляремией определяли в соответствии со специфическими механизмами заражения и факторами передачи инфекции, при которых произошло заражение [3]. В процессе выполнения работы использованы статистические данные, материалы ежегодных Государственных докладов за период с 2003 г. по 2017 г.: «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Ставропольском крае».

В природном очаге туляремии степного типа на территории СК в период с 2003–2016 гг. заболеваемость в течение 9 лет колебалась в пределах от 1 до 12 случаев, но отсутствовала в 2006, 2008, 2010, 2015 и 2016 гг. За это время было зарегистрировано 50 больных туляремией. Из них в 49 случаях инфицирование произошло на территории края (таблица).

**Таблица.** Эпидемиологические типы заболевания людей туляремией, инфицирование которых произошло возбудителем из административных районов СК в период с 2003 г. по 2018 г.

№ п/п	Эпидемиологический тип заболевания людей туляремией	Административный район СК	Годы регистрации больных				Количество больных от общего числа заболевших в %
			2003-2014	2017 I кв.	2017 III-IV кв.	2018	
1.	Охотничье-пищевой	Шпаковский	2004 (1) 2005 (8) 2007 (1) 2012 (1)	1			<b>38,0</b>
		Петровский	2011 (1) 2014 (1) 2014 (1)				
		Красногвардейский		6	1		
		Ипатовский	2012 (1)	9	2		
		Труновский		2			
		Изобильненский		1			
		Туркменский		1			
2.	Бытовой	Андроповский	2003 (1) 2012 (4)				<b>30,0</b>
		Красногвардейский		1			
		Ипатовский	2005 (1) 2009 (2)	7	1		
		Труновский	2007 (1)	1	1		
		Изобильненский				1	
		Благодарненский				1	
		Минераловодский	2004 (1) 2014 (1)		1		
		Георгиевский	2004 (1)				
		Грачевский	2005 (1)				
		Петровский	2005 (1)				
		Предгорный	2012 (2)				
3.	Водный (через инфицированную воду местных водопроводов)	Петровский	2003 (3)	13			<b>25,0</b>
		Грачевский	2004 (9)				
4.	Водный (через контаминированную возбудителем воду открытых водоемов)	Красногвардейский	2007 (4)				<b>5,0</b>
		Новоалександровский	2007 (1)				
5.	Трансмиссивный	Петровский	2012 (1)				<b>1,0</b>
6.	Не установлен	Петровский			1		<b>1,0</b>

*Примечание:* в скобках указано количество больных туляремией.



По сравнению с этим периодом, только в I кв. 2017 г. количество больных туляремией составило 42 человека, что указало на значительный рост заболеваемости за более короткий промежуток времени. За последующий период 2017 г. зарегистрировано еще 7 случаев. Двое больных было в 2018 г.

Случаи охотничье-пищевого эпидемиологического типа заболевания людей туляремией были связаны с охотой на зайцев в 97,4% случаев в период с 2004 г. по 2017 г. в Изобильненском, Ипатовском, Красногвардейском, Петровском, Труновском, Туркменском и Шпаковском районах.

Бытовой эпидемиологический тип заболевания людей туляремией был связан с заражением через инфицированные субстраты в быту на территориях Андроповского, Георгиевского, Грачевского, Изобильненского, Ипатовского, Красногвардейского, Минераловодского, Петровского, Предгорного районов. Данный эпидемиологический тип встречался реже, чем предыдущий, но был распространен в большем количестве административных районов в период с 2003 г. по 2018 г.

Случаи водного эпидемиологического типа заболевания людей туляремией были обусловлены разными источниками заражения. Наибольшее количество заболевших (25) зарегистрировано в результате использования инфицированной воды местных водопроводов в Петровском (2003, 2017 гг.), Грачевском (2004 г.) районах (вариант А).

В 2007 г. пять случаев, обусловленных водным эпидемиологическим типом заболевания людей туляремией, было связано с купанием в открытых водоемах в период июня–августа в Красногвардейском (4) и Новоалександровском районах (1) (вариант Б).

За весь изучаемый период установлен только один случай трансмиссивного эпидемиологического типа заболевания людей туляремией.

Проведен суммарный анализ различных эпидемиологических типов заболевания людей туляремией в СК за период с 2003 г. по 2018 г. В результате установлено, что преобладал охотничье-пищевой эпидемиологический тип заболевания людей (38,0% случаев). Соответственно, удельный вес водного типа составил 30,0%, бытового – 30,0% и трансмиссивного – 1,0% случаев. В 1,0% случаев не удалось установить источник инфицирования.

Становится понятным, что охотничье-пищевой, бытовой и водный эпидемиологические типы заболевания людей туляремией преобладали в структуре заболевших.

С целью предупреждения заражения населения туляремией в крае ежегодно проводилась профилактическая иммунизация. 2004 г. план иммунизации был выполнен на 90,5% и привито против туляремии 34310 человек.

В результате проведенной организационной работы, количество вакцинированных при плановой иммунизации населения из числа групп риска в 2011 г. достигло в СК 86,3%, 2012 г. – 91,3% и к 2015 г. соответственно 92,8%. В 2016 г. было вакцинировано и ревакцинировано 23908 человек.

На территориях повышенной эпизоотической активности и эпидемической опасности природного очага туляремии, с 2010 г. проводилась вакцинация населения в возрасте от 7 лет, кроме лиц кому она была противопоказана.

В связи с регистрацией 42 больных туляремией в I кв. 2017 г., постановлением Главного государственного санитарного врача по СК от 02.02.2017 г. № 2-п было указано на необходимость проведения в оперативном порядке иммунизации против туляремии по эпидемическим показаниям населения, ранее не охваченных вакцинопрофилактикой.

Следует отметить, что мероприятия по специфической профилактике туляремии привели к снижению случаев этого заболевания в 2018 г. Было зарегистрировано 2 случая, связанных с контактами с грызунами в Изобильненском и Благодарненском районах. Их следует отнести к бытовому эпидемиологическому типу заболевания туляремией, который наиболее трудно предотвратить известными средствами профилактики.

Таким образом, для предупреждения местных случаев охотничье-пищевого эпидемиологического типа заболевания туляремией необходимо постоянное проведение

вакцинации и ревакцинации лицам занимающимся охотой на зайцев и их разделкой. Иммунопрофилактику этой группе риска населения следует осуществлять не только в пределах энзоотичных по туляремии в настоящее время территорий (административных районов), но также на участках, энзоотичных в прошлом, при не предоставлении материалов территориальными управлениями Роспотребнадзора, свидетельствующих об отсутствии циркуляции возбудителя в биоценозе.

Необходим постоянный контроль грызунонепроницаемости местных водопроводов, расположенных на территориях повышенной эпизоотической активности и эпидемической опасности.

Следует оптимизировать эпизоотологический мониторинг за природным очагом туляремии на территории СК для своевременного выявления эпизоотий и проведения мероприятий по предупреждению бытового и других эпидемиологических типов заболевания людей туляремией.

#### Литература:

1. Гнусарева, О.А. Анализ эпидемиологических типов заболевания людей туляремией в природном очаге степного типа на территории Ставропольского края при эпидемических проявлениях различной интенсивности (2003–2017 гг.) / О.А. Гнусарева, А.А., Зайцев, Д.С. Агапитов, А.В. Сазонов, В.В. Остапович, Е.С. Котенев // Материалы всероссийской научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения». Пермь, 2018. С. 16–20.
2. Левченко, Б.И. Роль отдельных видов мелких млекопитающих в поддержании природной очаговости на территории лесостепной части природного очага туляремии Ставропольского края / Б.И. Левченко, Л.В. Дегтярева, А.А. Зайцев, М.П. Григорьев, В.В. Остапович // Пробл. особо опасных инф. – 2014. – В. 3. – С. 30–33.
3. Эпидемиологический надзор за туляремией: методические указания МУ 3.1.2007-05. – М., 2005. – 36 с.

УДК: 616.–056.3:616.995.1

### **ВЛИЯНИЕ ГЕЛЬМИНТОЗОВ И ПРОТОЗООНОЗОВ НА РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ТЕЧЕНИЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

**Агафонова<sup>1,2</sup> Е. В., Исаева<sup>1,2</sup> Г. Ш., Решетникова<sup>1,3</sup> И. Д.**

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора,  
Казань, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,  
Казань, Россия

<sup>3</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

**Аннотация.** Проводился сероиммунологический мониторинг и оценка влияний патогенов на параметры атопического статуса при аллергических заболеваниях. В исследование включались больные с установленным клиническим диагнозом аллергического заболевания (аллергический ринит, аллергический риноконъюнктивит, бронхиальная астма, атопический дерматит). Оценивали распространенность инфицирования *Helicobacter pylori*, гельминтозами (аскарида, анисакида, описторх, токсокар, эхинкок) и протозоозами (лямблии, *Blastocystis hominis*) на протяжении 10-летнего периода наблюдений. Исследование атопического статуса включало уровни общего и аллерген-специфических Ig E. Показано что инфицирование патогенами является существенным экзогенным фактором, который способствует росту распространенности и утяжелению клиники аллергических заболеваний, что определяется явлением неспецифического потенцирования сенсibilизации.

## EFFECTS OF HELMINTHOSIS AND PROTOZOSES ON THE PREVALENCE AND COURSE OF ALLERGIC DISEASES IN MODERN CONDITIONS

Agafonova<sup>1,2</sup> E. V., Isaeva<sup>1,2</sup> G. Sh., Reshetnikova<sup>1,3</sup> I. D.

<sup>1</sup>Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor,  
Kazan, Russia

<sup>2</sup>Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russia

<sup>3</sup>Kazan Federal University, Kazan, Russia

**Abstract.** Seroimmunological monitoring and assessment of the effects of pathogens on the parameters of atopic status in allergic diseases was carried out. The study included patients with an established clinical diagnosis of an allergic disease (allergic rhinitis, allergic rhinoconjunctivitis, bronchial asthma, atopic dermatitis). The prevalence of *Helicobacter pylori* infection, helminthiasis (ascaris, anisacide, opistorch, toxocar, echinococcus) and protozoa diseases (*Giardia*, *Blastocystis hominis*) during the 10-year observation period were assessed. The study of atopic status included levels of general and allergen-specific Ig E. It was shown that infection with pathogens is a significant exogenous factor that contributes to the increase in the prevalence and weighting of the clinic of allergic diseases, which is determined by the phenomenon of non-specific potentiation of sensitization.

**Введение.** Аллергические заболевания (АЗ) с каждым годом привлекают все более пристальное внимание врачей разных специальностей в связи с их широкой распространенностью. Несмотря на значительные успехи в изучении природы аллергии и создании новых противоаллергических фармакологических препаратов, отмечается повсеместный рост и утяжеление течения аллергических болезней. Природа возникновения их многокомплексна и включает как генетические, так и внешние средовые факторы.

Развитие многих атопических заболеваний протекает на фоне патологии желудочно-кишечного тракта ассоциированной с внешнесредовыми факторами среди которых ведущую роль занимает инфекционная нагрузка патогенами, в частности, *Helicobacter pylori*, протозойными инвазиями и гельминтозами. Показано что разнообразные инфекционные агенты (микоплазмы, хламидии, гельминты, лямблии вирусы, бактерии) могут быть причастны к развитию атопии [1]. Участие в генезе АЗ обусловлено повреждением кишечной стенки, токсико-аллергическим воздействием продуктов обмена паразитов на макроорганизм, в результате чего отмечаются усиление проявлений атопии, гиперпродукция IgE и эозинофилия.

**Цель исследования.** Сeroиммунологический мониторинг и оценка влияний патогенов на параметры атопического статуса (АС) при АЗ.

**Материалы и методы.** Контингент обследованных – жители крупного промышленного мегаполиса – г. Казани, проходившие обследование в консультативно-диагностической поликлинике ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора. Проводили сероиммунологический мониторинг распространенности инфицирования *Helicobacter pylori*, гельминтозов и протозоозов у пациентов с АЗ на протяжении 10-летнего периода наблюдений. Прямые копроовоскопические методы диагностики [2] включали влажный мазок из консерванта с Люголем и физиологическим раствором, методы Като, Parasер, комплексное паразитологическое обследование [3, 4]. В исследование включались больные с установленным клиническим диагнозом АЗ (аллергический ринит, аллергический риноконъюнктивит, бронхиальная астма, атопический дерматит) по данным клинко-лабораторного обследования (аллергоанамнез, клинический осмотр, кожное тестирование). Исследование АС включало уровень общего и аллерспецифических Ig E (acIgE, «Алкор-Био», Россия; Immunсар, «Phadia 100»). В группе детей до 3 лет исследовали пищевые acIgE (к коровьему молоку, яичному белку, пшеничной муке, яблоку, сое), в группе 6–17 лет пищевые и ингаляционные acIgE (к клещам домашней пыли – *dermatofagoideus pteronissimus*, *dermatofagoideus farina*, смеси сорных трав, березе, полыни, миксту плесневых грибов,

коровьему молоку, яичному белку, пшеничной муке, яблоку, сое), в группе пациентов старше 17 лет ингаляционные асIgE (*Dermatofagoideus pteronissimus*, *Dermatofagoideus farina*, смеси трав, березе, полыни, миксту плесневых грибов). Инфекционная нагрузка патогенами оценивалась с исследованием уровней Ig G антител к антигену Cag A *H. pylori* («Хелико-Cag A-IgG»), суммарных и Ig M антител к антигенам лямблий («Лямблия-суммарные-ИФА-Бест», «Лямблия-IgM-ИФА-Бест»), суммарных антител к антигенам описторхисов, токсокар, эхиннококков («Гельминты- IgG-Бест», Новосибирск), IgG антител к антигенам аскарид «Аскарида-IgG-Бест» и анизакид («Анизакид-IgG-Бест»). Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы «Statistica v6.0». Использовали корреляционный анализ и методы вариационной статистики с расчетом среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического (m); t-критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенных исследований за период с 2007 по 2018 гг. (n=4850) у детей с АЗ было выявлено 32,1% (17,6–40,2%) серопозитивных сывороток содержащих суммарные и 7,8% содержащих Ig M антитела к антигенам лямблий. При проведении прямой копроовоскопической диагностики у детей с АЗ при использовании различных методов выявлено от 28 (влажный мазок из консерванта) до 47,3% (комплексное копрологическое исследование) положительных результатов на лямблиозную инвазию. Установлено что максимальное синергическое действие на показатели атопического статуса уровень общего Ig E (r=0,67) и асIg E (регистрировались прямые корреляции с уровнем асIg E к молоку r=0,61; α лактальбумином r=0,56; β-лактоглобулином r=0,53; казеином r=0,67; пшеничной мукой 0,49; бананом 0,51; морковь 0,48) антигены лямблий оказывают у детей раннего (1–5 лет) возраста. При использовании оптимальных методов копроовоскопической диагностики («Parasep», комплексной диагностической системы) установлено, что *Blastocystis hominis* является патогенетически значимым патогеном у пациентов с АЗ, поддерживая иммуносупрессию через активацию выработки регуляторных цитокинов. Количество серопозитивных сывороток к антигену Cag A *H. pylori* у детей с АЗ (n=836) составило 18,5%. Влияние инфицирования *H. pylori* на распространенность АЗ, а также уровень общих и сIg E выявлен у детей преимущественно школьного возраста. В группе 6–17 лет регистрировались корреляции между уровнем специфических АТ к патогенам и параметрами атопического статуса – Ig E (r=0,48), асАТ к *dermatofagoideus pteronissimus* (r=0,48), *Dermatofagoideus farina* (r=0,48), микст луговых трав (r=0,48), береза (r=0,48), микст плесневых грибов (r=0,48). Среди пациентов с АЗ (n=1689) серопозитивные сыворотки к антигенам описторхисов выявлены в 9,8%, токсокар в 25,9%, аскарид в 10,6%, анизакиса в 1,5%. Диагностические титры серопозитивных сывороток к антигенам токсокар (> 1:800) имели место у 18,9% пациентов с АЗ. Показано влияние инфицированности токсокарой на уровень Ig E у пациентов с атопической бронхиальной астмой в группе от 6 до 17 лет (r=0,44), уровни асIgE к *Dermatofagoideus pteronissimus* (r=0,58), *Dermatofagoideus farina* (r=0,65), смеси сорных трав (r=0,61), березе (r=0,77), полыни (r=0,49), миксту плесневых грибов (r=0,61).

**Заключение.** Инфицирование рядом патогенов является одним из существенных экзогенных факторов, способствующих росту распространенности и утяжелению клиники АЗ. Существенным является явление неспецифического потенцирования сенсibilизации патогенами, что отмечается как для группы протозоозов, так и для некоторых гельминтозов. Полученные данные подтверждают существующее мнение о молекулярном сходстве некоторых аллергенов и паразитарных антигенов, что и определяет формирование неспецифического потенцирования сенсibilизации.

#### Литература:

1. Cruz A. A., Cooper P.J., Figueiredo CA, Alcantara-Neves N.M., Rodrigues L.C., Barreto M.L. (2017) Global issues in allergy and immunology: Parasitic infections and allergy // *Allergy Clin Immunol.* 140 (5):1217–1228 [in Russian].
2. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов: Методические указания. М.: ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора. 2014 г. 154 с.

3. Патент РФ № 2368324 04.07.2008 г. Способ диагностики аскаридоза у человека Патент России №2368324. 2008. Бюл. № 33. Долбин Д. А., Фассахов Р. С., Тюрин Ю. А.
4. Патент РФ № 2371719 19.07.2009 г. Способ диагностики лямблиозной инвазии Патент России №. 2371719 2009. Бюл. № 13. Долбин Д. А., Фассахов Р. С., Тюрин Ю. А.

УДК: 614.446.3

## ДИАГНОСТИКА ПАРВОВИРУСНОЙ В19 ИНФЕКЦИИ У ЛИЦ С ЭКЗАНТЕМНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Антипова А. Ю., Лаврентьева И. Н.

*ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург, Россия*

**Аннотация.** В настоящее время широко изучается роль парвовируса В19 человека в развитии различных патологических состояний у человека. Парвовирусная инфекция (ПВИ) является социально значимой благодаря широкой группе риска (гематологические больные, доноры, женщины, планирующие беременность и др.). Целью работы было ретроспективно изучить частоту встречаемости инфекционной эритемы у лиц с экзантемными заболеваниями. Антитела класса IgM к парвовирусу В19 (показатель острой инфекции) были обнаружены в 166 из 958 (17,3%) сывороток крови, полученных от больных с экзантемой и лихорадкой. Среди первичных клинических диагнозов, указанных в направлениях к 166 образцам, преобладали «краснуха» (25%), «ОРВИ» (23%), «вирусная экзантема» (14%) и «аллергодерматит» (10%). Клинический диагноз «инфекционная эритема» был установлен только в 4% случаев (7 положительных образцов). Парвовирусная инфекция диагностировалась у больных с подозрением на краснуху (27%), токсикодермию (19%), ОРВИ (16%). Таким образом, показана ключевая роль лабораторных методов диагностики ПВИ.

## DIAGNOSIS OF PARVOVIRUS B19 INFECTION IN PATIENTS WITH ERYTHEMA DISEASES

Antipova A. Yu., Lavrentieva I. N.

*Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a. Pasteur  
of Rosпотребнадзор, Saint-Petersburg, Russia*

**Abstract.** Currently, the role of human parvovirus B19 in the development of various pathological conditions in humans is widely studied. Parvovirus infection (PVI) is socially significant due to a wide risk group (hematological patients, donors, women planning pregnancy, etc.). The aim of this work was to retrospectively study the incidence of infectious erythema in persons with exanthema diseases. Antibodies of IgM class to parvovirus B19 (acute infection rate) were found in 166 of 958 (17.3%) blood sera obtained from patients with exanthema and fever. The most common primary clinical diagnoses among the diagnoses specified in the directions to 166 samples, was a «rubella» (25%) and «SARS» (23%), «viral exanthema» (14%) and «allergodermatit» (10%). The clinical diagnosis of «infectious erythema» was established only in 4% of cases (7 positive samples). Parvovirus infection was diagnosed in patients with suspected rubella (27%), toxicoderma (19%), SARS (16%). Thus, the key role of laboratory methods of diagnostics of PVI is shown.

**Введение.** Парвовирусная инфекция (ПВИ) широко распространена в РФ [2, 5]. Инфекция, обусловленная парвовирусом человека В19 (*Primate erythroparvovirus 1*, PVB19), может иметь различные клинические проявления. Это связано со способностью вируса реплицироваться в клетках-предшественниках эритроцитов, клетках эндотелия сосудов, клетках плаценты и некоторых клетках плода. ПВИ передается воздушно-капельным путем, от матери к плоду, и с кровью при гемотрансфузиях, гемодиализе, трансплантации, что определяет её социальную значимость [3, 7].

Наиболее известное заболевание, связанное с PVB19, это инфекционная эритема. Симптомами являются макуло-папулезная сыпь, катаральные явления, изменение формулы крови [3, 4]. Известно, что ПВИ имеет клинико-эпидемиологические характеристики, сходные с краснухой. Также инфекция может протекать в бессимптомной форме, без заметных клинических проявлений. Похожие симптомы характерны для целого ряда заболеваний.

В связи с описанными трудностями клинической диагностики, особое значение могут иметь лабораторные методы. Лабораторно ПВИ диагностируют при наличии IgM-антител, которые образуются через 10–12 дней и сохраняются до 4 месяцев после заражения, и являются показателем острой или недавно перенесенной инфекции [6].

Регистрация ПВИ в РФ не проводится, и истинный уровень заболеваемости не известен. Поэтому **целью** данной работы было ретроспективно изучить частоту встречаемости ПВИ у лиц с экзантемными заболеваниями.

**Материалы и методы.** Ретроспективное исследование было выполнено на базе ФБУН НИИЭМ имени Пастера. Было исследовано 958 сывороток крови, поступивших в Санкт-Петербургский Региональный Центр по надзору за корью и краснухой в период с 2015 по 2017 гг. от лиц с макуло-папулезной сыпью и температурой 38,5°C и выше [1]. Все сыворотки были отрицательны в отношении антител IgM-корь и IgM-краснуха. Сыворотки крови были взяты с информированного согласия пациентов. Использовали ИФА тест-систему «Anti-Parvovirus B19 ELISA (IgM)» (Euroimmun, Германия) для выявления IgM-антител к парвовирусу B19, согласно инструкции.

**Результаты и обсуждение.** Антитела класса IgM к PVB19 были обнаружены в 166 из 958 (17,3%) сывороток крови от пациентов с макуло-папулезной сыпью и лихорадкой.

Был выполнен анализ диагнозов, указанных в направлениях, которые оформляются для каждого образца сывороток крови, согласно руководству [3].

Проведенный анализ показал, что правильный первичный диагноз был установлен только в 7 случаях (4%). Наиболее частыми диагнозами у больных с инфекционной эритемой были «краснуха» (25%), «ОРВИ» (23%), «вирусная экзантема» (14%) и «аллергодерматит» (10%) (таблица).

**Таблица.** Частота выявления IgM-антител к парвовирусу B19 в сыворотках крови, полученных от больных с сыпью и лихорадкой, в зависимости от первичного клинического диагноза, указанного в направлении.

Первичный клинический диагноз	Количество образцов	Из них IgM+ PVB19	
		абс. число	%
Аллергодерматит	180	16	8,9
Бактериальная инфекция	29	4	13,8
Вирусная экзантема	111	23	20,7
Герпетическая инфекция	47	9	19,2
Корь	12	1	8,3
Краснуха	154	41	26,6
ОРВИ	245	39	15,9
Парвовирусная инфекция	11	7	63,6
токсикодермия	68	13	19,1
экзантема н/э	101	13	12,9
Всего	958	166	17,3

Парвовирусная инфекция стала причиной ошибок диагностики ряда заболеваний. Например, IgM-антитела к PVB19 определялись в сыворотках крови больных с подозрением на краснуху в 26,6% случаев. Часто врачи затруднялись определить этиологию сыпи, но указывали на вирусную природу заболевания. ПВИ была лабораторно подтверждена у пациентов с диагнозом «вирусная экзантема» (20,7% случаев), «ОРВИ» (15,9%), «герпесвирусная инфекция» (19%). Отмечены случаи ПВИ у больных с подозрением на бактериальную инфекцию, в том числе скарлатину. Также появление сыпи нередко трактовалось как «токсикодермия» (19%) или «аллергодерматит». Эти заболевания не заразны, и не предполагают проведение противоэпидемических мероприятий, что может привести к распространению парвовирусной инфекции, в том числе среди лиц из групп риска (беременные женщины, гематологические больные, онкобольные, и др.). Клинический диагноз «парвовирусная инфекция» был указан только для 11 из 958 больных и был лабораторно подтвержден в 64% случаев. Следует отметить, что при анализе диагнозов, указанных в направлениях к сывороткам крови, и группировании их по категориям, парвовирусная инфекция была обнаружена во всех категориях: вирусные инфекции (21% случаев), бактериальные инфекции (13,8%), токсико-аллергические заболевания (11,7%). Данные подтверждают широкое распространение ПВИ.

**Заключение.** Парвовирусная инфекция широко распространена, и была диагностирована у 166 больных с экзантемой (17,3% от числа обследованных) на основании обнаружения IgM-антител к PVB19 в сыворотках крови. Диагностика инфекционной эритемы на основании клинических симптомов затруднена. Показана необходимость применения лабораторных методов для дифференциальной диагностики заболеваний, сопровождающихся сыпью.

#### Литература:

1. ВОЗ. Руководство по лабораторной диагностике кори и краснухи. Вторая редакция. 115 с. [https://www.who.int/ihr/elibrary/manual\\_diagn\\_lab\\_mea\\_rub\\_ru.pdf](https://www.who.int/ihr/elibrary/manual_diagn_lab_mea_rub_ru.pdf)
2. Лаврентьева И.Н., и др. Выявление случаев парвовирусной инфекции в системе эпидемиологического надзора за экзантемными заболеваниями. Инфекция и иммунитет. 2016; 6 (3): 219–224.
3. Никишов О.Н., и др. Парвовирусная инфекция – современная проблема в эпидемиологии и клинической медицине. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2015;14(4):29–35.
4. Никишов О.Н., и др. Клинико-лабораторная характеристика парвовирусной инфекции В19. Лечение и профилактика. – 2017. Т. 7, № 4 (24), С. 20–27.
5. Оценка распространения парвовирусной инфекции в Москве. Информационное письмо Комитета здравоохранения г. Москвы. М., 2004. – 11 с.
6. Anderson M.J., [et al.] Experimental parvovirus infection in humans. J. Infect. Dis. 1985; 152: 257–265.
7. Juhl D., [et al.] Parvovirus infections and blood donors. Transfus. Med. Hemother. 2014; 41: 52–59.

УДК: [595.775:599.322.2]:614.4:616.98:578.833.31(470.62/.67)

## **ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЭКОЛОГИЮ БЛОХ МАЛОГО И ГОРНОГО СУСЛИКОВ, И УЧАСТИЕ ИХ В ЭПИЗООТИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ СЕВЕРНОГО КAVKAZA**

**Белявцева Л. И., Ермолова Н. В., Давыдова Н. А.**

*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Различия экологии блох, паразитирующих в поселениях сусликов на Северном Кавказе, обусловлены рядом факторов. Среди них: климатические условия отдельных частей ареалов хозяев, видовые возможности паразитов к существованию в этих условиях; фенология сусликов. Эти факторы в комплексе с видовыми способностями паразитов к заражению, хранению и трансмиссии возбудителя чумы определяют участие блох в эпизоотическом процессе в природных очагах, расположенных на этой территории.

**FACTORS DETERMINING THE ECOLOGY OF FLEAS OF SMALL AND MOUNTAIN  
SOUSLIKS, AND THEIR PARTICIPATION IN THE EPIZOOTIC PROCESS  
IN NATURAL PLAGUE FOCI OF NORTH CAUCASUS**

**Belyavtseva L. I., Ermolova N. V., Davydova N. A.**

*Stavropol Antiplague Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia*

**Abstract.** Differences in the ecology of fleas, parasites in the settlements of sousliks in the North Caucasus, due to a number of factors. Among them: climatic conditions of individual parts of the host areas; species possibilities of parasites to exist in these conditions; phenology of ground squirrels. These factors, combined with the species abilities of parasites to infect, store and transmit the plague pathogen determine the participation of fleas in the epizootic process in natural foci located in this area.

На энзоотической по чуме территории Северного Кавказа в поселениях малого и горного сусликов, расположенных на территориях нескольких природно-климатических поясов (от степей и полупустынь Восточного Предкавказья до альпийских лугов Приэльбрусья), паразитируют блохи семи видов [1, 2]. Распространение их по ареалам хозяев неравномерно, численность паразитов и ее сезонная динамика, экология и фенология блох различны. Определяются эти различия рядом факторов: абиотических и биотических.

Среди абиотических факторов наиболее важными являются природно-климатические, влияющие как непосредственно на популяции блох, так и через эволюционно выработанную зависимость образа жизни паразитов от образа жизни их хозяев-сусликов. Климатические условия определяют ареалы видов, лимитируя территориями, пригодными для существования каждого из них, а также численность и особенности фенологии паразитов.

Основными внешними биотическими факторами, определяющими существование блох, являются видовые и популяционные различия образа жизни их хозяев сусликов. Они в комплексе с природно-климатическими условиями отдельных частей ареалов грызунов обуславливают популяционные различия фенологии паразитов.

К основным внутренним биотическим факторам, определяющим возможность существования блох на участках ареалов хозяев с разными климатическими условиями, относятся видовые особенности: питания, размножения, преимагинального развития паразитов, продолжительности жизни, приуроченности имаго к микробиотопу, специфичности паразито-хозяйинных отношений.

Все перечисленные выше факторы определяют различия годовых циклов блох, паразитирующих на сусликах в Предкавказье и в Приэльбрусье. Эти различия в комплексе с видовыми способностями паразитов к заражению, хранению и трансмиссии возбудителя чумы определяют возможность и сроки участия блох (как переносчиков возбудителя чумы) в эпизоотическом процессе в природных очагах, расположенных на этой территории.

В Предкавказье в поселениях малого суслика (кроме территорий, климатические условия которых неприемлемы для существования отдельных видов паразитов) паразитируют блохи пяти видов: *Citellophilus tesquorum ciscaucasicus* (Ioff, 1936), *Neopsylla setosa setosa* (Wagn., 1898), *Frontopsylla (Scalonnola) semura* Wagn. et Ioff, 1926, *Oropsylla (Oropsylla) idahoensis ilovaiskii* (Wagn. et Ioff, 1926), *Ctenophthalmus (Euctenophthalmus) orientalis* (Wagn., 1898). В поселениях горного суслика в Приэльбрусье отмечены блохи всех семи видов. Блохи *C. t. elbrusensis* (Goncharov, 2011), *Ctenophthalmus (Medioctenophthalmus) golovi golovi* Ioff et Tifl., 1930 и *F. semura* обитают по всему ареалу хозяина; *O. i. ilovaiskii* – кроме более засушливых участков ареала суслика в долинах рек Чегем и Черек; ареалы *N. setosa* и *C. orientalis* ограничены восточной частью ареала хозяина, где они обитают в горной степи и субальпийском поясе; блохи реликтового вида – *Rhadinopsylla (Ralipsylla) li* Arg., 1941 встречаются только в альпийском поясе Приэльбрусья.



Критериям, предъявляемым к основным переносчикам возбудителя чумы, способным обеспечить постоянную циркуляцию возбудителя в очаге [3], в Восточном Предкавказье соответствуют два вида блох – *N. s. setosa* и *C. t. ciscaucasicus*, в Приэльбрусье – один, *C. t. elbrusensis*. Следует отметить, что у блох *N. s. setosa* и *C. t. ciscaucasicus* в Восточном Предкавказье имеются периоды депрессии численности имаго, однако вследствие видовых особенностей экологии и фенологии этих видов они имеют возможность, «подменять» друг друга в эпизоотическом процессе в периоды, когда численность имаго одного из них находится в депрессии.

Для непрерывного годового цикла блох *C. tesquorum* (учитывая продолжительность развития их преимагинальных фаз и срок жизни имаго) необходимы две сменяющие друг друга генерации. В Предкавказье у *C. t. ciscaucasicus* более массовая 1-ая генерация, преимагинальное развитие которой проходит при более благоприятных гидротермических условиях. Недостаток влаги в степях и полупустынях Предкавказья летом, в период развития преимагинальных фаз 2-ой генерации, отражается на их выживаемости.

Начало выхода из коконов молодых имаго, 1-ой генерации у *C. t. ciscaucasicus* и *C. t. elbrusensis* совпадает по времени с расселением молодых зверьков. Повышение численности паразитов; широкий разнос их по территории расселяющимися зверьками; повышение контактов грызунов с зараженными блохами, сохранившимися в норах, ставшими необитаемыми после гибели от чумы хозяев; повышение паразитарных контактов, как среди сусликов, так и между сусликами и грызунами других видов способствует развитию эпизоотического процесса.

Завершается преимагинальное развитие большинства особей 2-ой генерации *C. t. ciscaucasicus* в сентябре–октябре. В Предкавказье практически все они зимуют в коконах. Вследствие этого перенос возбудителя чумы через зимний межэпизоотический сезон осуществляется здесь совместно блохами двух видов: *C. t. ciscaucasicus* (1-ой генерации) и *N. setosa*. Заражение переносчиков чумы происходит в период эпизоотий в поселениях их хозяев – малых сусликов.

В Приэльбрусье наиболее массовая 2-я генерация, особенно в высокогорьях субальпийского и альпийского высотных поясов, где высокая численность имаго *C. t. elbrusensis* 2-ой генерации обусловлена оптимальным для метаморфоза этих паразитов сочетанием температуры и влажности, наблюдаемым во второй половине лета, в период их преимагинального развития.

На территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы основной переносчик – *C. t. elbrusensis*, а *N. setosa* – дополнительный, в местах его обитания в восточной части очага. Осуществление переноса возбудителя чумы через зимний межэпизоотический сезон только блохами *C. t. ciscaucasicus* возможен благодаря тому, что значительная доля имаго 2-ой, массовой генерации выходит из коконов в сентябре. При этом часть молодых блох успевает приступить к паразитированию на еще активных в это время зверьках (в отличие от малых сусликов, которым характерна летне-осенняя спячка). В случае протекания в это время эпизоотий чумы в поселениях горных сусликов, многочисленные молодые блохи 2-ой генерации (и небольшое количество особей 1-ой генерации, доживших до этого времени) имеют возможность заразиться, питаясь на больных грызунах.

Таким образом, видовые способности блох к заражению, хранению и трансмиссии возбудителя чумы в комплексе с климатическими условиями отдельных частей ареалов их хозяев, видовыми возможностями паразитов к существованию в этих условиях и фенологией сусликов определяют возможности участия блох в качестве переносчиков возбудителя в эпизоотическом процессе в природных очагах, расположенных на Северном Кавказе.

#### Литература:

1. Природная очаговость чумы на Кавказе / А.И. Дятлов [и др.]. – Ставрополь, 2001. – 345 с.
2. Белявцева Л.И. Распространение блох сусликов в природных очагах чумы Северо-Кавказского Федерального Округа / Л.И. Белявцева, Н.В. Цапко, Г.А. Мозлоев, Д.М. Бамматов // Материалы научно-практической конференции, посвящённой 90-летию

образования государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации «Здоровье населения и среда обитания» «16-я Ежегодная Неделя медицины Ставрополья». – Ставрополь, 2012. – С. 176–180.

3. Природные очаги Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири / Г.Г. Онищенко [и др.]. – М.: Медицина, 2004. – 192 с.

УДК: 571.27

## **СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКЛЮШНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Борисова<sup>1,2</sup> О. Ю., Пименова<sup>1</sup> А. С., Гадуа<sup>1</sup> Н. Т., Борисова<sup>1</sup> А. Б., Петрова<sup>1</sup> М. С.,  
Кафарская<sup>2</sup> Л. И., Афанасьев<sup>1</sup> С. С.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия*

**Аннотация.** Проанализированы аналитические материалы, присланные из всех субъектов Российской Федерации в Референс-центр по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора для подготовки Проблемной комиссии Ученого Совета Роспотребнадзора с целью оценить состояние лабораторной диагностики коклюшной инфекции в России за последние пять лет.

## **CONDITION OF LABORATORY DIAGNOSIS OF THE PERTUSSIS INFECTION IN THE RUSSIAN FEDERATION**

**Borisova<sup>1,2</sup> O. Yu., Pimenova<sup>1</sup> A. S., Gadua<sup>1</sup> N. T., Borisova<sup>1</sup> A. B., Petrova<sup>1</sup> M. S.,  
Kafarskaya<sup>2</sup> L. I., Afanasiev<sup>1</sup> S. S.**

<sup>1</sup>*G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia*

**Abstract.** The analytical materials sent from all territorial subjects of the Russian Federation to the Reference center on monitoring of measles, a rubella, epidemic parotitis, whooping cough and diphtheria of G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology for preparation of the Problem commission of the Rospotrebnadzor with the purpose to estimate a condition of laboratory diagnosis of a pertussis infection in Russia for the last five years are analysed.

**Введение.** Массовая специфическая вакцинопрофилактика коклюша в Российской Федерации привела к значительному улучшению эпидемиологической обстановки и показала ее социально-экономическую значимость для поддержания санитарно-эпидемиологического благополучия по этой инфекции в нашей стране [6, 7]. Благодаря достижению в 2003 году высокого охвата (95%) вакцинацией и ревакцинацией АКДС-вакциной детей и последующему его поддержанию, заболеваемость коклюшем в России в течение последних пяти лет по данным официальной статистики стабилизировалась (показатель заболеваемости составил 3.27, 4.42, 5.63, 3.70 и 7.10 на 100 тыс. населения в 2014, 2015, 2016, 2017 и 2018 гг., соответственно). При этом восприимчивость к данной инфекции сохраняется высокой у детей до 1 года, не привитых, а также утративших иммунитет с возрастом [1, 3, 8, 9]. Также ежегодно регистрируются локальные вспышки с формированием очагов разной интенсивности в семьях и организованных детских коллективах [2, 4]. Следует отметить тот факт, что источником инфекции, как правило, являются подростки или взрослые, у которых коклюш протекает в легкой или стертой форме

[5]. Согласно действующим санитарно-эпидемиологическим правилам СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша» для лабораторной диагностики коклюша используются три метода – бактериологический, молекулярно-генетический и серологический, применение которых определяется сроком развития заболевания. Так, бактериологический метод используется на 2–3 неделе заболевания в период спазматического кашля, молекулярно-генетический – с 1 по 4 неделю заболевания и серологический – ретроспективно, начиная с 3 недели болезни. В связи с трудностью клинического распознавания коклюша на этапе оказания амбулаторно-поликлинической помощи населению, проблема лабораторной диагностики приобрела особую значимость в современных условиях. В последние годы в структуре заболеваемости увеличивается доля легких и стертых форм клинического течения среди детей старшей возрастной группы и взрослых, а также форм коклюша, смешанных с вирусно-бактериальными респираторными инфекциями, что значительно затрудняет диагностику, особенно на ранних стадиях развития болезни [1, 8, 9].

**Цель исследования** – оценить состояние лабораторной диагностики коклюшной инфекции в Российской Федерации за последние пять лет.

**Материалы и методы.** Проанализированы аналитические материалы, присланные из всех субъектов Российской Федерации в Референс-центр по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора для подготовки Проблемной комиссии Ученого Совета Роспотребнадзора «Профилактика инфекций, управляемых средствами вакцинопрофилактики».

**Результаты и обсуждение.** С 2013 по 2017 год на территории Российской Федерации проведено 263473 исследований на коклюш с сохранением стабильности по количеству исследований в течение этого периода. В структуре проведенных исследований на коклюшную инфекцию преобладающими являются бактериологические исследования. Однако отмечается тенденция снижения в 1,3 раза количества проведенных бактериологических исследований и рост в 1,85 раз количества ПЦР-исследований. Всего проведено 200733 бактериологических исследований и обследовано 127730 человек. Вместе с тем, в лечебно-профилактических организациях количество проведенных бактериологических исследований сохраняется стабильным, однако в учреждениях Роспотребнадзора в 1,85 раз снизилось их количество. Отмечается неравномерность по проведению бактериологических исследований по федеральным округам. Так, большинство (59 %) бактериологических исследований проводилось в Центральном и Сибирском федеральных округах, 11–12% – в Приволжском и Северо-Западном федеральных округах, 5–6% – в Южном, Уральском и Дальневосточном федеральных округах и всего 3% исследований проведено в Северо-Кавказском федеральном округе. Отмечается неравномерное проведение бактериологических исследований в федеральных округах России. Так, большинство (90,4%) бактериологических исследований в ЦФО проведено в четырех субъектах – Воронежская, Московская, Липецкая области и г. Москва; в СФО – 70,9% бактериологических исследований проведено в Новосибирской области, в СЗФО – 92,6% – в г. Санкт-Петербурге, в ПФО – 54,7% исследований в республиках Татарстан и Башкортостан, в ЮФО – 79,5% исследований в Ростовской, Астраханской областях и Краснодарском крае, в ДВФО – 89,7% исследований в Приморском крае и Якутии, в УФО – 63% в ХМАО и Свердловской области, в СКФО – 57,4% исследований в Дагестане и Кабардино-Балкарии. В лечебно-профилактических организациях сохраняется стабильность по количеству проведенных бактериологических исследований с диагностической целью, однако в учреждениях Роспотребнадзора отмечается тенденция снижения количества бактериологических исследований с диагностической целью и по эпидпоказаниям в 1,9 и 1,7 раз соответственно. В 5 субъектах Российской Федерации бактериологические исследования не проводились. Из территорий, где проводились бактериологические исследования, в 44% субъектах культуры бордетелл не выделялись. Только на 6 территориях были выделены

бордетеллы всех трех видов (г. Москва, Московская, Вологодская, Магаданская области, Пермский и Приморский края), на 26% территориях выделен один вид бордетелл, на 22,5% – два вида бордетелл. Из выделенных бактериальных культур преобладали штаммы *B. pertussis*. Всего за пятилетний период выделено 2291 штаммов *B. pertussis*. Однако культуры были выделены неравномерно в течение анализируемого периода. Так, ежегодно культуры *B. pertussis* выделяли только в 10 субъектах Российской Федерации – Калужская, Московская, Тульская, Астраханская, Новосибирская области, г. Москва, г. Санкт-Петербург, Пермский край, республика Коми и Ханты-Мансийский автономный округ; в течение четырех из пяти лет – в пяти субъектах – Владимирская, Челябинская, Кемеровская области, Хабаровский край, республика Татарстан. Всего за пятилетний период на территории России проведено 62740 ПЦР-исследований. Причем в 2 раза отмечается рост числа ПЦР-исследований, которые проведены в лечебно-профилактических организациях, и в 1,3 раза – в учреждениях Роспотребнадзора. Отмечается тенденция роста числа ПЦР-исследований, проведенных как с диагностической целью, так и по эпидпоказаниям. В большинстве случаев в клинических образцах, полученных с диагностической целью, и во всех образцах по эпидпоказаниям, была идентифицирована ДНК *B. pertussis*. Показана высокая эффективность применения ПЦР-диагностики при обследовании по эпидпоказаниям. Так, в очагах с установленным источником инфекции ПЦР-диагностика позволяет идентифицировать дополнительно 17,9% ДНК-положительных образцов, в очагах без установленного источника инфекции – 5,2% ДНК-положительных образцов, т. е. расшифровать причину кашля у длительно кашляющих детей, и в семейных очагах – 40% ДНК-положительных образцов.

**Заключение.** Для сохранения эпидемиологического благополучия по коклюшной инфекции на территории РФ необходимо обеспечить поддержание высокого уровня лабораторной диагностики в соответствии с действующими НМД, повышение квалификации специалистов, проводящих исследования, на тематических усовершенствованиях с практическим курсом 1 раз в три года, а также прохождение внешнего контроля качества с идентификацией контрольных задач.

#### Литература:

1. Бабаченко И.В., Харит С.М., Курова Н.Н., Ценева Г.Я. Коклюш у детей. / М.: Комментарий. – 2014.
2. Гаврилова О.А., Астапов А.А., Шмелева Н.Д., Колодкина В.Л., Мартынов В.С. Вспышка коклюша среди привитых детей в организованном коллективе. / Здоровоохранение. – 2017. – № 2. – С. 75–80.
3. Гасилина Е.С., Китайчик С.М., Горелова И.А., Кабанова Н.П., Федосеева О.А., Богоявленская И.Ю. и др. Коклюш у детей – клинико-эпидемическая характеристика в Самарской области. / Журнал инфектологии. – 2018. – № 10 (3). – С. 54–60.
4. Егорова Т.В., Кулик М.С., Шангина И.А., Рожкова А.В., Кассихина С.А. Коклюш: старая проблема в современных условиях. / Вятский Медицинский Вестник. – 2015. – № 2 (46). – С. 44–47.
5. Медкова А.Ю., Аляпкина Ю.С., Синяшина Л.Н., Амелина И.П., Алексеев Я.И., Каратаев И.Г. и др. Распространенность стертых форм коклюша и анализ фазовых состояний бактерий *Bordetella pertussis*. / Детские инфекции. – 2010. – № 9 (4). – С. 19–22.
6. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическое благополучие населения России. / Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 1. – С. 42–51.
7. Паньков А.С., Денисюк Н.Б., Кайкова О.В. Эволюция коклюшной инфекции: вопросы профилактики. / Медицинский альманах. – 2015. – № 5 (40). – С. 129–132.
8. Петрова М.С., Попова О.П., Борисова О.Ю., Абрамова Е.Н., Вартамян Р.В., Келли Е.И. Коклюш у детей раннего возраста. / Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. – № 6. – С. 12–24.
9. Попова О.П., Петрова М.С., Борисова О.Ю., Скирда Т.А., Грачева Н.М., Малышев Н.А. Клинические особенности коклюша у взрослых. / Терапевтический архив. – 2014. – № 86 (11). – С. 78–81.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ  
В СИСТЕМЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА И КОНТРОЛЯ  
ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ**

**Быстрова Т. Н., Полянина А. В., Залесских А. А., Кашникова А. Д.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** При всех этиологических формах вирусных гепатитов (ВГ), характеризующихся резко выраженной полиморфностью клинических проявлений, успех в изучении различных аспектов проблемы, в том числе эпидемиологических, определяется адекватностью применяемых лабораторных методов выявления маркеров инфицирования. Использование молекулярно-генетических методов открывает новые перспективы в изучении этих инфекций, является теоретическим обоснованием закономерностей проявления, механизмов регуляции эпидемического процесса, включая изучение изменчивости возбудителя в пространстве и времени. Применение молекулярно-генетических методов исследования должно рассматриваться не как альтернатива, а как обязательное дополнение к регламентированным схемам диагностики, что позволяет эффективно выявлять возбудителей вирусных гепатитов, проводить оценку идентичности вирусных изолятов и на этой основе совершенствовать эпидемиологический надзор и контроль этих инфекций.

**MOLECULAR-GENETIC MONITORING OF VIRAL HEPATITIS PATHOGENS  
IN THE SYSTEM OF EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE AND CONTROL**

**Bystrova T. N., Polyanina A. V., Zaleskikh A. A., Kashnikova A. D.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** Aetiology of viral hepatitis includes a variety of hepatotropic viruses and infection forms often have polymorphic clinical manifestation. Therefore successful research in this field heavily relies on adequate methods for detection of infection markers. Molecular-genetic methods show vast potential in viral hepatitis research, they can be used to reveal patterns in epidemic process of these infections, mechanisms of its regulation and pathogen variability in time and space. Molecular-genetic methods should not replace conventional immunology methods. A combination of these techniques allows to augment clinical diagnostics process, improve epidemiological surveillance and revealing of sources of the infection.

**Введение.** Вирусные гепатиты (ВГ) являются глобальной проблемой общественного здравоохранения, ежегодно унося жизнь 1,4 миллиона человек. В мире насчитывается 2 млрд человек, инфицированных ВГВ, из которых 350 млн переносят хроническую форму инфекции и ежегодно умирают 600 млн. Около 170 млн человек инфицированы ВГС, умирают от инфекции более 350 тыс. в год [1]. 57% цирроза и 78% случаев первичного рака печени обусловлены гепатитами В и С (ГВ, ГС). Ежегодно в мире регистрируется более 1,4 млн случаев заражения гепатитом А (ГА), гепатит Е (ГЕ) у одной трети населения вызывает sporadicкую заболеваемость и/или эпидемии, приводя в 30% случаев к смертности беременных. Несмотря на произошедшие в последнее десятилетие изменения эпидемической ситуации ВГ, по-прежнему, остаются одной из актуальных проблем отечественной медицинской науки и практического здравоохранения. Развитие молекулярно-генетических методов исследования привело к получению новых научных знаний о закономерностях эпидемических процессов (ЭП), разнообразии геновариантов возбудителей ВГ, циркулирующих на определенных территориях.

**Цель работы:** совершенствование системы эпидемиологического надзора (ЭН) за ВГ на основе новых знаний о закономерностях ЭП гепатитов А, В, С, Е в среднеевропейском

регионе России, полученных с использованием молекулярно-генетических методов исследования.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования послужили образцы сывороток крови и фекалий от различных контингентов населения Нижегородского региона (n=10427). Серологические маркеры инфицирования вирусами гепатитов А, В, С, Е определяли методом ИФА с использованием отечественных коммерческих тест-систем. Наличие нуклеиновых кислот вирусов гепатитов А, В, С выявляли методом ПЦР с применением коммерческих наборов реагентов; РНК ВГЕ в образцах фекалий свиней-экспериментальным набором ООО «ИнтерЛабСервис», генотипирование ВГА-секвенированием VP1-2A фрагмента генома.

**Результаты и обсуждение.** Использование молекулярно-генетических методов на основе ОТ-ПЦР позволило на качественно новом уровне рассмотреть эпидемиологические аспекты проблемы ГА. В результате работы получены новые знания о ГА-инфекции, расширены представления о сроках эпидемической опасности больных манифестной формой ГА. Установлено, что при появлении желтухи РНК ВГА в фекалиях обнаруживаются у всех больных с документированным ГА, при этом у 93% экскреция вируса продолжается до 25 дней с момента госпитализации [2]. Использование метода ОТ-ПЦР при расследовании вспышечной заболеваемости ГА в очагах повысило результативность работы по выявлению источников инфекции и оценке интенсивности ЭП в них. Данная технология приобретает особое значение для определения ВГА в объектах внешней среды, в т. ч. в воде. При этом выявляемость вируса в воде по сравнению с ИФА повысилась более чем в 23 раза. Генотипирование ВГА, выделенного в Н. Новгороде за период 2000–2017 гг. выявило абсолютную циркуляцию 1 генотипа возбудителя. Частота выявления субтипа 1А составила  $97,4 \pm 3,7\%$ , обнаруженные изоляты ВГА обладали высокой степенью гомологии с геновариантами европейской части РФ [3]. В единичных случаях выявлен 1В субтип ( $2,6 \pm 1,7\%$ ), характерный для стран Средиземноморья. Полученные данные обосновывают необходимость применения метода ОТ-ПЦР при изучении вопросов экологии возбудителя, а также его использование как методической основы детекции при мониторинге водных объектов за контаминацией вирусом и расшифровке вспышек ГА водного характера.

Заслуживает внимания факт высокой частоты обнаружения маркеров ВГС у населения. Среди анти-ВГС позитивных лиц превалентность РНК вируса колебалась от  $49 \pm 7,6\%$  до  $78 \pm 4,4\%$  у разных контингентов. Высокая частота обнаружения РНК в группе «условно здорового» населения свидетельствует об интенсивности латентного компонента ЭП и широте распространения скрытых источников инфекции в популяции. В ряде случаев РНК вируса обнаруживалась у серонегативных лиц из групп повышенного риска инфицирования, что позволило выявить источники инфекции в ранние сроки до сероконверсии. Анализ структуры генотипов возбудителя установил циркуляцию вируса пяти субтипов: 1а, 1b, 2, 3а, 5а с доминированием в равных долях 1b и 3а ( $83 \pm 2,7\%$ ), ассоциация двух субтипов (1b+3а, 1а+1b) выявлена в  $4,1 \pm 1,1\%$ . У сотрудников и пациентов отделений гематологии установлены два субтипа вируса, где 1b ( $81,0 \pm 8,5\%$ ) преобладал над 3а ( $19,0 \pm 8,5\%$ ). Среди пациентов отделения гемодиализа выявлен 1b генотип, что свидетельствует о возможном внутрибольничном инфицировании. Наибольшее разнообразие субтипов установлено у лиц с наркотической зависимостью и пациентов инфекционных стационаров, среди которых показано доминирование 3а ( $52 \pm 6,0\%$ ) и наличие ассоциаций двух субтипов ВГС, что может свидетельствовать о возможности повторного инфицирования другим штаммом вируса и подтверждает данные литературы о связи отдельных субтипов ВГС с определенными путями передачи [4]. Выявлена преимущественная циркуляция субтипа 1b среди женщин ( $61,6 \pm 5,2\%$ ), что в сочетании с высокой превалентностью РНК ВГС у беременных свидетельствует о потенциальном риске вертикального пути передачи инфекции. Динамические изменения генотипической структуры ВГС за последние 25 лет проявились в снижении превалентности 1b, росте доли субтипа 3а, в появлении с 2005 г. в циркуляции субтипа 1а, с 2015 г. – 5а. Смена доминирующего генотипа и факт появления ранее не

циркулирующих субтипов вируса подчеркивает необходимость мониторинга генотипической структуры ВГС в эпидемиологическом надзоре за ГС.

Не менее важной задачей является изучение распространенности маркеров ГВ-инфекции среди населения региона. Среди HBsAg-позитивных лиц выявляемость ДНК ВГВ составила  $22,7 \pm 2,4\%$ , что позволило дифференцировать острые и хронические формы инфекции, а также носительство HBsAg. Показатель превалентности ДНК ВГВ в группах высокого риска инфицирования в 2,8 раза превышал таковой в группе сравнения. Достоверно чаще по сравнению с другими группами ДНК вируса была обнаружена у пациентов отделений гематологии и гемодиализа ( $80,0 \pm 4,0\%$  и  $50,0 \pm 3,2\%$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Значительный уровень превалентности ДНК ВГВ ( $55,5 \pm 2,1\%$ ) среди указанных групп свидетельствует о высоком риске внутрибольничного инфицирования пациентов и персонала ГВ в отделениях гематологического профиля. Генотипирование установило исключительную циркуляцию ВГВ генотипа D ( $87,6 \pm 5,2\%$ ), характерного для европейской части России [5]. Полученные данные аргументируют необходимость обязательного включения определения ДНК ВГВ в алгоритм обследования серопозитивных лиц на всех этапах выявления ГВ-инфекции.

Следует отметить, что использование ОТ-ПЦР для обнаружения РНК ВГЕ позволило сделать аргументированный вывод об источниках инфицирования и преимущественно зоонозном характере ГЕ в рамках реализации фекально-орального механизма передачи инфекции на территории умеренного климата.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о высокой интенсивности латентного по сравнению с манифестным компонентом эпидемических процессов вирусных гепатитов на исследуемой территории и служат теоретическим обоснованием необходимости включения в эпидемиологический контроль и надзор за этими инфекциями на каждой конкретной территории мониторинга биологических свойств возбудителей с определением молекулярно-генетической характеристики вируса с целью адекватной оценки эпидемиологической обстановки, прогноза и разработки профилактических и противоэпидемических мероприятий.

#### Литература:

1. Резолюция ВОЗ 69.22 (WHA 69/2016/REC/1) / URL: [http://apps/who/int/gb/r/r\\_wha69r1.html](http://apps/who/int/gb/r/r_wha69r1.html)
2. Попкова М.И. Информативность определения РНК вируса гепатита А при проведении эпиднадзора за инфекцией: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.30. Н. Новгород, 2006. 26 с.
4. Чуланов В.П. Эпидемиологическое и клиническое значение генетической гетерогенности вирусов гепатита А и В: автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.02.02. М., 2013. 47 с.
5. Михайлова Ю.В., Быстрова Т.Н., Сутырина О.М. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика гепатита С в группах высокого риска инфицирования лечебно-профилактических учреждений Нижнего Новгорода // Медицинский альманах. 2015. № 5 (40). С. 54–60.
6. Полянина А.В., Быстрова Т.Н. Генотипы вируса гепатита В среди некоторых контингентов населения Нижнего Новгорода в 2011–2015 гг. // Сб. трудов IX Всерос. НПК с межд. участием. под ред. В.И. Покровского «Молекулярная диагностика 2017». Т. 1. С. 66–67.

УДК: 614.44

## **КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРИПРОТЕЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

**Венедиктова А. А., Квашнина Д. В., Благонравова А. С.**

*ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия*

**Цель:** дать клинико-эпидемиологическую характеристику перипротезных инфекций (ППИ) у пациентов после первичного эндопротезирования тазобедренного сустава по данным систематического обзора и ретроспективного анализа заболеваемости у пациентов ортопедического профиля. **Материалы и методы.** Проведен систематический обзор 19

оригинальных публикаций и ретроспективный анализ 659 медицинских карт пациентов, подвергшихся эндопротезированию тазобедренного сустава. **Результаты.** Заболеваемость ППИ составила 8,8 (95% ДИ 6,9 – 11,4) на 100 прооперированных пациентов. По нашим данным, ведущий возбудитель ППИ – *S. epidermidis* (MRSE 34,6%). Данные штаммы в 63,6% полирезистентны, наибольший процент резистентности к цефалоспорином (64%) и макролидам (63,5%). **Заключение.** Выявлена высокая распространенность ППИ. Ведущей группой возбудителей ППИ являются микроорганизмы *Staphylococcus spp.*, проявляющие резистентность в 86%.

## CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF PERIPROSTHETIC INFECTIONS

Venediktova A. A., Kvashnina D. V., Blagonravova A. S.  
FSBEI HE PRMU MOH Russia, Nizhny Novgorod, Russia

**Objective:** to give a clinical and epidemiological characteristics of periprosthetic infections (PPI) in patients after primary hip joint arthroplasty according to a systematic review and a retrospective analysis of morbidity in patients with an orthopedic profile. **Materials and methods.** A systematic review of 19 original publications and a retrospective analysis of 659 medical records of patients undergoing hip arthroplasty were carried out. **Results.** The incidence of PPI was 8.8 (95% CI 6.9–11.4) per 100 operated patients. According to our data, the leading causative agent of PPI is *S. epidermidis* (MRSE 34.6%). These strains in 63.6% are multiresistant, the highest percentage of resistance to cephalosporins (64%) and macrolides (63.5%). **Conclusion** Revealed a high prevalence of PPI. The leading group of PPI pathogens are *Staphylococcus spp.* microorganisms, exhibiting resistance in 86%.

**Введение.** Перипротезная инфекция (ППИ), относящаяся к инфекциям, связанным с оказанием медицинской помощи (ИСМП), является третьей среди главных причин неудовлетворительных результатов оперативного лечения, серьезной угрозой здоровью пациентов, составляет значительную долю расходов учреждений здравоохранения [1], а также занимает первое место среди причин ранних ревизий [2, 3].

Согласно стандартному определению случая ППИ – глубокая инфекция области хирургического вмешательства, развившаяся после имплантации эндопротеза, представляет собой частный случай имплантат-ассоциированной инфекции [4-6].

**Целью** работы является определение клинико-эпидемиологических особенностей ППИ у пациентов после первичного эндопротезирования тазобедренного сустава по данным систематического обзора (СО) и ретроспективного анализа заболеваемости пациентов ортопедического отделения.

**Материалы и методы.** Систематический обзор проводился по основным принципам, изложенным в Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (2011), формулировка основного клинического вопроса осуществлялась по принципу PICO, оценка методологического качества нерандомизированных сравнительных исследований – по шкале Newcastle-Ottawa [7]. Поисковая стратегия реализовывалась в электронных базах данных MEDLINE, EMBASE, Web of Science, Cochrane Library, архив Oxford University Press, научная электронная библиотека eLIBRARY.RU, КиберЛенинка. Для определения уровня заболеваемости, клинико-эпидемиологических особенностей ППИ в медицинском учреждении травматологического профиля был проведен ретроспективный анализ заболеваемости с применением стандартного определения случая за период 2017 года. Основными объектами изучения были пациенты ортопедического отделения, перенесшие эндопротезирование тазобедренного сустава (n=1015) и случаи ППИ (n=58). В описательном исследовании были изучены: 1) медицинские карты стационарного больного форма № 003/у – 659 ед.; 2) журнал регистрации анализов и их результатов №250/у – 32 ед.; 3) клинический материал от пациентов: биоптат тканевой, раневое отделяемое, пунктат; 4) 11 штаммов микроорганизмов.



Обработка материала проводилась на персональном компьютере с использованием стандартных прикладных компьютерных программ пакета Microsoft Office 2007. При статистической обработке данных были использованы методы вариационной статистики. Комплексная характеристика свойств микроорганизмов, возбудителей ППИ включала определение чувствительность к антибиотиками диско-диффузионным методом в соответствии с клиническими рекомендациями и стандартами. Полученные данные микробиологических исследований вносились в электронную базу данных и анализировались с помощью программного обеспечения WHONET 5.6.

**Результаты и обсуждение.** В результате скрининга и отбора оригинальных научных исследований в СО было включено 19 публикаций (отечественных 10, зарубежных 9). По данным СО, в Российской Федерации частота возникновения ППИ колеблется в пределах 6,0–9,0, в странах Европы – 7,0–8,0 на 100 госпитализированных. По нашим данным, заболеваемость ППИ составила 8,8 (95% ДИ 6,9–11,4) на 100 прооперированных пациентов.

По данным авторов исследований, включенных в СО, инфекционные осложнения после эндопротезирования крупных суставов в 30% случаев возникают при характеристике послеоперационной раны «условно-чистая». Так же особенностями лечебно-диагностического процесса, влияющими на развитие ППИ, являются продолжительность операции свыше 2 ч (49%) и предыдущее эндопротезирование тазобедренного сустава (8,7–17,2%). У наших пациентов 6,9% случаев ППИ развивалось при длительности операции свыше 2 ч, и 53,0% после предыдущего оперативного вмешательства по протезированию сустава.

Кроме того, в публикациях отмечалось, что на возникновение ППИ влияют сопутствующие заболевания: сердечно-сосудистой системы (15,1–95%), патология дыхательных путей (24–52%), ЖКТ (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки) (16–43%), ЦНС (энцефалопатия) в 9,2–91% случаев.

По данным СО, лидирующими микроорганизмами в этиологической структуре ППИ являются грам+ флора с широкой вариабельностью показателя (таблица). При бактериологическом исследовании клинического материала от пациентов с ППИ в основном были выделены монокультуры (98%), ассоциации лишь в 2% (*S.epidermidis* и *S. haemolyticus*, *E. coli* и *S. oralis*). По данным локального анализа результатов этиологической расшифровки ППИ у пациентов было выявлено, что лидирующими возбудителями являются микроорганизмы рода *Staphylococcus* (47,1%). При этом метициллин (оксациллин) – резистентные штаммы *S. epidermidis* встречались с частотой 63,6 на 100 исследований, *S. aureus* – 12,5 на 100 исследований. Грамотрицательные микроорганизмы совокупно составляли 34,3% (таблица).

**Таблица.** Этиологическая структура ППИ

Микроорганизм	Удельный вес в этиологической структуре ППИ (в среднем) по данным СО, %	Удельный вес в этиологической структуре ППИ по собственным данным, %
<i>S. epidermidis</i> , в т.ч. MRSE	54±27,7	34,6 ±6,5
<i>S. aureus</i> , в т.ч. MRSA	24,2 ±19,02	12,5±4,3
<i>S. hominis</i>	–	6,2 ±3,6
<i>A. baumannii</i>	6,7±6,6	12,5±4,7
<i>P. aeruginosa</i>	3,4±0,4	9,4±4,1
<i>E. faecalis</i>	9,4±9	3,1±2,6
<i>E. cloacae</i>	8±3,5	6,2±3,4
<i>K. pneumonia</i>	2,4±2	3,1±2,4
<i>P. mirabilis</i>	2,9±1,3	–
<i>Escherichia coli</i>	–	3,1±2,7
Другие	0,9	3,1±1,5

Полирезистентные штаммы (устойчивость к более 2 группам антибиотиков) *S. epidermidis* встречались в 63,6%, монорезистентные – 27,3%, с полной чувствительностью (9,1%). Наибольшую устойчивость стафилококки проявляли к макролидам (63,5%), цефалоспорином (63,6%), фторхинолонам (18,2%) и пенициллинам (18,2%). При этом на высоком уровне сохранялась чувствительность к оксозолидинам (95,6%), глицилциклином (91%), гликопептидам (82%) и к аминогликозидам (63%). Среди *S. aureus* полирезистентные штаммы составляли 50%, монорезистентные – 25%, полностью чувствительные – 25%. Наибольшая устойчивость проявлялась к цефалоспорином (75%), фторхинолонам (72%) и макролидам (70%). Высокая чувствительность у *S. aureus* отмечалась к гликопептидам (97%), оксозолидинам (96%), глицилциклином (93%) и аминогликозидам (75%). В числе полирезистентных *A. baumannii* – 75%, монорезистентных штаммов – 25%. Наибольшая устойчивость отмечалась к цефалоспорином (75%), фторхинолонам (55%), аминогликозидам (51%) и карбапенемам (50%). Среди *P. aeruginosa* полирезистентные штаммы встречались в 50%, монорезистентные – 25%. Устойчивость отмечалась к фторхинолонам (25%). Наибольшая чувствительность у данной группы микроорганизмов сохранялась к цефалоспорином (95%), полимиксином (66,6%), аминогликозидам (66%) и карбапенемам (65%).

**Заключение.** Выявлена высокая распространенность ППИ по международным данным – 7,0–8,0 на 100 госпитализированных, в Российской Федерации 6,0–9,0%, среди пациентов ортопедического отделения медицинской организации Нижегородской области – 8,8 на 100 прооперированных пациентов (95% ДИ 6,9–11,4). Факторами риска развития ППИ у пациентов являются наличие сопутствующих заболеваний (сердечно-сосудистые заболевания, патология дыхательных путей, болезни ЖКТ и ЦНС) и особенности лечебно-диагностического процесса (категория операция в зависимости от степени микробной контаминации, длительность оперативного вмешательства и предшествующее эндопротезирование тазобедренного сустава). Лидирующими возбудителями ППИ являются микроорганизмы *Staphylococcus spp.*, проявляющие резистентность в 86%, сохранившую наибольшую устойчивость к цефалоспорином, макролидам.

#### Литература:

1. Adeli V. The Infected Hip: A Treatment Algorithm. / V. Adeli, J. Parvizi. // Semin. Arthro. – 2011, Elsevier Inc. 22 – P. 100–102.
2. Тихилов Р.М. Структура ранних ревизий эндопротезирования тазобедренного сустава / Р.М. Тихилов, И.И. Шубняков, А.Н. Коваленко [и др.]. // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 2. – С. 5–13.
3. Osmon D.R. Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America / D.R. Osmon, E.F. Berbari, A.R. Berendt [et al.] // Clinical Infectious Diseases 2013;56(1):e1–25.
4. Перипротезная инфекция в области крупных суставов конечностей: Клинические рекомендации / Р.М. Тихилов, Божкова С.А., Артюх В.А. – Москва: Общероссийская общественная организация Ассоциация травматологов-ортопедов России (АТОР), 2016.
5. Профилактика инфекций в области хирургического вмешательства: Клинические рекомендации/ Брико Н.И. [и др.] – Нижний Новгород: Издательство «Ремедиум Приволжье», 2018. – С. 72.
6. Применение спейсеров в лечении периимплантной инфекции после эндопротезирования тазобедренного сустава / Комаров Р.Н. [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – С. 499.
7. Реброва О.Ю., Федяева В.К. Вопросник для оценки риска систематических ошибок в нерандомизированных сравнительных исследованиях: русскоязычная версия шкалы Ньюкасл–Оттава // О.Ю. Реброва, В.К. Федяева // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2016. – № 3 (25). – С. 14–19.

**О РЕЗУЛЬТАТАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
БАЛЛАСТНЫХ ВОД СУДОВ, ПРИБЫВШИХ В МЕЖДУНАРОДНЫЕ  
МОРСКИЕ ПОРТЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Водяницкая<sup>1</sup> С. Ю., Сергиенко<sup>1</sup> О. В., Лях<sup>1</sup> О. В., Иванова<sup>1</sup> Н. Г., Кононенко<sup>1</sup> А. А.,  
Воловикова<sup>1</sup> С. В., Киреев<sup>2</sup> Ю. Г., Балахнова<sup>2</sup> В. В., Баташев<sup>2</sup> В. В.,  
Архангельская<sup>1</sup> И. В., Непомнящая<sup>1</sup> Н. Б., Историк<sup>3</sup> О. А., Черный<sup>3</sup> М. А.,  
Палилов<sup>3</sup> М. Б., Бабура<sup>4</sup> Е. А., Григорян<sup>4</sup> Т. Ю.**

<sup>1</sup>ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

<sup>2</sup>ФКУЗ «Северо-Кавказская противочумная станция» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону,  
Россия

<sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Управление Роспотребнадзора по Калининградской области, Калининград, Россия

**Аннотация.** В Российской Федерации Международная конвенция «О контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими» 2004 года вступила в силу в 2017 г. Для реализации положений Конвенции в территориальных водах России должен быть организован отбор и анализ проб балластных вод, которые будут проводиться по решению портовых властей без вынужденной задержки судов (статья 9 Конвенции), на наличие *E. coli*, *Enterococcus spp.*,

*V. cholerae* O1 и O139 (стандарт D-2 Конвенции). «Пилотными» территориями России, имеющими международные морские порты для внедрения положений Конвенции, были выбраны Калининградская, Ленинградская и Ростовская области. Результаты исследования показали, что в пробах балластных вод судов заграничного плавания обнаруженные *V. cholerae* non O1/non O139, *E. coli* и *Enterococcus spp.* находились в пределах нормы.

**ON THE RESULTS LABORATORY STUDIES OF BALLAST WATERS OF SHIPS  
ARRIVING IN THE INTERNATIONAL SEAPORTS OF THE RUSSIAN FEDERATION**

**Vodyanitskaya<sup>1</sup> S. Yu., Sergienko<sup>1</sup> O. V., Lyakh<sup>1</sup> O. V., Ivanova<sup>1</sup> N. G.,  
Kononenko<sup>1</sup> A. A., Volovikova<sup>1</sup> S. V., Kireev<sup>2</sup> Yu. G., Balahnova<sup>2</sup> V. V., Batashev<sup>2</sup> V. V.,  
Arkhangelskaya<sup>1</sup> I. V., Nepomnyashaya<sup>1</sup> N. B., Istorik<sup>3</sup> O. A., Cherniy<sup>3</sup> M. A., Palilov<sup>3</sup> M. B.,  
Babura<sup>4</sup> E. A., Grigoryan<sup>4</sup> T. Yu.**

<sup>1</sup>Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia

<sup>2</sup>Federal government health institution of the North Caucasian anti-plague station,  
Rostov-on-Don, Russia

<sup>3</sup>Department of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare  
for Leningrad region, Saint-Petersburg, Russia

<sup>4</sup>Department of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare  
for Kaliningrad region, Kaliningrad, Russia

**Abstract.** In the Russian Federation, the International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments of 2004 entered into force in 2017. In order to implement the provisions of the Convention in the territorial waters of Russia, ballast water sampling and analysis for *E. coli*, *Enterococcus sp.*,

*Vibrio cholera* 01 and 0139 (Standard D-2 of the Convention) should be organized, which will be carried out by the decision of the port authorities without the forced delay of ships (Article 9 of the Convention). As «Pilot» territories of Russia to implement the provisions of the Convention were selected some regions having international maritime ports namely Kaliningrad, Leningrad and Rostov regions. The results of the research showed that in the ballast water samples of the vessels of the international navigation the amount of *V. cholerae* non 01 / non 0139, *E. coli*, *Enterococcus sp.* did not exceed the norm.

**Введение.** В связи со вступлением в силу Международной конвенции «О контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими» 8 сентября 2017 года специалистами ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора запланирована и выполняется НИР 197-4-17 «Научное обоснование реализации требований Международной конвенции о контроле судовых балластных вод и осадков и управления ими (2004 г.) в Российской Федерации» совместно со специалистами учреждений Роспотребнадзора «пилотных» территорий России, имеющими международные морские порты в Калининградской, Ленинградской и Ростовской областях.

**Материалы и методы.** Материалами для работы служили пробы балластных (n=37) и сточных вод (n=2) 28 судов, прибывших из 15 стран различных регионов трех континентов: Азии (Турция, Филиппины), Южной Америки (Бразилия, Уругвай) и Европы (Великобритания, Германия, Греция, Италия, Нидерланды, Польша, Румыния, Финляндия, Франция, Швеция, Эстония). Исследования выполняли специалисты бактериологических лабораторий указанных «пилотных» территорий: Ленинградская область (32 пробы), Ростовская область (21 проба), Калининградская область (1 проба балласта и 2 пробы фановых вод).

Идентификацию штаммов *V. cholerae* non O1/non O139 осуществляли в лаборатории микробиологии холеры ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в соответствии с МУК 4.2.2218-07. Для серологического типирования применяли полученные в Ростовском-на-Дону противочумном институте сыворотки диагностические холерные non O1/ non O139 серогрупп моноспецифические кроличьи сухие O2-O84 серогрупп (кроме O12, O23, O26) для слайд-агглютинации.

Материалом для ПЦР служили супернатанты прогретых при 100°C взвесей суточных агаровых культур в дистиллированной воде. Амплификацию искомым фрагментов генов факторов патогенности с помощью специфических праймеров осуществляли на программируемом термостате «Терцик» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва). Синтез праймеров выполнен ООО «Си-бЭнзим» (Новосибирск), НПФ «Литех» (Москва) и «Евроген» (Москва). По окончании реакции содержимое пробирок подвергали электрофорезу в горизонтальном 2% агарозном геле, содержащем 0,5 мкг/мл бромистого этидия, в электрическом поле напряженностью 7,5 вольт/см. Фрагменты визуализировали в ультрафиолетовом свете с использованием транс-иллюминатора.

**Результаты и обсуждение.** Проведенные лабораторные исследования балласта судов, прибывших в международные морские порты Российской Федерации, дали следующие результаты: пробы, исследованные специалистами лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области» показали, что *E. coli*, *Enterococcus spp.* находятся в пределах нормы, *V. cholerae* O1 и O139 – отсутствовали в балласте. Пробы, исследованные специалистами лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Калининградской области» показали: *E. coli*, *Enterococcus spp.* – в пределах нормы, *V. cholerae* O1 и O139 – не обнаружены. Из 21 пробы, исследованной специалистами лабораторий Ростовской области – в 12 пробах балластной воды находились *V. cholerae* non O1/non O139, балласт был взят от кораблей, прибывших из Румынии, России (Темрюк) и Турции (Карасу), *E. coli* и *Enterococcus spp.* находились в пределах нормы.

В исследование попали две пробы фановых вод судов, прибывших в ММП Калининград из Бразилии (n=1) и Филиппин (n=1). *V. cholerae* обнаружены не были.

В лаборатории микробиологии холеры ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора было проведено изучение биологических свойств 12 штаммов *V. cholerae* non O1/non O139, выделенных в июле и августе 2018 года из судового водяного балласта, взятого с пяти различных судов и поступивших на исследование из ФКУЗ «Северо-Кавказской противочумной станции» Роспотребнадзора.

Установлено, что все культуры *V. cholerae* non O1/non O139 были типичны по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам, обладали оксидазной активностью, ферментировали глюкозу в среде Хью-Лейфсона в аэробных и анаэробных

условиях с образованием кислоты без газа, сахарозу, маннозу, манит и не расщепляли арабинозу, инозит, декарбоксилировали лизин и орнитин, но не обладали дигидролазой аргинина, образовывали индол, не продуцировали сероводород, гемолизопозитивные, не содержали генов основных факторов патогенности (*ctxA* и *tcpA*).

В результате серологического типирования культур у 10 штаммов *V. cholerae* non O1/non O139 (83,3 %) была установлена серологическая принадлежность к пяти серогруппам (O13 – 6 штаммов, O76, O2, O16 и O60 – по одному штамму). Представители O2, O16 и O76 серогрупп ранее были изолированы из проб воды водоемов Ростовской области, вибрионы O13 и O60 серогрупп встречаются на данной территории впервые.

На следующем этапе было проведено генотипирование культур по 15 генам факторов патогенности/персистенции. Полученные данные приведены в таблице.

**Таблица.** Результаты генотипирования нетоксигенных штаммов холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп из судового балласта

№№ п/п	Кластер	<i>rstA</i>	<i>tcpAelt</i>	<i>int</i>	<i>nanH</i>	<i>vce</i>	<i>rtxC</i>	<i>acd-rtxA</i>	<i>acd-vgrG1</i>	<i>pbd-vgrG3</i>	<i>vasK</i>	<i>vcsN2</i>	<i>vspD</i>	<i>mshA</i>	<i>stn/sto</i>	<i>chxA</i>
1	77	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
2	78	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3	85	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
4	86	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
5	87	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
6	95	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
7	88	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
8	96	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
9	103	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+
10	104	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
11	128	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
12	127	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-

Штаммы *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенные из судового водяного балласта, взятого с пяти различных судов, поступившие на исследование из ФКУЗ «Северо-Кавказской ПЧС» Роспотребнадзора, были представлены девятью кластерами, отличающимися между собой по наличию/отсутствию от двух до шести генов. У этих штаммов не были выявлены кластеры: RS1-RS2-элементы; VPI-I (представленный геном токсин-корегулируемых пилей – *tcpA*); T3SS (*vcsN2*, *vspD*). Остальные гены были представлены в различных сочетаниях.

Таким образом, из судового водяного балласта были выделены нетоксигенные культуры *V. cholerae* nonO1/nonO139, различные по серологическим свойствам, что соответствует данным о циркуляции в водных объектах окружающей среды большого числа клонов холерных вибрионов различных серогрупп. Циркуляция представителей большого количества сменяющих друг друга серогрупп объясняются межпопуляционными взаимодействиями в рамках вида *V. cholerae* и изменчивостью в процессе длительной персистенции в объектах окружающей среды. Появление культур других серогрупп на определенной территории свидетельствует о возможности новых заносов холерных вибрионов, в том числе с судовым балластом.

**Заключение.** Впервые на территории двух субъектов Российской Федерации (Ленинградской и Калининградской области) проведены исследования балластных вод, в Ростовской области исследования продолжаются с 2010 года по настоящее время. Следует отметить, что из водяного балласта судов, прибывших в порты Ростовской области, выделялись нетоксигенные штаммы *V. cholerae* non O1/non O139, различные по серологическим и генетическим свойствам, *E. coli* и *Enterococcus spp.* находились в пределах нормы. Исследования в рамках НИР будут продолжены с привлечением большего числа субъектов России, имеющих международные морские порты.

Литература:

1. Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими 2004 г. – СПб.: ЗАО ЦНИИМФ, 2005. – 120 с.
2. МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры».

УДК: 579.843.1:579.253.4:614.48:614.48:614.7:656.612

**ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПОЯВЛЕНИЯ УСТОЙЧИВЫХ ФОРМ *VIBRIO CHOLERAЕ* ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕКОНТАМИНАЦИИ БАЛЛАСТНЫХ ВОД ДЕЗСРЕДСТВОМ ИЗ ГРУППЫ ПОЛИГУАНИДИНОВ**

**Водяницкая С. Ю., Павлович Н. В., Сергиенко О. В., Воловикова С. В., Иванова Н. Г.**  
*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора*

**Аннотация.** Международная конвенция по контролю и управлению судовыми балластными водами и осадками 2004 г. вступила в силу для России в 2017 году. Конвенция предписывает, что все суда, совершающие международные рейсы и имеющие балластные танки, должны быть снабжены специальными системами для обеззараживания судовых балластных вод, в том числе химическим методом. Наши исследования показали, что предпочтительным дезсредством для деконтаминации балластных вод является препарат из группы полигуанидинов. Одной из важных характеристик дезсредств является показатель частоты возникновения у бактерий устойчивых форм, поэтому мы провели оценку возможности появления в популяции *V. cholerae* спонтанных форм при химической деконтаминации балластных вод «Биопагом-Д».

**ASSESSMENT OF POSSIBILITY OF EMERGENCE OF DRUG RESISTENT *VIBRIO CHOLERAЕ* WHILE TREATING BALLAST WATER WITH POLYGUANIDINE DISINFECTANT**

**Vodyanitskaya S. Yu., Pavlovich N. V., Sergienko O. V., Volovikova S. V., Ivanova N. G.**  
*Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments of 2004 entered into force for Russia in 2017. According to the Convention, all ships on international voyages with ballast tanks shall be equipped with special systems for disinfecting ship's ballast water, including the chemical method. Our studies have shown that the preferred disinfectant for decontamination of ballast water is a drug from the group of polyguanides. One of the most important characteristics of a disinfectant is the index of the frequency of appearance of resistant forms of bacteria, so we evaluated the possibility of emergence in the population of spontaneous forms during chemical decontamination of ballast water using «Bioprom-D».

**Введение.** В настоящее время развитие транспортного морского сообщения связано с риском завоза и распространения с балластными водами судов чужеродных видов зоопланктона и микроорганизмов, что ведет к нарушению экологического равновесия различных акваторий и возможности возникновения болезней, передаваемых водным путем среди населения портовых городов, в частности, холеры.

В связи с этим, Международной морской организацией в 2004 году принята Международная конвенция по контролю и управлению судовыми балластными водами и осадками (далее – Конвенция), которой определен стандарт качества сбрасываемых балластных вод [1]. В соответствии со стандартом качества балластных вод к индикаторным микробам относят токсигенный холерный вибрион O1 и O139 серогрупп в количестве менее одной колониеобразующей единицы (КОЕ) на 100 мл или менее 1 КОЕ на один грамм сырого веса образцов зоопланктона; кишечную палочку – менее 250 КОЕ на 100 мл и кишечные энтерококки – менее 100 КОЕ на 100 мл.

Конвенция предписывает, что до 2019 г. все суда, совершающие международные рейсы и имеющие балластные танки, должны быть снабжены специальными системами для обеззараживания судовых балластных вод механическими, биологическими, физическими или химическими методами, обеспечивающими требуемую минимальную концентрацию жизнеспособных организмов и удаление осадков.

Из всех методов наиболее доступным является химический, т.е. применение химических веществ, однако он влечет ряд проблем: в первую очередь – риск для здоровья экипажа, коррозию насосов, трубопроводов, покрытий балластных танков и других частей балластной системы, а также загрязнение химикатами или продуктами их разложения морской воды в результате сброса балласта.

В целях снижения риска заноса патогенных биологических агентов в акватории морских (речных) портов особый научный интерес представляет подбор химических веществ для обработки водяного балласта. Они должны обладать высокой бактерицидной активностью в отношении широкого спектра микроорганизмов, включая возбудителя холеры; соответствовать существующим требованиям по показателям безопасности их применения для человека и окружающей среды; иметь оптимальное соотношение стоимость-качество.

В современный период имеются сотни зарегистрированных дезинфекционных средств разных групп химических соединений и различающихся по составу рецептур. При анализе различных классов химических веществ перспективным, на наш взгляд, препаратом является «Биопаг-Д» из группы полигексаметиленгуанидинов (ПГМГ-ГХ). В соответствии с сертификатами соответствия, гигиеническими заключениями и актами проведенных испытаний, представленными разработчиками и изготовителями, препарат активен в отношении широкого спектра грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Он относится к 3 классу умеренно опасных веществ и 4 классу малоопасных веществ по ГОСТ 12.1.007-76 [2], с успехом используется в медицинских организациях, на предприятиях пищевой промышленности и жилищно-коммунального хозяйства, что позволяет рассматривать его в качестве возможного препарата для деконтаминации балластных вод [3].

При исследовании действия различных концентраций на культуры штаммов *E. coli*, *S. aureus*, *V. cholerae* с помощью суспензионного метода установлено, что дезинфектант в интервале концентраций 0,001 – 0,1% приводит к быстрой гибели всех индикаторных микроорганизмов в регламентированное время – не более 30 мин. в соответствии с Р 4.2.2543-10 [4]. В соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» (Приложение 1, пп.1.2, 1.31) [5], в которых регламентированы концентрации ПГМГХ 0,02–0,4% для обработки различных объектов, нами выбраны концентрации «Биопага-Д», обеспечивающие наиболее быстрое и эффективное обеззараживание – 0,01–0,1%.

Одной из важных характеристик дезсредств является показатель частоты возникновения у бактерий устойчивых форм, поэтому мы провели исследование по оценке возможности появления в популяции *V. cholerae* спонтанных форм, устойчивых к ПГМГ-ГХ.

**Материалы и методы.** В исследование были взяты 10 штаммов *Vibrio cholerae* O1 (classical, El Tor) и O139 серогрупп. С помощью метода серийных разведений в агаре Мартена изучена чувствительность указанных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 к дезсредству из группы ПГМГ-ГХ («Биопаг-Д»). После определения МПК препарата, бактериальные

суспензии изучаемых штаммов ( $10^9$  м.кл./мл по оптическому стандарту) высевали на чашки с агаром, содержащим концентрации в 2–4–8 раз, превышающие МПК. При появлении роста у выросших колоний определяли уровень их устойчивости к дезинфектанту.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что все штаммы, вне зависимости от серогруппы, характеризовались одинаково высокой чувствительностью к дезинфектанту – МПК препарата составляла 0,0005%. При исследовании возможности появления спонтанных «Биопаг-Д» – резистентных форм выявлено, что у некоторых штаммов (4 из 10 исследованных) в популяции с частотой  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  возникают варианты, устойчивые к 0,001% препарата. Наши попытки дальнейшего увеличения резистентности успеха не имели, так как эти варианты утрачивали жизнеспособность на более высоких концентрациях ПГМГ-ГХ («Биопаг-Д»). Результаты проведенных экспериментов показали, что в микробной популяции с низкой частотой могут возникать спонтанные формы с устойчивостью к «Биопаг-Д», лишь незначительно превышающей МПК исходного штамма. Полученные нами данные [6] подтверждают тот факт, что ранее предложенная нами концентрация (0,01%) для обработки балластных вод существенно превышает МПК препарата (0,0005%), даже с учетом возможности появления более устойчивых форм (МПК – 0,001%).

**Заключение.** На основании полученных экспериментальных данных по бактерицидной активности дезсредства из группы ПГМГ-ГХ («Биопаг-Д») в отношении *V. cholerae* установлено, что «Биопаг-Д» является перспективным препаратом для деконтаминации судового балласта, т.к. обеспечивает надежное обеззараживание балластных вод в случае обнаружения в них холерных вибрионов.

#### Литература:

- 1.Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими 2004 г. – СПб.: ЗАО ЦНИИМФ, 2005. – 120 с.
- 2.ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности». М.: Издание (апрель 2007 г.) с изменениями № 1, 2, утвержденными в сентябре 1981 г., марте 1989 г. (ИУС 12-81, 6-90).
3. Инструкция № 1/08 по применению дезсредства «Биопаг-Д» (Региональная общественная организация – институт эколого-технических проблем, Россия). М., 2008. – 14 с.
4. Методы лабораторных исследований и испытаний средств для оценки их эффективности и безопасности: Руководство. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 615 с.
5. СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)». – М., 2013. – 150 с.
6. Водяницкая С.Ю., Павлович Н.В., Судьина Л.В., Баташев В.В., Сергиенко О.В., Рыжова А.А., Лях О.В. О применении дезинфекционных средств для деконтаминации судовых балластных вод и осадков в случае обнаружения *V. cholerae* O1 и O139 // XI Съезд Общероссийской общественной организации «Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов, микробиологов, паразитологов (ВНПОЭМП). – М., 2017. – С. 154.

УДК: 579.6

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ВСПЫШЕК ИСМП В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ ГОРОДА РОСТОВА-НА-ДОНУ**  
**Голошва Е. В., Маркова К. Г., Алешукина А. В., Алешукина И. С., Твердохлебова Т. И.**  
*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»*  
*Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Целью данного исследования явилось определение эффективности современных дезинфицирующих средств, применяемых в одном из стационаров города Ростова-на-Дону, в отношении бактерий, выделенных в ходе планового бактериологического забора материала от сотрудников и с инвентаря и оборудования ЛПУ. В ходе исследования



был выделен широкий спектр грамположительных и грамотрицательных бактерий. Была показана высокая эффективность современных дезинфицирующих средств, применяемых в стационаре, в отношении выделенных микроорганизмов. При совместной инкубации взвесей микроорганизмов в рабочей концентрации дезинфицирующих растворов была показана 80% элиминация грамотрицательных и 87,5% элиминация грампозитивных испытуемых штаммов микроорганизмов. Обработка инвентаря и оборудования исследованными дезинфицирующими средствами способствует эффективному предотвращению риска возникновения вспышек ИСМП в ЛПУ.

## **EFFICIENCY OF APPLICATION OF MODERN DISINFECTANTS FOR THE PREVENTION OF OUTBREAKS OF HCAI IN HOSPITALS OF ROSTOV-ON-DON**

**Goloshva E. V., Markova K. G., Aleshukina A. V., Aleshukina I. S., Tverdokhlebova T. I.**

*Rostov research institute of microbiology and parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The purpose of this study was to determine the effectiveness of modern disinfectants used in one of the hospitals of the city of Rostov-on-don, against bacteria isolated during the planned bacteriological sampling of material from employees and from the inventory and equipment of health facilities. The study identified a wide range of gram-positive and gram-negative bacteria. The high efficiency of modern disinfectants used in the hospital for isolated microorganisms was shown. At joint incubation of suspensions of microorganisms in the working concentration of disinfectant solutions, 80% elimination of gram-negative and 87.5% elimination of gram-positive strains of microorganisms was shown. Treatment of equipment and equipment with the studied disinfectants contributes to the effective prevention of the risk of outbreaks of HCAI in health facilities.

**Введение.** Проблема возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, остается актуальной [1], несмотря на внедрение в практику российского здравоохранения новых высокотехнологичных методов лечения и диагностики различных заболеваний. Частота возникновения внутрибольничного инфицирования в разных странах колеблется от 6 до 25%, в среднем составляя 5–12% [2]. В России ежегодно регистрируется около 50–60 тыс. случаев внутрибольничных инфекций, однако, по расчетным данным, эта цифра в 40–50 раз выше. Своевременная дезинфекция может предупредить и остановить развитие вспышек инфекций в ЛПУ. Современные дезинфицирующие средства, применяемые в стационарах, обладают широким спектром действия в отношении как бактериальных патогенов, так и вирусов и грибов.

Таким образом, определение эффективности современных дезинфицирующих средств, применяемых в стационарах города, является актуальным для предотвращения вспышек ИСМП.

**Целью** данной работы явилось определение эффективности современных дезинфицирующих средств, применяемых в одном из стационаров города Ростова-на-Дону, в отношении бактерий, выделенных в ходе планового бактериологического забора материала от сотрудников и с инвентаря и с оборудования стационара.

**Материалы и методы.** Для осуществления поставленной цели было проведено обследование ротоглоток сотрудников ЛПУ на носительство, смывов с оборудования и инвентаря в разных отделениях. Бактериологические исследования производились в соответствии с общепринятыми методическими указаниями. Идентификация выделенных микроорганизмов производилась с помощью масс-спектрометрического анализа MALDI-TOF (Bruker, Германия).

Из выделенных нами в различных отделениях госпиталя микроорганизмов были приготовлены микробные взвеси определенной концентрации, которые были

проинкубированы совместно с соответствующими дезинфицирующими средствами, взятыми в рабочих и сублетальных разведениях, с последующим высевом на плотную питательную среду для подсчета выросших колоний. Время инкубации определяли в соответствии с инструкцией для каждого дез. средства. Была изучена эффективность следующих дезинфицирующих средств, применяемые в отделениях стационара: хирургическое отделение – 0,5% Лизарин, 1,5% 3D-Септ, ОАР – 0,5% Форэкс-хлор комплит, оперблок – 1% Стопсептикум, 1,5% Триосепт, урология – 1% Стопсептикум, 0,75% Лизарин, дезинфицирующие Лизаксин-салфетки, Лизаксин-спрей, Диаспрей, Форекс-хлор ультра 1% а.х. спрей для быстрой дезинфекции.

**Результаты и обсуждение.** В ходе планового обследования на бактерионосительство сотрудников ЛПУ и смывов с оборудования и инвентаря был выделен широкий спектр грамположительных и грамотрицательных бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas monteilii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter schindleri*, *Alcaligenes faecalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Arthrobacter ramnosus*, *Enterobacter asburiae* и другие. Наблюдалось следующее соотношение выявления наиболее значимых с точки зрения риска возникновения ИСМП микроорганизмов у сотрудников стационара и с обследованных объектов: у сотрудников чаще всего выделялись бактерии рода *Neisseria* (47%), в то время как с инвентаря и оборудования лишь в 5% случаев, что, безусловно, связано с биологическими особенностями данной культуры. Золотистые стафилококки у сотрудников и с объектов выделялись примерно с одинаковой частотой – 21% и 23% соответственно; неферментирующие бактерии в 6% случаев у сотрудников и в 25% – с объектов; энтеробактерии – 8% случаев у сотрудников и 3% – с объектов; прочие бактерии составили 39% и 42% соответственно. В 22% случаев из ротоглоток сотрудников были выделены дрожжеподобные грибы рода *Candida*, против 6% – с оборудования и инвентаря. В видовом отношении большее разнообразие выделенных культур было обнаружено у людей. Степень обсемененности объектов варьировала от единичных КОЕ/г –  $10^3$  КОЕ/г для грамположительных и до  $10^6$ – $10^7$  КОЕ/г для грамотрицательных бактерий.

Была показана высокая эффективность современных дез. средств, применяемых в стационаре, в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Так, при совместной инкубации взвесей микроорганизмов в рабочей концентрации дез. растворов 80% грамнегативных и 87,5% грампозитивных испытуемых штаммов микроорганизмов были полностью элиминированы, при инкубации в сублетальных концентрациях дез. растворов была показана 100% элиминация выделенных возбудителей.

Интерес представляла эффективность спреев (Лизаксин-спрей, диаспрей, Форекс-хлор ультра 1% а.х. спрей) для быстрой дезинфекции в отношении выделенных микробов. Была проимитирована ситуация с локализацией микроорганизмов на моющейся поверхности и обработкой этой поверхности спреями для быстрой дезинфекции с экспозицией согласно инструкции. Последующий высеv с данных поверхностей на плотную питательную среду показал 100% эффективность данных спреев в отношении всех групп бактерий.

Также была проверена бактерицидная эффективность Лизаксин-салфеток в отношении выделенных микроорганизмов. Для этого из салфеток стерильно были вырезаны образцы площадью 1 см<sup>2</sup> и нанесены на поверхность питательного агара, засеянного микроорганизмами, с последующей инкубацией в термостате при 37°C 24 часа. Эффективность действующего вещества салфеток определялась по наличию зоны задержки роста вокруг нанесенного образца. Было обнаружено, что Лизаксин-салфетки эффективны преимущественно в отношении грамположительных бактерий (85% штаммов чувствительны к действующему веществу). Среди грамотрицательных бактерий 45% штаммов показали чувствительность, тогда как 55%, представленных неферментирующими бактериями (*Pseudomonas putida*, *Pseudomonas monteilii*, *Alcaligenes faecalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*), были нечувствительны к действующему веществу салфеток.

**Заключение.** Таким образом, риск возникновения вспышек ИСМП в обследованном ЛПУ может быть обусловлен штаммами *S. aureus*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, циркулирующими как у сотрудников, так и на инвентаре и оборудовании стационара. Показана высокая эффективность современных дезинфекционных средств, применяемых в данном ЛПУ, в отношении микроорганизмов различных таксономических групп, выделенных от сотрудников и с оборудования и инвентаря для предотвращения возникновения вспышек внутрибольничных инфекций.

Литература:

1. Пяташина М. А., Авдоница Л. Г., Нуруллова Н. С., Трифонов В. А., Локоткова А., Мамкеев Э. Х., Сабаева Ф. Н. Особенности заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в Республике Татарстан // Медицинский альманах. – 2015. – № 5 (40). – С. 48–49.
2. Донецкая Э. Г.-А. Клиническая микробиология: Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2011. – 480 с.

УДК: 616.98-036.21/.22:614.4

**БИОЦЕНОТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ЮЖНОЙ ЧАСТИ ПРИКАСПИЙСКОГО ПЕСЧАНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ КАК ОСНОВА ДЛЯ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ**

**Григорьев М. П., Давыдова Н. А., Ермолова Н. В.**

*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Видовым составом мелких млекопитающих, в первую очередь грызунов определяется тип природного очага чумы и, соответственно, особенности эпизоотологического мониторинга этого очага. Приводятся данные о составе биocenотической структуры южной части Прикаспийского песчаного природного очага чумы. Обосновывается регламент эпизоотологического обследования этой территории.

**BIOCENOTIC STRUCTURE OF THE SOUTHERN PART OF THE CASPIAN SANDY NATURAL FOCUS OF PLAGUE AS A BASIS FOR THE EPIZOOTOLOGICAL MONITORING AND NONSPECIFIC PREVENTION**

**Grigorev M. P., Davydova N. A., Ermolova N. V.**

*Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia*

**Abstract.** Species composition of small mammals, primarily rodents is determined by the type of natural focus of plague and, accordingly, especially the epizootological monitoring of this focus. Provides information about the composition of the biocenotic structure of the southern part of the Caspian Sea Sandy natural hotbed of plague. Justified regulation epizootological survey of the territory.

Эпизоотические проявления чумы и связанные с ними эпидемические риски для местного населения обусловлены фенологией основных и второстепенных носителей и переносчиков этой инфекции. Носители определяют тип очага, а их биологические особенности обуславливают алгоритмы эпизоотологического мониторинга и профилактических мероприятий. Основные параметры эпизоотологического обследования: сроки, площадь, очередность и повторность обследования отдельных участков и др. устанавливаются таким образом, чтобы основная обследовательская нагрузка пришлась на временные отрезки и участки, наиболее оптимальные для выявления возбудителя с одной стороны и при этом наиболее эпидемически значимые – с другой.

Видовой состав мелких млекопитающих и их значение в биocenозе природного очага чумы не является константой, эти показатели периодически флуктуируют и, иногда весьма значительно. Изменения связаны как с естественными природными факторами, так и с

деятельностью человека. Всю территорию Предкавказья, заселенную малым сусликом, до 1987 г. относили к Прикаспийскому Северо-Западному степному природному очагу чумы. Однако, начиная с 70-х годов прошлого века вследствие общего потепления климата и антропогенной трансформации первичных природных комплексов Прикаспийской низменности биоценотическая и ландшафтная структуры этой части очага существенно изменились: на роль основных носителей на фоне депрессии малого суслика стали претендовать малые песчанки – так появился Прикаспийский песчаный природный очаг чумы, который с 1992 года начал обследоваться как отдельный «песчаночий» природный очаг. На этой территории последние эпизоотии на малом суслике происходили в 1952–1953 гг. Затем, в течение 23 лет очаг «молчал» и в 1980 г. проявления чумы стали регистрироваться уже преимущественно с участием малых песчанок. Начиная с 80-х годов от полуденной и гребенщиковой песчанок изолировано 71,5% штаммов, 14,7% от домовых мышей и только 10,9% от малых сусликов [1].

В результате наблюдений в течение последних 25 лет был определен наиболее устойчивый видовой состав мелких млекопитающих в южной части Прикаспийского песчаного природного очага чумы. Здесь обитают 26 видов грызунов: малый суслик *Spermophilus (Citellus) pygmaeus*, нутрия – *Myocastor coypus coypus*, соня лесная – *Dyromys nitedula*, мышовка степная – *Sicista subtilis*, тушканчики: большой – *Allactaga jaculus*, малый – *Allactaga elater*; тарбаганчик – *Alactagulus acotium*, мохноногий – *Dipus sagitta*, емуранчик – *Scirtopoda telum*, слепыш гигантский – *Spalax giganteus*, крыса серая – *Rattus norvegicus*, мыши: домовая – *Mus musculus*, мыши рода – *Silvaemus*, полевая – *Apodemus agrarius*, мыш-малютка – *Micromys minutus*, хомячки: обыкновенный – *Cricetus cricetus*, дагестанский (предкавказский) – *Mesocricetus raddei*, серый хомячок – *Cricetulus migratorius*; песчанки: гребенщикова – *Meriones tamariscinus*, полуденная – *Pallasiomis meridianus*; полевки: водяная – *Arvicola terrestris*, обыкновенная – *Microtus arvalis*, общественная – *Microtus socialis*, ондатра – *Ondatra zibethica*, обыкновенная слепушонка – *Ellobius talpinus*.

На млекопитающих паразитирует 28 видов блох. На сусликах – *Neopsylla setosa*, *Citellophilus tesquorum*, *Frontopsylla semura*, *Oropsylla idahoensis ilovaiskii*; на песчанках – *Nosopsyllus laeviceps*, *Stenoponia vlasovi*, *Coptopsylla bairamaliensis*; на тушканчиках – *Mesopsylla hebes*, *Mesopsylla tuschkan*, *Ophthalmopsylla volgensis*; на других грызунах – *Nosopsyllus mokrzecky*, *Nosophyllus consimilis*, *Ctenophthalmus secundus*, *Ctenophthalmus proximus*, *Leptopsylla taschenbergi*, *Leptopsylla segnis*, *Amphipsylla rossica*, *Rhadinopsylla acuminata*, *Ctenophthalmus gigantospalacis*, *Myoxopsylla jordani*, на хищниках – *Pulex irritans*, *Chaetopsylla globiceps*, *Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis*; на ежах – *Echidnophaga gallinacea*, на птицах – *Frontopsylla frontalis*.

В настоящее время к наиболее значимым в биоценотической и, соответственно, паразитарной чумной системе на территории Прикаспийской низменности относятся следующие группы видов:

I группа – малые песчанки (полуденная и гребенщикова).

II группа – мышевидные грызуны (домовая мышь, серый хомячок).

III группа – малый суслик.

Основу полигостальной и поливекторной паразитарной системы этого природного очага, как мы видим, составляют разные по ряду экологических особенностей грызуны. Это круглогодично активные песчанки, синантропные мыши, околосоинантропные хомячки и зимоспящие суслики. Такая паразитарная система способна «выдать» эпизоотию чумы в любое время года и в самом неожиданном биотопе.

Таким образом, в соответствии с биоценотической структурой Прикаспийского песчаного природного очага чумы и, соответственно фенологией составляющих эту структуру видов должно строиться эпизоотологическое обследование. При выявленном видовом составе мелких млекопитающих обследование должно осуществляться в два этапа: весной (апрель, май) и осенью (октябрь, ноябрь). Что же касается проведения неспецифической профилактики, то она однозначно должна проводиться только по

показаниям (наличие эпизоотии) и с использованием метода, соответствующего текущей эпизоотической ситуации [2].

#### Литература:

1. Современное состояние факторов природной очаговости в южной части прикаспийского песчаного природного очага чумы / М.П. Григорьев [и др.] // Актуальные проблемы природно-очаговых зоонозов на Юге России: сб. тр. Всеросс. науч.-практ. конф. с международным участием (г. Грозный, 9–11 окт., 2015 г.). – Грозный. – 2015. – С. 207–210.
2. Современная концепция контроля численности носителей и переносчиков чумы на территории Российской Федерации / А.Н. Матросов, А.А. Кузнецов, Т.В. Князева, Д.Б. Вержуцкий, А.Я. Никитин, Л.С. Немченко, М.П. Григорьев, Б.И. Левченко, О.А. Бобенко, А.Ю. Газиева, В.Б. Коротков // Проблемы особо опасных инфекций. – 2012. – № 2 (112). – С. 16–20. – Библиогр.: 38 рус.

УДК: 616.9–022.369

### **ОСОБЕННОСТИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ИНФЕКЦИЯМИ, СВЯЗАННЫМИ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ СМОЛЕНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Егоричева<sup>1</sup> С. Д., Авчинников<sup>1</sup> А. В., Якушева<sup>2</sup> М. В., Рогутский<sup>2</sup> С. В.,  
Авчинникова<sup>1</sup> Д. А., Захарова<sup>2</sup> Л. А.**

*<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
Смоленск, Россия*

*<sup>2</sup>Управление Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия  
человека по Смоленской области, Смоленск, Россия*

**Аннотация.** Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) остаются одной из актуальных проблем современной медицины, как в Российской Федерации, так и за рубежом. Официальная величина показателя заболеваемости ИСМП в лечебных учреждениях Смоленской области составляет 0,1–0,3%, что не отражает реального уровня распространенности данной группы инфекций.

В структуре заболеваемости ИСМП по месту регистрации за изучаемый период преобладали акушерские и хирургические стационары, а также амбулаторно-поликлинические учреждения. ИСМП были представлены в основном следующими нозологическими формами: гнойно-септическими инфекциями новорожденных и родильниц, послеоперационными и постинъекционными инфекциями, пневмониями и острыми кишечными инфекциями.

Максимальный удельный вес ИСМП за анализируемый период приходится на акушерские стационары – 25,0÷53,6%. В структуре заболеваемости ИСМП новорожденных преобладали: конъюнктивит, омфалит, пиодермия, сепсис; в структуре родильниц – послеродовые эндометриты. Многократное превышение числа случаев внутриутробной инфекции над количеством случаев гнойно-септических инфекций новорождённых свидетельствует о возможном сокрытии ИСМП новорождённых под диагнозом «внутриутробная инфекция».

Выборочное исследование в 2 акушерских стационарах г. Смоленска позволило установить реальную величину показателя новорожденных и родильниц. Сравнительный анализ фактических и официальных данных по заболеваемости ИСМП родильниц выявил, что среднее расхождение этих показателей за анализируемый период достоверно составило 18,0±3,24% (p<0,01).

Результаты исследования свидетельствуют о недоучете заболеваемости ИСМП в лечебно-профилактических учреждениях области. Необходимо совершенствование системы эпидемиологического надзора в отношении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

## THE INCIDENCE OF HEALTH CARE ASSOCIATED INFECTIONS IN MEDICAL INSTITUTIONS OF THE SMOLENSK REGION

Egoricheva<sup>1</sup> S. D., Avchinnikov<sup>1</sup> A. V., Yakusheva<sup>2</sup> M. V., Rogutsky<sup>2</sup> S. V.,  
Avchinnikova<sup>1</sup> D. A., Zaharova<sup>2</sup> L. A.

<sup>1</sup>Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

<sup>2</sup>Office of the Federal Service for Consumer Rights Protection and Human Welfare in the Smolensk Region, Smolensk, Russia

**Abstract.** Health-care associated infections (HCAI) remains one of the urgent problems of modern medicine, both in the Russian Federation and abroad. The official value of the incidence rate of HCAI in medical institutions of the Smolensk region is 0.1-0.3, which does not reflect the real level of prevalence of this group of infections.

Obstetric and surgical hospitals, as well as outpatient clinics, prevailed in the structure of the incidence of HCAI at the place of registration for the study period. HCAI were mainly represented by the following nosological forms: purulent-septic infections of newborns and puerperas, postoperative and post-injection infections, pneumonia, and acute intestinal infections.

The maximum specific weight of the HCAI is in obstetric hospitals – 25.0÷53.6%. In the structure of the incidence of newborn infantile cerebral hypertension, conjunctivitis, omphalitis, pyoderma, sepsis prevailed; in the structure of puerperas – postpartum endometritis. Repeatedly exceeding the number of cases of intrauterine infection over the number of cases of purulent-septic infections of newborns indicates a possible concealment of HCAI of newborns under the diagnosis «intrauterine infection».

A selective study in 2 obstetric hospitals in the city of Smolensk allowed us to establish the real value of the indicator of newborns and puerperas. A comparative analysis of actual and official data on the incidence of HCAI of puerperas revealed that the average discrepancy between these indicators for the analyzed period was reliably 18.0±3.24 (p <0.01).

The results of the study indicate the underestimation of the incidence of HCAI in medical institutions of the region. There is a need to improve epidemiological surveillance of health-care associated infections.

**Актуальность.** Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) остаются одной из актуальных проблем современного здравоохранения. Эксперты Всемирной организации здравоохранения считают, что данная группа инфекций поражает 5–10% пациентов, находящихся в стационарах, и занимает десятое место в ряду причин смертности населения. Пациенты с ИСМП находятся в стационаре в 2–3 раза дольше, в среднем на 10 дней задерживается их выписка, в 3–4 раза возрастает стоимость лечения и в 5–7 раз – риск летального исхода. По данным официальной статистики в РФ ежегодно регистрируется от 25 до 30 тысяч случаев ИСМП, однако, по мнению ведущих российских эпидемиологов реальное их количество составляет не менее 2,5 млн случаев [1]. Актуальность проблемы ИСМП в лечебных учреждениях подтверждается примерами социального и экономического ущерба. Так в США переносят ИСМП более 2 млн пациентов, из них ежегодно погибает 88 тысяч, экономический ущерб составляет не менее 55 миллиардов долларов. В Евросоюзе переносят ИСМП 4,1 млн пациентов, из них ежегодно погибает 111 тысяч, экономический ущерб составляет более 10 миллиардов евро [2]. Общий экономический ущерб, ежегодно причиняемый ИСМП в Российской Федерации, по данным российских экспертов, может достигать 15 млрд рублей [3]. Особую актуальность представляет проблема возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в родовспомогательных учреждениях [4].

**Цель исследования** – изучение распространенности заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в лечебно-профилактических учреждениях Смоленской области.

В процессе исследования решались следующие задачи:

– проанализировать динамику и структуру заболеваемости ИСМП за период 2014–2018 гг. в лечебно-профилактических учреждениях Смоленской области;

– на примере акушерских стационаров Смоленской области изучить этиологическую структуру заболеваемости ИСМП родильниц и новорожденных.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на основе анализа материалов Управления Роспотребнадзора по Смоленской области, посвященных контролю ИСМП. Для изучения уровня и структуры заболеваемости ИСМП пациентов лечебно-профилактических учреждений были использованы данные санитарной статистики, унифицированные отчетные формы и материалы за 2014–2018 гг.

Этиологическую структуру ИСМП в акушерских стационарах оценивали по результатам анализа историй родов и историй развития новорожденных, а также по спектру микроорганизмов, выделенных из патологических очагов у новорожденных и родильниц.

Статистический анализ данных проводили с помощью пакета программ Statistica 7.0 (StatSoft, USA). Для количественных данных рассчитывали среднее значение ( $M$ ), ошибку среднего ( $m$ ) и среднее квадратичное отклонение ( $\sigma$ ). Для вычисления значимых различий между двумя независимыми группами использовали  $t$ -критерий Стьюдента с учетом условия о нормальном распределении показателей в группах. При отклонении гипотезы о нормальном распределении исследуемых показателей для анализа различий в двух группах использовали критерий Манна-Уитни ( $U$ ) и критерий  $\chi^2$ . Различия результатов считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Проведенный нами анализ распространенности ИСМП показал, что на протяжении 2014–2018 гг. в лечебно-профилактических учреждениях Смоленской области регистрировалось в количестве 16÷37 случаев ИСМП. Вспышечная и групповая заболеваемость не регистрировалась. За анализируемый временной период отмечен ежегодный рост абсолютного числа выявленных случаев ИСМП. Так, в 2018 г. зарегистрировано 37 случаев ИСМП, что на 24,9% больше, чем в 2017 г. В структуре ИСМП определялись следующие нозологические формы: гнойно-септические инфекции (ГСИ) новорожденных, ГСИ родильниц, послеоперационные и постинъекционные инфекции, пневмонии и острые кишечные инфекции. В среднем, величина показателя заболеваемости ИСМП стационарных больных на 1000 пролеченных в стационарах Смоленской области составила 0,1–0,3, что в 400–600 раз ниже, чем в аналогичных стационарах наиболее развитых стран мира. Отсутствие регистрации заболеваний инфекциями мочевыводящих путей, вирусными гепатитами, ОРВИ и другими инфекциями, наиболее часто поражающими пациентов стационаров в странах с высоким уровнем здравоохранения – свидетельствует о неудовлетворительном выявлении и (или) учете ИСМП.

В структуре заболеваемости ИСМП по месту регистрации в динамике за изучаемый период преобладали акушерские и хирургические стационары, а также амбулаторно-поликлинические учреждения.

Так, наиболее высокий показатель заболеваемости ИСМП зарегистрирован в 2017 г. в акушерских стационарах – 53,6% от общего числа случаев. За 2018 г. среди новорожденных зарегистрировано 318 случаев внутриутробных инфекций, что на 23% больше, чем в 2017 г.

Соотношение числа гнойно-септических к внутриутробным инфекциям новорожденных в среднем по области составило 1:45. Показательно, что в 2017 г. это отношение по Российской Федерации было на уровне 1:9,5.

Многokратное превышение числа случаев внутриутробной инфекции над количеством случаев гнойно-септических инфекций новорожденных свидетельствует о возможном сокрытии ИСМП новорожденных под диагнозом «внутриутробная инфекция».

Изучение структуры заболеваемости ИСМП новорожденных в динамике позволило выявить наиболее распространенные нозологические формы гнойно-септических инфекций: конъюнктивит, омфалит, пиодермия, сепсис.

Установлена структура ИСМП в акушерских стационарах: у новорожденных доминировали конъюнктивиты (83,8%) и пиодермии (7,5%); у родильниц преобладали послеродовые эндометриты (80,6%) и послеоперационные инфильтраты (5,5%). Выборочное исследование в 2 акушерских стационарах г. Смоленска позволило установить реальную

величину показателя заболеваемости новорожденных и родильниц. Заболеваемость ИСМП новорожденных регистрировалась на уровне 7,1÷13,9%, родильниц – на уровне 1,3÷3,6%. Сравнительный анализ фактических и официальных данных по заболеваемости ИСМП родильниц выявил, что среднее расхождение этих показателей за анализируемый период достоверно составило 18,0±3,24% ( $p<0,01$ ).

В этиологической структуре ИСМП новорожденных и родильниц ведущее место занимал *S. aureus* (40,1%). Грамотрицательные возбудители встречались значительно реже, составив суммарно 7,9%, и были представлены микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae*. В 50% случаев этиология ИСМП оставалась нерасшифрованной.

**Заключение.** Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о не полном учете заболеваемости ИСМП в лечебно-профилактических учреждениях области. Выявлены проблемы в организации микробиологического мониторинга за данной группой инфекций в целом, и в родовспомогательных учреждениях – в частности. Необходимо совершенствование системы эпидемиологического надзора в отношении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

#### Литература:

1. Покровский В.И., Акимкин В.Г., Брико Н.И., Фельдблюм И.В. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. – Н. Новгород: Ремедиум Приволжье, 2012. – 84 с.
2. Акимкин В.Г. Актуальные направления научных исследований в области неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи // Поликлиника. – 2014. – № 6. – С. 6–9.
3. Коза Н.М. Инфекции, связанных с оказанием медицинской помощи. Эпидемиология и профилактика // Пермский медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 134–143.
4. Егоричева С.Д., Авчинников А.В., Мокроусов И.В. Внутрибольничные инфекции в родовспомогательных учреждениях: этиология, эпидемиология и профилактика (обзор) // Эфферентная терапия. – 2005. – Т. 11. – № 5. – С. 63-69.

УДК: 614.446.9

## **ОЦЕНКА УГРОЗЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЧРЕЗВЫЧАЙНОЙ СИТУАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА ПРИ ЗАНОСЕ НА ТЕРРИТОРИЮ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

**Ефременко Д. В., Ефременко В. И.**

*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Обосновывается необходимость дифференциации инфекций при обеспечении санитарной охраны территорий на представляющие индивидуальную и популяционную опасности с учетом территориального и временного риска распространения при их заносе и кластеризация последних по угрозе возникновения чрезвычайной ситуации биологического характера при эпидемических проявлениях, что позволит оптимизировать алгоритмы реагирования и порядок организации противоэпидемических мероприятий. Предложен новый относительный критерий «ориентирное число заражений от одного источника», отражающий потенциальную способность возбудителя передаваться внутри человеческой популяции. Проведена оценка риска распространения и угрозы возникновения чрезвычайной ситуации при заносе на территорию Российской Федерации некоторых представляющих популяционную опасность инфекций: чумы (в легочной и бубонной формах), холеры, особо опасных ортопоксвирусных и коронавирусных инфекций, геморрагических лихорадок с ведущим контактным механизмом передачи возбудителя, полиомиелита.



# ASSESSMENT OF THREAT OF EMERGENCY SITUATION OF BIOLOGICAL CHARACTER AT THE DRIFT ON THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION OF DANGEROUS INFECTIONS

Efremenko D. V., Efremenko V. I.

*Federal State Institution of Public Health «Stavropol Plague Control Research Institute» of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia*

**Abstract.** Differentiation of infections when ensuring sanitary protection of territories on the constituting individual and population danger taking into account the territorial and temporary risk of distribution at their drift is proved and the clustering of the last on threat of emergence of emergency situation of biological character at epidemic manifestations that will allow to optimize algorithms of reaction and the order of the organization of antiepidemic actions. The new relative criterion «orient number of infections from one source» reflecting potential ability of the activator to be transferred in human population is offered. The assessment of risk of distribution and threat of emergence of emergency situation at the drift on the territory of the Russian Federation of some infections constituting population danger is carried out: plague (in pulmonary and bubonic forms), cholera, especially dangerous orthopoxviral and coronaviral infections, hemorrhagic fevers with contact mechanism of transfer, poliomyelitis.

**Введение.** Существует множество примеров экспансии инфекционных болезней на новые территории, в том числе и за последние годы [1, 2]. В рамках обеспечения биологической безопасности и профилактики чрезвычайных ситуаций (ЧС) определяющее значение имеет вероятность распространения инфекции. При отсутствии условий для устойчивой передачи возбудителя отдельные заносные случаи, в том числе особо опасных инфекций (ООИ), не представляют серьезной угрозы для населения и не должны оцениваться как ЧС [3]. Градация инфекционных болезней по риску распространения для определенной территории и времени года необходима, и наряду с оперативной диагностикой будет способствовать организации адекватных противоэпидемических мероприятий.

**Цель** – разработка подхода к дифференциации опасных инфекций с учетом риска их распространения при выявлении больного, оценка потенциальной угрозы возникновения ЧС биологического характера при заносе на территорию РФ некоторых опасных болезней.

**Материалы и методы.** Дифференциацию нозологий с использованием критерия «ориентирное число заражений от одного источника» (ОЧЗ) проводили на основании изучения научных и отчетных материалов, в соответствии с учением об эпидемическом процессе и механизмах передачи возбудителей [4, 5], а также с учетом ретроспективного анализа данных о проявлениях эпидемического процесса различных болезней, разделяя их по риску распространения на три группы: высокого риска, среднего и низкого. Кластеризацию инфекций по потенциальной способности вызывать ЧС осуществляли, используя пятиуровневую систему: максимальная угроза, высокая, средняя, низкая и минимальная.

**Результаты и обсуждение.** На интенсивность проявления эпидемического процесса антропонозов влияют условия, характеризующие определенный социум (санитарно-гигиенические, культурно-бытовые, уровень охвата населения вакцинацией и т. д.). Потенциал передачи возбудителя от человека к человеку истинных эндемий, к которым относятся зооантропонозы, определяется совокупностью природных и социальных условий, а также может зависеть от формы заболевания (например, чума в легочной форме имеет объективно больший потенциал к распространению, чем чума в бубонной форме). Для трансмиссивных инфекций в этом отношении решающее значение имеет природный фактор – наличие векторов и климатические условия. Больные зоонозами и сапронозами не представляют значительной опасности для окружающих, так как исключена или крайне мала (для отдельных нозологий) вероятность передачи возбудителя от человека к человеку.

Таким образом, в соответствии с риском распространения при появлении больного человека инфекции целесообразно подразделить на представляющие индивидуальную и популяционную опасности. При этом имеющиеся региональные отличия по факторам эпидемического процесса определяют актуальность субъектного подхода на основании территориального риска, однако можно выделить и тенденции общероссийского масштаба. В частности, экзотические арбовирусные лихорадки – желтая, денге, Чикунгунья, как и некоторые другие трансмиссивные болезни, в настоящее время имеют практически нулевой потенциал к распространению на территории Российской Федерации, соответственно они представляют только индивидуальную опасность, и маловероятно, что случаи их заноса могут привести к ЧС биологического характера.

Сезонный фактор и присутствие необходимых биотических элементов имеют определяющее значение для перспектив распространения не только заносных, но и местных трансмиссивных инфекций. К нозологиям, представляющим вне зависимости от территории и времени года популяционную опасность, относятся болезни, возбудители которых могут передаваться от человека к человеку посредством аэрогенного, фекально-орального, контактного и гемоконтактного механизмов. При этом более высоким эпидемическим потенциалом обладают патогены, к которым у людей имеется высокая естественная восприимчивость, с воздушно-капельным, пищевым и водным путями передачи [3].

Для ранжирования инфекций, представляющих популяционную опасность, по риску распространения предложен новый критерий ОЧЗ, являющийся величиной относительной, а не абсолютной, и отражающий только потенциальную способность возбудителя передаваться внутри человеческой популяции. При определении показателя ОЧЗ решающее влияние имеет видовая восприимчивость человека к возбудителю и механизм передачи патогена. Нами проведена дифференцировка некоторых нозологий в соответствии с критерием ОЧЗ по риску распространения и угрозе возникновения ЧС при заносе, возбудители которых обладают межтерриториальным и всепогодным эпидемическим потенциалом (таблица).

Таким образом, максимальную опасность для населения вне зависимости от времени года и территории представляет возможный занос натуральной оспы в случае возвращения этой болезни, чумы в легочной форме и ТОРС, то есть ООИ с аэрогенным механизмом передачи. Полиомиелит, несмотря на высокую контагиозность инфекции, на тех территориях, где процент охвата детей профилактическими прививками не ниже нормативов ВОЗ, что в соответствии с официальной информацией характерно для всех субъектов РФ, не имеет такого потенциала для распространения. Однако в случае снижения иммунной прослойки, прибытия в регион детей из стран с низким показателем охвата прививками против полиомиелита, что наблюдается в ряде государств постсоветского пространства, эпидемиологические угрозы по инфекции для субъектов РФ возрастут. Геморрагические лихорадки с ведущим контактным механизмом передачи, возбудители которых относятся к фило- и аренавирусам, имеют средний риск распространения. Однако лихорадки Эбола и Марбург из-за тяжести клинического течения и неблагоприятного прогноза в случае заболевания представляют высокую угрозу формирования условий для возникновения ЧС. Больные оспой обезьян, БВРС и бубонной формой чумы опасны в основном для членов семьи и медицинского персонала, возможность развития ЧС при заносе данных нозологий невелика. Соответствующий потенциал инфекций целесообразно учитывать при организации работы санитарно-карантинных пунктов пропуска, лечебно-профилактических организаций и обеспечении противоэпидемических мероприятий, в том числе в отношении контактных лиц. Применение критерия ОЧЗ, прогнозирование с его помощью угрозы возникновения ЧС и планирование или корректировку противоэпидемических мероприятий необходимо осуществлять после подтверждения диагноза (на основании клинических, эпидемиологических и/или лабораторных данных в соответствии со схемой определения случая заболевания для конкретной нозологической формы).

**Таблица.** Оценка потенциальной угрозы возникновения ЧС биологического характера при заносе на территорию Российской Федерации опасных инфекций, представляющих популяционную опасность

Нозологическая форма	Риск распространения инфекции	«Ориентирное число заражений от одного источника» (потенциал)	Контингенты риска	Угроза ЧС биологического характера
чума (легочная форма)	высокий	более 5	лица, имевшие контакт с больным	максимальная
чума (бубонная форма)	низкий	1	лица, имевшие тесный контакт с больным, его одеждой; медицинский персонал	низкая
холера	высокий	более 5	лица, имевшие прямой или непрямой контакт с инфицированным; лица, не имевшие контакта с инфицированным, пользовавшиеся одним туалетом, купавшиеся в естественных водоемах поблизости от выхода сточных вод (летний сезон)	высокая
геморрагические лихорадки	Эбола	средний	лица, имевшие тесный контакт с больным, его одеждой; медицинский персонал	высокая
	Марбург			
	Ласса			средняя
	Аргентинская			
	Боливийская			
	Венесуэльская			
Бразильская				
натуральная оспа	высокий	более 5	не привитые лица, имевшие контакт с больным	максимальная
оспа обезьян	низкий	1	лица, имевшие тесный контакт с больным; медицинский персонал	низкая
тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС)	высокий	более 5	лица, имевшие контакт с больным	максимальная
Ближневосточный респираторный синдром (БВРС)	низкий	1	лица, имевшие тесный контакт с больным; медицинский персонал	низкая
полиомиелит	средний*	более 5	не привитые дети (в основном до 5 лет), имевшие прямой или непрямой контакт с инфицированным	средняя*

**Примечание:** \* – с учетом высокой иммунной прослойки населения РФ к полиомиелиту.

**Заключение.** Таким же способом можно провести дифференцировку представляющих популяционную опасность болезней, возбудители которых не входят в группу ООИ. При этом, даже несмотря на высокий риск распространения отдельных нозологий (как правило, в определенное время года), угроза возникновения ЧС биологического характера будет оставаться низкой, а для большинства из них минимальной (ЧС возможна только при реализации самых неблагоприятных сценариев эпидемической заболеваемости).

Разделение инфекций на представляющие индивидуальную и популяционную опасности на основании территориального и сезонного риска распространения и дифференциация последних по угрозе возникновения ЧС биологического характера при эпидемических проявлениях с использованием разработанного критерия ОЧЗ позволят дополнить порядок организации противоэпидемических мероприятий при выявлении больного и оптимизировать алгоритмы реагирования в рамках обеспечения санитарной охраны территории РФ.

Литература:

1. Эпидемиологические и клинические особенности болезни, вызванной вирусом Эбола, в Гвинейской Республике. Малеев В.В., Tolno F., Kononou K.V., Sow T.I., Ицков Я.Ю., Демина Ю.В., Левковский А.Е., Коломоец Е.В., Ковалев Г.А., Хорошилов В.Ю., Омариев З.М. Проблемы особо опасных инфекций. 2015. № 3. С. 27–32.
2. Лихорадка Зика: состояние проблемы на современном этапе. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков А.В., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Бородай Н.В., Шпак И.М., Куличенко А.Н., Михеев В.Н., Шипулин А.Г. Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 1. С. 5–12.
3. Ефременко Д.В. Биологическая безопасность массовых мероприятий: особенности лабораторной диагностики. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018. № 1. С. 45–52.
4. Громашевский Л.В. Общая эпидемиология. М.: Медицина, 1965. 290 с.
5. Зуева Л.П., Яфаев Р.Х. Эпидемиология: Учебник. СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2005. 752 с.

УДК: 616.022.579.862(470.4)

**ОСОБЕННОСТИ ПНЕВМОКОККОВОГО БАКТЕРИОНОСИТЕЛЬСТВА У ДЕТЕЙ,  
ПОСЕЩАЮЩИХ ДЕТСКИЕ ДОШКОЛЬНЫЕ УЧРЕЖДЕНИЯ  
В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН**

**Зарипова<sup>1,2</sup> А. З., Баязитова<sup>1,2</sup> Л. Т., Тюпкина<sup>1</sup> О. Ф., Чазова<sup>1</sup> Т. А., Тюрин<sup>1,2</sup> Ю. А.,  
Исаева<sup>1,2</sup> Г. Ш.**

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»  
Роспотребнадзора

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

**Аннотация.** Изучение региональных аспектов серотипового пейзажа *S. pneumoniae* является важным условием для оценки эффективности вакцинопрофилактики и коррекции состава вакцинного препарата. В статье представлены результаты исследования по оценке сероэпидемиологии циркулирующих штаммов пневмококков у детей дошкольного возраста. Обследовано 182 ребенка в возрасте от 2 до 7 лет, посещающих детские дошкольные учреждения Республики Татарстан. Анализ серотипового состава пневмококков, циркулирующих у детей Республики Татарстан, показал доминирование «вакцинных» серотипов; появление новых, «невакцинных» серотипов.

## PROPERTIES OF PNEUMOCOCCAL CARRIAGE IN CHILDREN ATTENDING PRESCHOOL INSTITUTIONS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Zaripova<sup>1,2</sup> A. Z., Bayazitova<sup>1,2</sup> L. T., Tupkina<sup>1</sup> O. F., Chazova<sup>1</sup> T. A., Tyurin<sup>1,2</sup> Yu. A., Isaeva<sup>1,2</sup> G. Sh.

<sup>1</sup>Kazan Scientific-Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor

<sup>2</sup>Kazan State Medical University of Health ministry of Russian Federation

**Abstract.** Study of regional aspects of serotype composition *S. pneumoniae* is important condition for performance evaluation of vaccination and composition correction of vaccine preparation. Research results for assessment seroepidemiology of circulating *S. pneumoniae* strains isolated from preschool children are presented in this article. 182 children in aged between 2 to 7 years attending preschool institutions of Tatarstan Republic were examined. Analysis pneumococcal serotyping children of Republic Tatarstan have showed dominance of vaccine serotypes, appearance new of non-vaccine serotypes pneumococcus.

**Введение.** Пневмококковые инфекции (ПИ) являются одной из серьезных проблем современного здравоохранения во многих странах мира [1,2]. Резервуаром и источником возбудителя ПИ в популяции являются больные люди с любой клинической формой, бактерионосители. Дети младшего возраста и пожилые люди относятся к группе высокого риска по ПИ. Высокая восприимчивость детей объясняется тем, что капсульные антигены неиммуногенны у детей в возрасте до 2 лет [3]. Современные представления о особенностях патогенетических механизмов бактерионосительства *S. pneumoniae* у детей не позволяют прогнозировать исход персистенции пневмококка в организме и возможность развития инвазивной пневмококковой инфекции. В настоящее время различают более 97 серотипов пневмококков; при этом показана взаимосвязь вирулентности серотипа и вида пневмококковой инфекции. Показано, что серотиповой состав циркулирующих пневмококков зависит не только от страны, но и от конкретного географического региона [4]. Изучение региональных аспектов серотипового пейзажа *S. pneumoniae* является важным условием для оценки эффективности вакцинопрофилактики и коррекции состава вакцинного препарата.

Наиболее эффективным способом профилактики пневмококковой инфекции является вакцинопрофилактика. Механизм иммунного ответа зависит от вида вакцины: капсулярные полисахаридные антигены стимулируют выработку типоспецифичных антител, которые, в свою очередь, увеличивают эффективность опсонизации, активируют комплементзависимый фагоцитоз и разрушение бактериальной клетки фагоцитирующими клетками. Но необходимо отметить, что возможны изменения в составе циркулирующих носоглоточных штаммов пневмококков в поствакцинальном периоде, а также появление новых, «невакцинных» серотипов и так называемых нетипичных бескапсульных штаммов [5]. Все эти факты диктуют необходимость проведения постоянного мониторинга за биологическими свойствами возбудителя пневмококковой инфекции в детской популяции, поскольку данная среда является резервуаром генов резистентности к антимикробным препаратам.

**Цель исследования:** оценить частоту встречаемости серотипов пневмококков, циркулирующих в носоглотке детей, посещающих детские дошкольные учреждения.

**Материалы и методы.** Биоматериал высевали на плотные питательные среды Columbia agar Base («Conda», Испания) с добавлением 5% крови. Посевы инкубировали в CO<sub>2</sub> – инкубаторе 24 часа. Фенотипическую идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основании морфологических, культуральных данных. Для дифференциальной диагностики использовали оптохиновый тест, лизис в присутствии солей желчи. Для серологической диагностики применяли латекс-агглютинацию «Slidex Pneumo-Kit», («bioMerieux», Франция); постановку реакции Нейфельда с пневмококковой антисывороткой OMNI (SSI Omni serum, Statens Serum Institut). Молекулярное серотипирование штаммов *S. pneumoniae* методом мультиплексной ПЦР (МППЦР) изучалось с использованием праймеров наиболее значимых в эпидемиологическом аспекте серотипов (ООО «Синтол», Россия) [6].

**Результаты.** Проведено микробиологическое исследование микрофлоры носоглотки детей в возрасте 2–7 лет, посещающих детские дошкольные учреждения Республики Татарстан в 2018 г. (n=182). Выполнено определение серотипового состава циркулирующих в носоглотке детей-носителей (n=166). Распределение серотипов в популяции организованных детей в 2018 г. было следующее: наиболее часто встречающимися стали «вакцинные» серотипы – 18 С – 13,2%; 19F – 12,6%, 11А и 14 – по 8,79%, 7F (9%); серотипы 6А/6В и 23F – по 7,8%; серотип 33F (4,8%). Реже выявлялись другие вакцинные серотипы: серотипы 3 и 22F – по 3,6% соответственно; 12F и 19 А – по 1,2%; у 1 ребенка выделен *S. pneumoniae* серотип 10 А (0,6%). Необходимо отметить, что выявлены серотипы, не входящие в состав пневмококковых вакцин пневмококков: 13 культур по результатам молекулярного серотипирования отнесены к серогруппе 35 В; 6 изолятов – к серогруппе 16 F. Также зарегистрированы единичные случаи выделения серотипов 31, 15 А (по 3 изолята), у 1 ребенка – 35F. Результаты распределения «вакцинных» и «невакцинных» серотипов представлены в таблице.

**Таблица.** Распределение штаммов пневмококков по серотипам

Серотип	Абс. / ч, %	Входит в состав ПКВ-7	Входит в состав ПКВ-10	Входит в состав ПКВ-13	Входит в состав Пневмо-23
18 с	22 / 13,2%	+	+	+	+
19F	21 / 12,6%	+	+	+	+
11А	16 / 8,79%	-	-	-	+
14	16 / 8,79%	+	+	+	+
7F	15 / 9%	+	+	+	+
23F	13 / 7,8%	+	+	+	+
6А/6В	13 / 7,8%	-	+	+	+
33F	8 / 4,8%	-	-	-	+
35В	8 / 4,8%	-	-	-	-
3	6 / 3,6%	-	-	+	+
16F	6 / 3,6%	-	-	-	-
22F	6 / 3,6%	-	-	-	+
31	3 / 1,8%	+	+	+	+
15А	2 / 1,64%	-	-	-	-
12F	2 / 1,2%	-	-	-	+
19А	2 / 1,2%	-	-	+	+
10А	1 / 0,6%	-	-	-	+
35F	1 / 0,6%	-	-	-	-
Нетипируемые	4 / 2,4%				

**Заключение.** В 2018 году наиболее часто встречающимися серотипами, персистирующими у «организованных» детей, были серотипы, входящие в состав ПКВ-13. Таким образом, анализ серотипового состава пневмококков, циркулирующих у детей Республики Татарстан, выявил доминирование «вакцинных» серотипов. Колонизация

носоглотки детей невакцированными штаммами пневмококков отмечалась в 12,6% случаев (21 изолят).

Важнейшим этапом инфекционного процесса является первичная колонизация биотопов человека. Необходимо учитывать и тот факт, что группе риска по пневмококковой инфекции принадлежат и пациенты старше 60 лет, в особенности, страдающие хроническими заболеваниями дыхательных путей. По результатам исследователей, в странах, где введена обязательная вакцинация от ПИ и охват прививками детей достигает необходимого уровня (90%), наблюдается снижение заболеваемости ПИ не только среди детского, но, что очень важно, и взрослого населения [7]. Изучение биологических свойств и серотипового состава циркулирующих в популяции детей дошкольного возраста является необходимым условием для разработки мер профилактики пневмококковых инфекций.

#### Литература:

1. Лобзин Ю.В. Серотипы *Streptococcus pneumoniae*, вызывающие ведущие нозологические формы пневмококковых инфекций/ Ю.В. Лобзин, С.В. Сидоренко, С.М. Харит, С.С. Беланов, М.О. Волкова, В.В. Гостев, С.И. Алексеенко, С.И. Петрова, Е.В. Сергеева, И.С. Королева, А.В. Орлов, Е.Я. Фролова //Журнал инфектологии. – 2013. – № 4. – С. 36–42.
2. Simell B.1., Auranen K., Käyhty H., Goldblatt D., Dagan R., O'Brien K.L. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease.// *ExpertRevVaccines*. 2012. V. 11.– № 7. – P. 841–855.
3. Kapatai G, Sheppard C.L., Al-Shahib A., Litt D.J., Underwood A.P. et all. «Whole genome sequencing of *Streptococcus pneumoniae*: development, evaluation and verification of targets for serogroup and serotype prediction using an automated pipeline».// *Peer J*. – 2016. – Sep. 14;4: p. 2477. doi: 10.7717/peerj.2477.
4. Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш., Зарипова А.З., Пяташина М.А., Авдоница Л.Г., Юзлибаева Л.Р. Внебольничные пневмонии пневмококковой этиологии и микробиологические аспекты назофарингеального носительства *Streptococcus pneumoniae* у детей в республике Татарстан. *Инфекция и иммунитет*. 2017, № 3, С. 271–278.
5. Keller LE, Robinson DA, McDaniel LS «Nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae*: Emergence and Pathogenesis». *MBio*. 2016 Mar 22;7(2):e01792. doi: 10.1128/mBio.01792–15.
6. Pai R, Gertz R. E., Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol*. 2006. 44 (1). P. 124–31.
7. Hanage WP, Bishop CJ, Huang SS, Stevenson AE, Pelton SI, Lipsitch M, Finkelstein JA «Carried pneumococci in Massachusetts children: the contribution of clonal expansion and serotype switching» *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Apr;30(4):302–8. doi: 10.1097/INF.0b013e318201a154.

УДК: 616.98-053.2-08(571.12)

### **АДЕНОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ У ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА ГОРОДА ТЮМЕНИ В ПЕРИОД 2016–2018 гг.**

**Зацепина А. О., Плышевский Г. В., Брагина Е. А.**

*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Представлены данные по инфицированию аденовирусами детей дошкольного возраста г. Тюмени за 2016–2018 гг.

### **ADENOVIRUS INFECTION IN PRESCHOOL CHILDREN OF TYUMEN IN THE PERIOD 2016–2018**

**Zatsepina A. O., Plyshevskiy G. V., Bragina E. A.**

*Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russia*

**Abstract.** The article presents data on infection with adenoviruses of preschool children in the city of Tyumen for 2016–2018.

**Введение.** Острые кишечные инфекции занимают одно из ведущих мест среди инфекционной патологии во всем мире, уступая по частоте ОРЗ и гриппу. Ежегодно только на территории России регистрируется около полумиллиона диарейных заболеваний [1]. В последние годы повсеместно отмечается доминирование вирусных агентов в формировании заболеваемости ОКИ (около 70% диарей вызываются ими) [2]. Аденовирусы семейства *Adenoviridae* впервые были изолированы в 1950-х годах при длительном культивировании *in vitro* миндалин и аденоидов детей. Как оказалось, первичные клеточные культуры со временем начинают самопроизвольно дегенерировать, что в дальнейшем, чаще всего, является причиной бессимптомной инфекции дыхательных путей, которая вызывает цитоллиз в этих тканях. Инкубационный период при данном заболевании составляет 3–10 дней. Манифестирующим синдромом является водянистая диарея – у 97% пациентов, рвота – в 79% случаев, периодически отмечается невысокая лихорадка и респираторные симптомы [3]. В последние годы среди кишечных заболеваний имеет место тенденция снижения доли ротавирусной инфекции за счет увеличения доли других вирусных кишечных инфекций – аденовирусной [4].

**Цель работы:** выявление частоты положительных реакций к антигену возбудителя аденовирусной инфекцией среди детей дошкольного возраста.

**Материалы и методы.** На наличие антигена аденовирусной инфекции было исследовано 273 пробы фекалий в период с 2016–2018 гг. Материал поступал в течение года в вирусологическую лабораторию ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора из поликлиник г. Тюмени. Исследование проводили иммуноферментным методом, наборами «Аденовирус-антиген ИФА Бест» (производство ЗАО Вектор-Бест, г. Новосибирск).

**Результаты и обсуждение.** Клинический материал был направлен в вирусологическую лабораторию на выявление антигенов ротавирусной, норовирусной и аденовирусной инфекций. С целью выявления частоты антигена к возбудителю аденовирусной инфекции среди детей от 1–6 лет анализировались положительные пробы в биоматериале. В 2016 году наибольший процент положительных проб пришелся на детей возрастной группы от 3–6 лет, и составил  $22,5 \pm 6,6\%$ . Данная возрастная группа детей ведет наиболее активную социальную жизнь (посещение детских садов и других массовых мероприятий), что приводит к распространению и заражению вирусной инфекцией. Дети возрастной группы 1–2 года жизни подвергались инфицированию в полтора раза реже –  $18,8 \pm 6,9\%$ . В 2017 году наблюдался рост частоты сероположительных реакций на антиген аденовирусной инфекции среди детей от 1–2 года жизни –  $27,3 \pm 6,9\%$ , в то время как у детей возрастной группы 3–6 лет процент положительных проб снижался –  $11,9 \pm 4,9\%$ . В 2018 году выявление антигена аденовирусной инфекции у детей возраста 1–2 года снижается, по сравнению с предыдущим годом, и составило  $20,4 \pm 5,5\%$ , тогда как показатель положительных проб у детей возрастной группы 3–6 лет остался на прежнем уровне –  $12,0 \pm 3,6\%$ . За периоды наблюдения процент положительных проб у детей от 1–6 лет снижается и составил за 2016 год –  $20,8 \pm 4,8\%$ , за 2017 год –  $17,2 \pm 4,7\%$  и за 2018 год –  $15,3 \pm 3,1\%$  соответственно. Снижение процента положительных проб у детей возрастной группы 3–6 лет в 2017–2018 годах является, возможно, следствием выработки иммунного ответа у переболевших детей в первые годы жизни.

**Таблица.** Результаты зараженности аденовирусной инфекцией населения г. Тюмени за 2016–2018 гг.

Админ-ный район / Возрастные категории	Всего исследовано проб			Количество положительных проб			Процент от общего количества		
	2016	2017	2018	2016	2017	2018	2016	2017	2018
1–2 года	32	22	54	6	6	11	$18,8 \pm 6,9$	$27,3 \pm 6,9$	$20,4 \pm 5,5$
3–6 лет	40	42	83	9	5	10	$22,5 \pm 6,6$	$11,9 \pm 4,9$	$12,0 \pm 3,6$
Итого	72	64	137	15	11	21	$20,8 \pm 4,8$	$17,2 \pm 4,7$	$15,3 \pm 3,1$



### Литература:

1. Учайкин В.Ф. Руководство по инфекционным болезням у детей. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – С. 175
2. Горелов А.В., Милютин П.М., Усенко Д.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению ОКИ у детей. – М., 2005. – С. 84.
3. Горелов А.В., Козина Г.А., Дорошина Е.А. Особенности клиники острых кишечных инфекций аденовирусной этиологии у детей // Инфекционные болезни. – № 6. – С. 1–6.
4. Тхакушинова Н.Х. Роль возбудителей вирусных гастроэнтеритов в формировании патологии желудочно-кишечного тракта у детей // Детские инфекции. – Прил. Материалы XV Конгресса детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (Москва, 8–10 декабря 2016). – С. 48–49.

УДК: 578.76, 614.4

## **АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ГЛОБАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ИСКОРЕНЕНИЯ ПОЛИОМИЕЛИТА. ПРОБЛЕМЫ ПОСТСЕРТИФИКАЦИОННОГО ЭТАПА (2003–2018 гг.) В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Иванова<sup>1,3</sup> О. Е., Морозова<sup>2</sup> Н. С., Еремеева<sup>1</sup> Т. П., Михайлова<sup>2</sup> Ю. М., Шакарян<sup>1,4</sup> А. К.,  
Козловская<sup>1,3</sup> Л. И.**

<sup>1</sup>*ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», Москва, Россия*

<sup>2</sup>*ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия*

<sup>4</sup>*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия*

**Аннотация.** Представлены актуальный статус Глобальной программы искоренения полиомиелита и основные задачи пред- и постсертификационного периода. Приведены основные проблемы, с которыми столкнулась программа искоренения полиомиелита Российской Федерации в период после сертификации Европейского региона ВОЗ (2003–2018 гг.): завоз дикого полиовируса из эндемичного региона, вакцинородственные полиовирусы, случаи полиомиелита, связанные с применением живой полиовирусной вакцины.

## **CURRENT ISSUES OF THE GLOBAL POLIO ERADICATION PROGRAM. PROBLEMS OF THE POST-CERTIFICATION PERIOD (2003–2018) IN THE RUSSIAN FEDERATION**

**Ivanova<sup>1,3</sup> O. E., Morozova<sup>2</sup> N. S., Eremeeva<sup>1</sup> T. P., Mikhailova<sup>2</sup> Yu. M.,  
Shakaryan<sup>1,4</sup> A. K., Kozlovskaya<sup>1,3</sup> L. I.**

<sup>1</sup>*Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products named after M.P. Chumakov of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia*

<sup>4</sup>*Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia*

**Abstract.** The current status of the Global Polio Eradication Program and the main objectives of the pre- and post-certification period are presented. The main problems encountered by the program of polio eradication of Russian Federation in the period after the certification of the WHO European Region (2003–2018) are: importation of wild poliovirus from endemic region, vaccine-derived polioviruses, cases of poliomyelitis associated with the continued use of live poliovirus vaccine.

Создание в середине XX века эффективных вакцин против полиомиелита – инактивированной (ИПВ) и живой оральной из штаммов *Sabin* (ОПВ) сделало возможным реализацию идеи ликвидации полиомиелита. С 1988 г. Глобальная программа ВОЗ по искоренению полиомиелита достигла выдающихся успехов: кардинально снижена заболеваемость полиомиелитом, вызванным диким полиовирусом (ПВ); число эндемичных стран сократилось до 3-х; циркуляция дикого ПВ прекращена в 4-х регионах мира; искоренен дикий ПВ типа 2 [1], с 2012 г. не выявляется дикий ПВ типа 3 [2]. В этих условиях известные негативные свойства трехвалентной ОПВ из штаммов *Sabin* сделали ее дальнейшее применение проблематичным. В 2016 г. завершен глобальный переход к применению бивалентной ОПВ из типов ПВ 1 и 3. После глобальной сертификации искоренения полиомиелита использование ОПВ будет прекращено [3]. Необходимым условием сохранения эпидемиологического благополучия в пред- и постсертификационный период является поддержание высокого уровня коллективного иммунитета к полиомиелиту, эффективного надзора за циркуляцией полиовируса, контейнмент всех полиовирусов. Сохраняющийся глобальный дефицит ИПВ несет значительную угрозу эпидемиологическому благополучию в мире. Разработка нового поколения безопасных и эффективных вакцин, в том числе новой ОПВ, совершенствование способов введения ИПВ, разработка противовирусных препаратов, проведение традиционного надзора за случаями ОВП, дополненного надзором за окружающей средой, надзором за лицами с первичными иммунодефицитами, необходимы для преодоления операционных и биологических рисков.

С 2002 г. Россия является «страной, свободной от полиомиелита» [4]. Сохранение этого статуса гарантировано стабильно высоким (97–99%) охватом вакцинацией против полиомиелита и эффективным эпидемиологическим надзором за заболеваниями с синдромом ОВП. Однако в постсертификационный период (2003–2018 гг.) Россия столкнулась с рядом проблем: завоз дикого полиовируса (дПВ) из эндемичного региона, вакцинородственные полиовирусы (ВРПВ), случаи полиомиелита, связанные с применением живой полиовирусной вакцины – ВАПП.

В 2010 году Россия была вовлечена в крупномасштабную вспышку полиомиелита в Центральной Азии, вызванную дПВ типа 1, с эпицентром в Таджикистане [5]. Пострадали как вновь прибывшие мигранты из стран, граничащих с Таджикистаном, так и не привитые граждане России. Для прерывания вспышки потребовались масштабные вакцинальные мероприятия [6]. Показано, что передача вируса возможна в стране с высоким уровнем охвата вакцинацией против полиомиелита.

Рутинный эпиднадзор за ОВП и специальные исследования лиц с первичными иммунодефицитами не выявили ВРПВ в России [7, 8, 9]. В то же время ВРПВ типа 2 были обнаружены в результате проведения дополнительных видов надзора за ПВ (исследование объектов окружающей среды, обследование детей из групп риска). Сильно дивергировавший от вакцинного предка ВРПВ типа 2 был выделен из сточных вод г. Москвы в 2015 г. Степень дивергенции вируса (около 20%) свидетельствует, скорее всего, о его длительной (>15 лет) экскреции иммунокомпromетированным человеком. В 2016 году после глобального перехода от трехвалентной ОПВ к бивалентной от двух здоровых непривитых детей из разных регионов России были выделены ВРПВ типа 2. Их генетическое родство подтверждалось происхождением от штамма *Sabin* типа 2 и наличием общих нуклеотидных замен. Эпидемиологическое расследование выявило контакты детей в одном домохозяйстве. Это «событие» в период после прекращения использования ПВ типа 2 в ОПВ потребовало оценки риска распространения, широкомасштабных мероприятий по усилению надзора и вакцинации [10].

В течение 2003–2017 гг. в России зарегистрировано 76 случаев ВАПП [11]. Впервые описан кластер случаев ВАПП в детском доме: в 2010 г. зарегистрировано четыре случая ВАПП у непривитых детей, вызванных слабо дивергировавшим *Sabin-like* ПВ типа 2 [12]. Полиовирусы, выделенные от пациентов и их контактов, продемонстрировали значительную

гетерогенность, быструю и неравномерную эволюцию всего генома и его частей, по-видимому, из-за обширных межличностных контактов в небольшом замкнутом сообществе, эффекту «бутылочного горлышка» и рекомбинации. Выявлено очень высокое соотношение заболеваемость/инфекция (очевидно, превышающее даже то, что сообщалось для диких ПВ. Это наблюдение стирает границы между *Sabin-like* ПВ и ВРПВ в эпидемиологическом отношении. Внедрение инактивированной полиовирусной вакцины в Национальный календарь вакцинации в 2008 году не привело к полной ликвидации ВАПП, но изменило соотношение случаев заболевания у вакцинированных и не вакцинированных: среди 26 случаев ВАПП, зарегистрированных в 2008–2017 гг., преобладали случаи у не привитых детей.

**Заключение.** Опыт Российской Федерации показывает, что для сохранения эпидемиологического благополучия по полиомиелиту необходимо поддержание высокого уровня охвата иммунизацией, продолжение традиционного надзора за полиовирусами (надзор за случаями ОВП), расширение дополнительных видов надзора. Использование ОПВ в любой формуляции в любой схеме вакцинации сохраняет риск возникновения ВРПВ и ВАПП.

#### Литература:

1. WHO. Transmission of wild poliovirus type 2 – apparent global interruption // Weekly Epidemiological Record. 2001. 76 (13). P. 95–97
2. CDC. Possible eradication of wild poliovirus type 3–worldwide, 2012 // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2014. 63. P. 1059–1063.
3. WHO. Polio Post–Certification Strategy. A risk mitigation strategy for a polio–free world // World Health Organization/ 2018. Available at: <http://polioeradication.org/polio–today/preparing–for–a–polio–free–world/transition–planning/polio–post–certification–strategy/>
4. CDC. Certification of poliomyelitis eradication – European Region // Morbid Mortal Wkly Rep. 2002. 51. P. 572–574.
5. Yakovenko M.L., Gmyl A.P., Ivanova O.E., Eremeeva T.P., et al. / The 2010 outbreak of poliomyelitis in Tajikistan: epidemiology and lessons learnt // Euro Surveill. 2014.19(7). P. 20706.
6. Онищенко Г.Г., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Лазикова Г.Ф., и др. / Полиомиелит в Таджикистане. Защита территории России от заноса и распространения дикого вируса полиомиелита // ЖМЭИ. 2011. № 2. С. 12–22.
7. Иванова О.Е., Силенова О.В., Сетдикова Н.Х., Латышева Т.В., и др. / Поиск лиц, длительно выделяющих вирус полиомиелита, среди больных с первичными иммунодефицитами в Российской Федерации // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014. № 6 (79). С. 16–23.
8. Li L., Ivanova O., Driss N., Tiongco–Recto M., et al. / Poliovirus excretion among persons with primary immune deficiency disorders: summary of a seven–country study series // J Infect Dis. 2014. 210 (S1). P. 368–372.
9. Aghamohammadi A, Abolhassani H, Kutukculer N, Wassilak SG, et al. / Patients with Primary Immunodeficiencies Are a Reservoir of Poliovirus and a Risk to Polio Eradication // Front Immunol. 2017. 8. P 685.
10. WHO. Standard operating procedures; Responding to a poliovirus event or outbreak version 3. Geneva: World Health Organization; 2018. Available at: <http://polioeradication.org/wp–content/uploads/2016/07/sop–polio–outbreak–response–version–20193101.pdf>
11. Ivanova OE, Eremeeva TP, Morozova NS, Shakaryan AK, et al / Vaccine–associated paralytic poliomyelitis in the Russian Federation in 1998–2014 // Int J Infect Dis. 2018.76. P.64–69.
12. Korotkova EA, Gmyl AP, Yakovenko ML, Ivanova OE, et al. / A Cluster of Paralytic Poliomyelitis Cases Due to Transmission of Slightly Diverged Sabin 2 Vaccine Poliovirus // J Virol. 2016. 90 (13). P. 5978–88.

**СТРУКТУРА СЕРОВАРОВ БАКТЕРИЙ РОДА *SALMONELLA*,  
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ**

**Катаева Л. В., Карпухина Н. Ф., Бычкова Л. А., Степанова Т. Ф.**

*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Знание структуры циркулирующих на определенной территории серовариантов сальмонелл нацеливает врачей бактериологов на их идентификацию. Определение серотипов сальмонелл очень важно для проведения эпидемиологического анализа и противоэпидемических мероприятий.

**STRUCTURE OF SEROVARS BACTERIA OF THE GENUS *SALMONELLA*  
CIRCULATING IN THE URAL FEDERAL DISTRICT**

**Kataeva L. V., Karpukhina N. F., Bychkova L. A., Stepanova T. F.**

*Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russia*

**Abstract.** Knowledge of the structure of salmonella's serovariants circulating in a certain area aims bacteriologists to identify them. Determination of salmonella serotypes is very important for epidemiological analysis and anti-epidemic measures.

**Введение.** На протяжении последних лет, как в Российской Федерации, так и в странах Европейского региона и США сальмонеллезы остаются актуальной проблемой. Планово проводимые в РФ противоэпидемические и профилактические мероприятия позволили добиться снижения заболеваемости в течение последних 4-х лет с 35,79 до 25,28 на 100 тыс. населения в 2015 году. Однако регистрируемые уровни заболеваемости и очаги групповой заболеваемости не позволяют характеризовать эпидемиологическую ситуацию по сальмонеллезам как благополучную [4]. Тем более, что по данным Роспотребнадзора в РФ в 2018 году отмечен рост заболеваемости сальмонеллезом, шигеллезом, острыми кишечными инфекциями, вызванными установленными бактериальными возбудителями, в сравнении показателями предыдущего года.

Поскольку проблема сальмонеллеза остается актуальной, **целью** нашего исследования явилось изучение структуры циркулирующих сероваров бактерий рода *Salmonella* в Уральском федеральном округе при исследовании фекалий на группу патогенных кишечных бактерий и дисбактериоз толстого кишечника человека.

**Материалы и методы.** Проведен анализ обнаружения циркулирующих сероваров сальмонелл в 5 субъектах Уральского федерального округа (3 области – Свердловская, Курганская, Тюменская и 2 автономных округа – Ханты-Мансийский – Югра, Ямало-Ненецкий) с 2007 по 2018 гг. при исследовании фекалий на группу патогенных кишечных бактерий и дисбактериоз толстого кишечника человека. За указанный период было выделено и идентифицировано 758 штаммов бактерий рода *Salmonella*.

Выделение сальмонелл осуществлялось посевом на среду обогащения (магниевую) с последующим высевом на висмут-сульфит агар, а также из прямого посева биоматериала на плотные питательные среды (Эндо, Левина, XLD). Идентификация проводилась традиционным бактериологическим методом [3], а также с помощью масс-спектрометрии по протеинограммам белков. Серовары штаммов сальмонелл определялись по схеме Кауфмана-Уайта в реакции агглютинации на стекле с применением диагностических сальмонеллезных адсорбированных поливалентных и моноспецифических О- и Н-сывороток (производства Федерального государственного унитарного предприятия «Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического агентства). Все штаммы исследованы на чувствительность к сальмонеллезному бактериофагу.

Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом к следующим антимикробным препаратам: ампициллин, ко-тримоксазол, норфлоксацин, хлорамфеникол, цефотаксим в соответствии с МУК 4.2.1890-04 [2].

**Результаты и обсуждение.** Пейзаж сальмонелл, выделенных от обследуемых пациентов, отличался большим разнообразием по антигенной формуле. По схеме Кауфмана-Уайта указанные серологические варианты сальмонелл относятся к серогруппам В, С<sub>1</sub>, С<sub>2</sub>, С<sub>3</sub>, D<sub>1</sub>, E<sub>1</sub>, H [1].

В структуре сероваров преимущественное положение в течение всего периода наблюдения занимают *S. enteritidis* (группа D<sub>1</sub>) – более 66%. Структура серогрупп сальмонелл, выделенных за анализируемый период, представлена в таблице. Среди сероваров группы В в 90% случаев идентифицируется *S. typhimurium*. Также среди представителей этой группы встречаются *S. san-diego*, *S. essen*, *S. saintpaul*, *S. fulica*.

Обращает на себя внимание тот факт, что за 12 лет наблюдения структура циркулирующих сальмонелл практически не меняется. Исключение составляет группа С<sub>1</sub>, за последние 6 лет частота их обнаружения снизилась с 20,14% до 5,54%. В данной группе в 50% случаев встречается серовар *S. infantis*, кроме того идентифицировались *S. isangi*, *S. mission*, *S. braenderup*, *S. oranienburg*, *S. montevideo*. Группа С<sub>2</sub> отличалась наибольшим разнообразием сероваров: *S. litchfield*, *S. manhattan*, *S. muenchen*, *S. newport*, *S. hadar*, *S. sandow*, *S. glostrup*, *S. edmonton*, *S. hidalgo*, *S. aba*. В структуре этой серогруппы преобладали *S. muenchen* (42,3%). К группе С<sub>3</sub> отнесен один вариант – *S. virginia*.

Серогруппа E<sub>1</sub> была представлена пятью сероварами: *S. amsterdam*, *S. give*, *S. london*, *S. islington*, *S. newlands*; серогруппа H – *S. carrau*.

**Таблица.** Структура серогрупп бактерий рода *Salmonella*

Серогруппа	ВСЕ		2007–2012		2013–2018	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
В	52	6,86	15	10,42	37	6,03
С <sub>1</sub>	63	8,31	29	20,14	34	5,54
С <sub>2</sub>	26	3,43	2	1,39	24	3,91
С <sub>3</sub>	1	0,13	1	0,69	0	0,00
D	609	80,34	96	66,67	513	83,55
E <sub>1</sub>	6	0,79	1	0,69	5	0,81
H	1	0,13	0	0,00	1	0,16
Всего	758		144		614	

Начиная с 2013 года, спектр идентифицируемых всех вместе взятых сероваров сальмонелл расширился в среднем с 4,3 (2007–2012 гг.) до 6,7 (2013–2018 гг.).

Среди изученных сальмонелл абсолютной чувствительностью к исследуемым антибиотикам обладали 74,49% штаммов. Из числа резистентных штаммов сальмонелл 28,95% были устойчивыми к 2 и более антибактериальным препаратам. Чаще всего выявлялась устойчивость к ампициллину, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу. Наибольшее число резистентных к антибиотикам штаммов отмечалось у *S. typhimurium*, причем, больше половины штаммов были резистентными ко всем исследуемым антибиотикам. Затем следовали *S. enteritidis* и *S. infantis*. Все штаммы сальмонелл были чувствительны к сальмонеллезному фагу.

**Выводы.** Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что на протяжении многих лет структура наиболее значимых в эпидпроцессе сальмонелл остается неизменной – лидирующее положение по-прежнему принадлежит *S. enteritidis*. Но говорить о том, что остальные возбудители сальмонеллёза, кроме *S. enteritidis*, не имеют определяющего значения в эпидпроцессе, на наш взгляд, не представляется возможным.

Знание структуры циркулирующих на определенной территории серовариантов сальмонелл нацеливает врачей бактериологов на их идентификацию. Кроме того, определение серотипов сальмонелл очень важно для проведения эпидемиологического анализа и противоэпидемических мероприятий.

Литература:

1. Методические указания МУ 4.2.2723-10 Лабораторная диагностика сальмонеллезозов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды.
2. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.
3. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований. Учебное пособие. / Под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – М.: ОАО «Издательство «Медицина». – 2005. – С. 93–96.
4. <http://lechim-sya-prosto.ru/salmonellez>.

УДК: 578.835.1:616.98(470.61)

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ  
НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Ковалев Е. В.**

*Управление Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Проведен сравнительный анализ заболеваемости энтеровирусной инфекцией на территории Ростовской области. В Ростовской области ежегодно в большинстве случаев, на спорадическом уровне регистрируется заболеваемость энтеровирусной инфекцией. Вместе с тем, имеют место очаги групповой заболеваемости в организованных коллективах. В 2013 году зарегистрирован эпидемический подъем заболеваемости с формированием локальных очагов в дошкольных образовательных учреждениях, обусловленный появлением энтеровируса 71 типа С4, который ранее не циркулировал на территории Ростовской области.

**EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE OF ENTEROVIRUS INFECTION  
ON THE TERRITORY OF ROSTOV REGION**

**Kovalev E. V.**

*Department of Federal Service on Surveillance for Consumer rights protection and human well-being in the Rostov region, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** A comparative analysis of the enterovirus infection incidence in the Rostov region was carried out. Annually in Rostov Region for the most part of cases the incidence of enterovirus infection is recorded at a sporadic level. However, in organized groups there are foci of group morbidity. In 2013, an epidemic increase tendency in the incidence rate was registered with the formation of local foci in pre-school educational institutions, due to the emerging of enterovirus 71 of type C4, which had not previously circulated in the Rostov region.

Неуклонный рост в последние годы заболеваемости энтеровирусной инфекцией (далее по тексту ЭВИ) создает во всем мире важную медико-социальную проблему, о чем свидетельствует ежегодно регистрируемые на территории Российской Федерации эпидемические подъемы и сезонные вспышки, ЭВИ занимает одно из ведущих мест среди инфекционных заболеваний, протекающих с поражением ЦНС. Особенностью этой инфекции является вирусоносительство, постоянно обуславливающее возникновение спорадических форм и массовых заболеваний.

В Ростовской области ЭВИ регистрируется ежегодно, за период с 2007 по 2012 год превалировала спорадическая заболеваемость от 1 до 38 случаев в год или 0,02 до 3,8 на 100 тыс. населения; в 2013 году был зарегистрирован эпидемический подъем с формированием

локальных очагов в организованных коллективах. С 2013 года по 2014 год отмечено существенное (в 3,9 раза) снижение заболеваемости, показатель составил 3,8 на 100 тысяч населения. В 2015 наблюдается плато заболеваемости, а с 2016 года по 2017 тенденция к росту. В 2018 году отмечено снижение заболеваемости в 1,9 раза показатель составил 3,9 на 100 тысяч населения.

Энтеровирусные менингиты составляли от 3,7 % от общего количества случаев ЭВИ в 2014 году (6 из 161) до 35,7% в 2010 году (10 из 28).

Распределение заболеваемости по территориям Ростовской области неравномерное. Учитывая повсеместную распространенность энтеровирусов, такая вариабельность уровней заболеваемости в значительной мере определяется качеством организации эпидемиологического надзора за ЭВИ, состоянием диагностики и полнотой регистрации данного заболевания. Также могут оказывать влияние наличие условий, способствующих появлению и циркуляции новых для территорий штаммов энтеровирусов.

В течение анализируемого периода заболеваемость регистрировалась на 33-х территориях: в 12-ти городах и 21-м районе области.

В тенденции развития эпидпроцесса по ЭВИ в области прослеживается определенная закономерность – подъем заболеваемости в июне 2013 г. (вспышка ЭВИ 71 типа); в 2017 году рост числа больных в июле; в 2016 г. увеличение числа больных ЭВИ в августе, что обусловлено природно-климатическими условиями.

Среди заболевших удельный вес детей составлял от 21% в 2009 году до 94% в 2013 году, в 2018 – 89,6%. У детей заболеваемость регистрировалась во всех возрастных группах.

По результатам исследований биоматериала от больных определялись энтеровирусы 19 типов: ЕСНО 5, 6, 7, 11, 12, 17, 30 типов, Коксаки А 1, 4, 5, 6, 10, 16, Коксаки В с 1-го по 5 тип и энтеровирус 71 типа С4 и С1.

Максимальное число случаев регистрируется в 2013 и 2017 годах, что возможно связано с циркуляцией «новых» для территории Ростовской области вариантов вируса 71 типа С4 и С1 соответственно.

Случаи групповой заболеваемости зарегистрированы в 2013 году в МБДОУ № 83 г. Ростова-на-Дону с числом пострадавших 78 человек, из них у 24 был определен 71 тип вируса и у 25 отмечался менингеальный синдром. В 2017 году, в форме герпангин у детей, посещающих МБДОУ Сальского района, п. Гигант. Пострадало 10 детей, у всех в ПЦР была обнаружена РНК энтеровируса и идентифицирована как Коксаки А6 референс-центром по мониторингу за энтеровирусными инфекциями ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н.Блохиной», а также среди детей в муниципальном бюджетном дошкольном образовательном учреждении детский сад № 15 «Петушок» Октябрьского района с числом пострадавших 9 детей, у заболевших методом ПЦР обнаружена РНК энтеровируса. В 2018 году очагов групповой заболеваемости не зарегистрировано.

Мероприятия по профилактике ЭВИ на территории Ростовской области проводятся в соответствии с планом «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2015–2020 гг. в Ростовской области», утвержденными заместителем Губернатора Ростовской области.

В рамках эпиднадзора за ЭВИ ежегодно проводится мониторинг циркуляции полио- и энтеровирусов во внешней среде, исследуются пробы сточной воды, в 4 точках – очистные сооружения гг. Ростова, Таганрога, Азова и Каменска-Шахтинского.

Одной из составляющей эпиднадзора за ЭВИ является мониторинг за качеством питьевой воды.

За период 2004–2018 гг. по результатам вирусологических исследований проб воды в системе разводящей сети водопроводов наблюдается тенденция к снижению удельного веса положительных находок проб воды с 25,5% в 2004 г. до 3,1% в 2013 г., в 2018 г. – положительных находок не выявлено.

Определенная работа по повышению эффективности обеззараживания питьевой и сточных вод проводится на объектах водопроводно-канализационного хозяйства. Так, АО «Ростовводоканал» в 2014 году введена в эксплуатацию установка ультрафиолетового обеззараживания сточных вод перед выпуском их в р. Дон, с 2015 года на «Александровских» ОСВ для обеззараживания питьевой воды используется гипохлорит натрия вместо жидкого хлора (на «Центральных» ОСВ гипохлорит натрия используется с 2008 года), кроме того вся вода перед поступлением в распределительную сеть подвергается ультрафиолетовому облучению.

Таким образом, в Ростовской области ежегодно в большинстве случаев, на спорадическом уровне регистрируется заболеваемость энтеровирусной инфекцией. Вместе с тем, имеют место очаги групповой заболеваемости в организованных коллективах. В 2013 году зарегистрирован эпидемический подъем заболеваемости с формированием локальных очагов в дошкольных образовательных учреждениях, обусловленный появлением энтеровируса 71 типа С4, который ранее не циркулировал на территории Ростовской области. Случаи отмечаются во всех территориях области, преимущественно в крупных городах, болеют в основном организованное детское население. Преобладают малые формы ЭВИ по типу герпангины, ящуроподобного синдрома, ОРВИ. На энтеровирусный менингит приходится не более 15% от всех зарегистрированных случаев. Циркулирует 4 вида и 19 типов энтеровирусов.

Литература:

1. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации».
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Ростовской области».

УДК: 579.26

**ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ  
НА РОСТ И СПОРООБРАЗОВАНИЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ  
МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *ASPERGILLUS***

**Кряжев Д. В.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород,  
Россия*

**Аннотация.** В экспериментах использовались штаммы оппортунистических микромицетов рода *Aspergillus*. Целью работы являлось изучение влияния ультрафиолетового излучения в дозах от 60 до 210 мДж/см<sup>2</sup> на рост и интенсивность спорообразования оппортунистических аспергиллов. В работе были использованы следующие методы: определение радиальной скорости роста грибов, подсчет грибковых элементов в камере Горяева, определение интенсивности спорообразования. Результаты показали, что ультрафиолетовое излучение способно снижать радиальную скорость роста у исследованных штаммов. При исследовании воздействия излучения на интенсивность спорообразования, было выявлено достоверное увеличение его интенсивности при воздействии дозой 120 мДж/см<sup>2</sup>. Согласно полученным данным следует вывод, что воздействие бицидных физических факторов на оппортунистические аспергиллы может привести к изменению интенсивности их физиологических процессов.



# INFLUENCE OF ULTRA-VIOLET RADIATION ON GROWTH AND SPORULATION OF OPPORTUNISTIC MICROMYCETES OF THE *ASPERGILLUS* GENUS

Kryazhev D. V.

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia

**Abstract.** In experiments strains of opportunistic micromycetes of the *Aspergillus* genus were used. The purpose of work was studying of influence of ultra-violet radiation in doses from 60 to 210 Joul/cm<sup>2</sup> on growth and intensity of a sporulation of opportunistic aspergilli. In work the following methods were used: determination of radial speed of growth of fungi, calculation of fungal elements in Goryaev's camera, determination of intensity of a sporulation. Results showed that ultra-violet radiation is capable to reduce radial growth rate of the studied strains. At a research of impact of radiation on intensity of a sporulation, reliable increase in its intensity at influence by a dose of 120 Joul/cm<sup>2</sup> was revealed. According to the obtained data a conclusion that impact of biocidal physical factors on opportunistic aspergilli can lead to change of intensity of their physiological processes follows.

**Введение.** Контакт людей с микромицетами происходит постоянно. В настоящее время особенно остро стоит проблема изучения микобиоты различных помещений. Многие микромицеты размножаются спорами (конидиями). Попав на питательный субстрат спора прорастает в гифы мицелия и уже через неделю на нем могут появиться новые конидиеносцы. Раньше микозы наблюдались редко и часто были географически ограничены; сегодня такой стереотип уже не соответствует действительности. Принципиальные изменения, произошедшие в медицине за последние десятилетия, серьёзно повлияли на этиологическую структуру инфекционной патологии, сместив акцент в пользу заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами. В этой ситуации оппортунистические микозы стали заметным явлением.

**Материалы и методы.** В работе использовались следующие штаммы микроскопических грибов: *Aspergillus niger* ВКМ F-1119 – коллекционный; *Asp. fumigatus* НУ-8 – выделенный из воздуха в помещениях Н. Новгорода; *Asp. niger* НУ-17 – выделенный из воздуха медицинских учреждений Нижнего Новгорода.

Источником ультрафиолетового излучения служил облучатель ультрафиолетовый кварцевый ОУФК-01, – эффективный спектральный диапазон 230–380 нм.; облученность в эффективном спектральном диапазоне 1,0 Вт/м<sup>2</sup>.

Определение радиальной скорости роста грибов проводили по методу Панникова [1]. Интенсивность спорообразования при росте гриба на плотной питательной среде определяли методом Билай [2]. Подсчет грибковых элементов проводился модифицированным методом Артифексова [3]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0 ( $p < 0,05$ ;  $n = 3$ ;  $t = 4,303$ ).

**Результаты и обсуждение.** При воздействии ультрафиолета (УФ) на *Asp. niger* НУ-17.1 дозой 60 мДж/см<sup>2</sup> наблюдали полное совпадение скорости роста в контроле и опыте, аналогичная картина наблюдалась и при воздействии УФ в той же дозе на *Asp. niger* ВКМ F-1119. При действии же аналогичной дозы УФ на *Asp. fumigatus* НУ-8 скорость роста в опыте была ниже, чем в контроле. На 3 сутки отставание опыта по сравнению с контролем составило 0,5 мм/сут, на 5 сутки скорость достигла контроля. Затем скорость резко увеличилась и достигла пика на 7 сутки, но к контролю не приблизилась, отставание составило 2 мм/сут. С 7 по 14 сутки культивирования скорость роста снизилась, отставание скорости роста опыта по сравнению с контролем на 10 сутки составило 1,5 мм/сут, на 14 сутки скорость роста в опыте приблизилась к контролю, отставание составило 0,4мм/сут.

Следующим этапом работы стало изучение действия различных доз УФ от 0 до 210 мДж/см<sup>2</sup> на выживаемость пропагул аспергиллов. Наибольшая выживаемость наблюдалась у *Asp. niger* НУ-17.1, наименьшая у *Asp. niger* ВКМ F-1119.

В дальнейшем проводилось сравнение действия многократного облучения на штаммы *Asp. niger* НУ-17.1 и *Asp. niger* ВКМ F-1119. Мицелий гриба высаживали методом укола в центр чашки Петри и в течение 5 суток проводили однократное облучение двумя сериями: дозой 60 мДж/см<sup>2</sup> и 120 мДж/см<sup>2</sup>. На 3, 5, 7, 10 и 14 сутки проводили измерение диаметра колоний.

Из полученных данных видно, что при воздействии *Asp. niger* ВКМ F-1119 дозами 60 мДж/см<sup>2</sup> и 120 мДж/см<sup>2</sup> скорость роста с первых суток культивирования отставала от контроля. На первых сутках культивирования также имела место стимуляция роста при воздействии более высокой дозой, – она была выше в 3 раза по сравнению с воздействием меньшей дозой. При действии аналогичными дозами на *Asp. niger* НУ-17 также имело место отставание скорости роста от контроля. И в контроле, и в опытах скорость достигала пикового значения на 7 сутки. На первых сутках стимуляции роста при воздействии более высокой дозой не происходило. В дальнейшем скорость роста при воздействии дозой 120 мДж/см<sup>2</sup> интенсифицировалась и до 7 суток культивирования наблюдался более интенсивный рост, затем скорость роста падала ниже контрольных значений, и только к 14 суткам культивирования достигала значений, сопоставимых со скоростью роста в контроле.

Отставание скорости роста при воздействии дозой 120 мДж/см<sup>2</sup> по сравнению с контролем на 3 сутки составило 6,5 мм/сут, на 5 сутки 9 мм/сут, на 7 сутки 3,5 мм/сут, на 10 сутки 2 мм/сут. При воздействии меньшей дозой картина иная, скорость роста с 3 по 5 сутки падает, отставание от контроля на 5 сутки составило 9 мм/сутки, затем с 5 по 7 сутки резко возрастает, отставание сокращается до 7 мм/сут, с 7 по 10 сутки снова падает, отставание на 10 сутки составило 4,5 мм/сут.

Следующим этапом было изучение воздействия УФ на интенсивность спорообразования аспергиллов. Опыты проводили методом посадки спорового материала уколом на твердую питательную среду в центр контрольных и опытных чашек. Опытные чашки в последствии облучались тремя дозами – 60, 120 и 180 мДж/см<sup>2</sup>. Интенсивность спорообразования определяли в счетной камере по количеству спор в 1 мл раствора.

Наиболее эффективное спорообразование у *Asp. niger* ВКМ F-1119 наблюдалось при воздействии дозами 60 мДж/см<sup>2</sup> и 120 мДж/см<sup>2</sup>. Количество спор в контроле составило ~770000. При воздействии дозой 60 мДж/см<sup>2</sup> количество спор по сравнению с контролем увеличилось в 1,9 раз и составило ~1500000; при 120 мДж/см<sup>2</sup>, спорообразование увеличилось в 2,5 раза и составило ~1850000, при дозе 180 мДж/см<sup>2</sup> интенсивность спорообразования достоверно не отличалось от контроля.

Наиболее эффективное спорообразование у *Asp. niger* НУ-17.1 наблюдалось при воздействии дозой 120 мДж/см<sup>2</sup>. Количество спор в контроле составило ~1317000. При воздействии дозой 60 мДж/см<sup>2</sup> количество спор по сравнению с контролем достоверно не изменилось. При дозе 120 мДж/см<sup>2</sup>, интенсивность спорообразования увеличилась, произошла стимуляция спорообразования в 1,9 раз по сравнению с контролем и количество спор составило ~3510000, при дозе 180 мДж/см<sup>2</sup> интенсивность спорообразования снизилась и стала в 1,2 раза меньше, чем в контроле, количество спор составило ~630000.

**Заключение.** УФ излучение способно снижать радиальную скорость роста у исследованных штаммов оппортунистических аспергиллов. Наиболее эффективное снижение наблюдалось у *Asp. niger* ВКМ F-1119, наименьшее у *Asp. niger* НУ-17.1.

При воздействии на штамм *Asp. niger* НУ-17.1 и *Asp. niger* ВКМ F-1119 различными дозами УФ, достоверное увеличение интенсивности спорообразования по сравнению с контролем наблюдалось при воздействии дозой 120 мДж/см<sup>2</sup> в 1,9 раз и в 2,5 раза соответственно.

#### Литература:

1. Панников Н.С. Кинетика роста микроорганизмов. М.: Наука. 1991. 309 с.
2. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка. 1982. 551 с.
3. Артифексов С.Б. Морфо-функциональные исследования половых клеток самцов белых крыс при гипотермии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск. 1981. С. 26.

УДК: 616.932:579.843.1:57.084/.085:(470+571)

**АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ МОНИТОРИНГА ХОЛЕРЫ НА ТЕРРИТОРИИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ С 2013 ПО 2017 гг.**

**Левченко Д. А., Кругликов В. Д., Архангельская И. В., Ежова М. И., Водопьянов А. С.,  
Ренгач М. В.**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В настоящее время эпидемиологическая ситуация по холере характеризуется ежегодным обнаружением в объектах окружающей среды десятков нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы. Цель исследования заключалась в анализе результатов мониторинга холеры на административных территориях России за период с 2013 по 2017 гг. В период с 2013 по 2017 гг. в референс-центре по мониторингу холеры идентифицирован 321 штамм *V. cholerae* O1 El Tor, выделенный из водных объектов на территориях 19 субъектов России. В 2014 г. на территории в Ростовской области (р. Темерник) был выделен один токсигенный штамм холерного вибриона O1 Огава Эль Тор. При проведении ПЦР-генотипирования нетоксигенных штаммов *V. cholerae* по 14 генам-мишеням, выявлено 59 генотипов, объединенных в восемь кластеров. Обнаружено, что нетоксигенные штаммы холерных вибрионов O1 Эль Тор (*ctxA-tcpA+*) разделились на две группы. Первую группу составляли штаммы с характеристикой *ctxA-tcpA+*, которые вошли в один кластер с изолятами *ctxA-tcpA-*, вторая группа представлена отдельными кластерами и содержала только штаммы *ctxA-tcpA+*. В Краснодарском крае (река Агура) отмечен случай необычно длительной циркуляции в речной воде клональной популяции холерных вибрионов, принадлежащей к новому генотипу, ранее не встречавшемуся на данной территории. Таким образом, полученные данные позволяют оценить эпидобстановку по холере на территории нашей страны в изучаемый период как нестабильную.

**ANALYSIS OF THE RESULTS OF CHOLERA MONITORING  
IN THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION FROM 2013 TO 2017**

**Levchenko D. A., Kruglikov V. D., Arkhangelskaya I. V., Ezhova M. I., Vodopyanov A. S.,  
Rengach M. V.**

*Federal Government Health Care Institution «Rostov-on-Don Research Anti-plague Institute»  
of Federal Service on Supervision in the Sphere of Consumer Rights Protection  
and Human Welfare, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** At present, the cholera epidemiological situation is characterized by the annual detection of dozens of non-toxigenic strains of O1 serogruppia cholera vibrios in environmental objects. The purpose of the study was to analyze the results of cholera monitoring in the administrative territories of Russia for the period from 2013 to 2017. In the period from 2013 to 2017, 321 *V. cholerae* O1 El Tor strains isolated from water bodies in the territories of 19 subjects of Russia were identified in the reference center for cholera monitoring. A retrospective analysis showed that the largest number of cultures of *Vibrio cholerae* were registered in the Republic of Kalmykia, Krasnodar and Trans-Baikal Territories. In 2014, a single toxigenic strain of cholera vibrio O1 Ogawa El Tor was isolated on the territory of the Rostov region (r. Temernik). When conducting PCR genotyping of non-toxigenic *V. cholerae* strains on 14 target genes, 59 genotypes were combined into eight clusters. Nontoxigenic strains of O1 El Tor *Vibrio cholerae* (*ctxA-tcpA+*) were found to be divided into two groups. The first group consisted of strains with the *ctxA-tcpA+* characteristic, which were included in one cluster with *ctxA-tcpA-* isolates, the second group was represented by individual clusters and contained only *ctxA-tcpA+* strains. On the territory of the Krasnodar Territory (the river Agura), there was a case of an unusually long circulation in the river water of a clonal population of *Vibrio cholerae* belonging to a new genotype that had not previously been encountered in the given territory. Thus, the data obtained allow us to estimate the epidemiological situation for cholera in the territory of our country in the period under study as unstable.

**Введение.** Седьмая пандемия холеры в мире характеризуется широким распространением, вовлечением в эпидемический процесс новых территорий. В связи с этим проведение мониторинговых исследований проб из водных объектов окружающей среды (ООС) на территории России являются важнейшей составляющей эпиднадзора за холерой [1-3]. В настоящее время эпидемиологическая ситуация по этой инфекции характеризуется ежегодным обнаружением в ООС десятков нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы, которые могут быть этиологическим фактором спорадических заболеваний или вспышек холеры [4]. В целях совершенствования информационно-аналитического обеспечения мониторинга холеры на территории России важную роль играет использованием современных ГИС-технологий [5]. Цель исследования заключалась в анализе результатов мониторинга холеры на административных территориях Российской Федерации (РФ) за период с 2013 по 2017 гг.

**Материалы и методы.** В работе использован 321 штамм *V. cholerae* El Tor, отобранный с помощью пополняемой ГИС «Холера 1989-2014» [6]. Идентификацию штаммов холерных вибрионов, изолированных из ООС осуществляли в соответствии с МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры». С 2016 г. для родовой и видовой идентификации выделенных штаммов холерных вибрионов был использован метод MALDI-TOF масс-спектрометрии [7]. ПЦР-генотипирование нетоксигенных штаммов *V. cholerae* El Tor проводили по 14 генам-мишеням с последующим кластерным анализом [8].

**Результаты.** В период с 2013 по 2017 гг. в референс-центре по мониторингу холеры идентифицирован 321 штамм холерных вибрионов O1 Эль Тор различной эпидзначимости, выделенный из ООС на территориях субъектов РФ.

Анализ результатов мониторинга холеры показал, что за изучаемый период, штаммы были изолированы из ООС 19-ти субъектов Российской Федерации, а именно: Республики Калмыкия, Крым, Бурятия, Татарстан, Коми, Ростовская, Московская, Рязанская, Иркутская, Калининградская, Псковская, Свердловская, Челябинская области, Краснодарский, Алтайский, Забайкальский, Приморский, Хабаровский, Ставропольский края. При анализе распределения выделенных штаммов по субъектам России за последние пять лет было установлено, что наибольшее количество культур было выделено в Республике Калмыкия – 32,7%; Краснодарском – 30,8% и Забайкальском крае – 14,0%.

Штаммы *V. cholerae* O1 серогруппы, в основном, были типичны по культурально-морфологическим, биохимическим и серологическим свойствам относились к биовару El Tor – 320 (98,0%). Большинство выделенных культур принадлежали к серовару Inaba – 185 штаммов (57,6%) и к Ogawa – 130 (40,4%). К атипичному по серологическим свойствам R-варианту относилось 6 (2,0%) штаммов. Холерные вибрионы O139 серогруппы за время исследования выделены не были.

Стоит отметить, что в 2014 г. на территории в Ростовской области (р. Темерник) был выделен один токсигенный штамм холерного вибриона O1 Огава Эль Тор (№81). По результатам ПЦР-исследования было установлено, что токсигенный штамм содержал кластеры: CTXφ, RTX, tol; гены RS1-, RS2-элементов; острова патогенности VPI-I и VPI-II; T6SS; а также гены *cef*, *hapR*, *toxR*, *mshA*, *wbe*, но не содержал: *stn/sto*, *slt1*, *tdh*, *trh*, *wbf*.

При проведении ПЦР-генотипирования нетоксигенных штаммов холерных вибрионов по 14 генам-мишеням, были определены кластеры/генотипы исследуемых штаммов. В результате установлено, что при исследовании 320 нетоксигенных культур *V. cholerae* было выявлено 59 генотипов, объединенных в восемь кластеров.

Самым распространенным оказался кластер G (113 штаммов – 35,3%), генотипы (20) которого были выявлены на территории 16 субъектов России. Остальные кластеры состояли из различного количества генотипов, так, кластер A включал восемь генотипов (12 штаммов – 3,8%), B – 16 генотипов (153 штамма – 47,8%), C – шесть генотипов (30 штаммов – 9,4%), D, F и H – по одному генотипу (по одному штамму – 0,3%), E – шесть генотипов (девять штаммов – 2,8%).

**Обсуждение.** Проведенный ретроспективный анализ результатов мониторинговых исследований на холеру показал, что наибольшее количество изолированных из ООС

культур холерных вибрионов было зарегистрировано в Республике Калмыкия, Краснодарском и Забайкальском краях.

По результатам ПЦР-генотипирования по 14 генам-мишеням 320 нетоксигенных штаммов холерных вибрионов, изолированных из ООС на территории России, обнаружено, что нетоксигенные штаммы холерных вибрионов O1 Эль Тор (*ctxA-tcpA*+) разделились на две группы. Первую группу составляли штаммы с характеристикой *ctxA-tcpA*+, которые вошли в один кластер с изолятами *ctxA-tcpA*- (С, Е). Вторая группа культур *V. cholerae* O1 El Tor была выделена в отдельные кластеры (F) и содержала только штаммы *ctxA-tcpA*+. На территории Краснодарского края г. Сочи р. Агура (2015 г.) отмечен случай необычно длительной циркуляции в речной воде клональной популяции холерных вибрионов (генотип В4), а именно на протяжении трех месяцев было выделено 98 практически идентичных штаммов, содержащих аллели генов *mshA* и *cef*, отличных по структуре от выявленных в геномах штаммов, выделенных на этой же территории в предшествующие годы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об актуальности проведения мониторинговых исследований ООС на территориях субъектов РФ, подчеркивают перспективы применения ГИС для повышения его эффективности, а также позволяют оценить эпидобстановку по холере на территории нашей страны в изучаемый период как нестабильную.

#### Литература:

1. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Куриленко М.Л., Пичурина Н.Л., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Иванова С.И., Водопьянов С.О., И.П. Олейников Прогноз по холере на 2019 г. на основании анализа эпидемиологической обстановки в мире, СНГ и России в 2009–2018 гг. // Проблемы особо опасных инф. 2019. № 1. С. 64–73.
2. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Ежова М.И., Москвитина Э.А., Титова С.В. Анализ результатов мониторинга холерных вибрионов в объектах окружающей среды на административных территориях России с помощью ГИС «Холера 1989–2014» // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 4. С. 99–102.
3. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Титова С.В., Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И. ГИС: возможности анализа данных фено- и генотипирования холерных вибрионов O1 Эль Тор, изолированных из водных объектов окружающей среды на территории Российской Федерации // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. № 6. С. 19–25.
4. Миронова Л.В. Научное обоснование совершенствования подходов к идентификации и молекулярному типированию *Vibrio cholerae* в системе микробиологического мониторинга: Автореф. Дисс. докт. мед. наук по специальности: 03.02.03 / Миронова Л.В.. – Иркутск, 2017. – 46 с.
5. Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Архангельская И.В., Титова С.В., Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Квасов А.Р. Геоинформационные технологии как инструмент информационного анализа в рамках обеспечения мониторинга инфекционных заболеваний, в том числе особо опасных инфекций на территории России // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2017. № 3, Т. 13. С. 71–77.
6. Зубкова Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б., Шестиалтынова И.С., Архангельская И.В., Ежова М.И., Ускова Н.Н. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014621055. Геоинформационная система «Холера 1989–2014». – 2014.
7. Балахонов С.В., Миронова Л.В., Афанасьев М.В., Куликалова Е.С., Остяк А.С. MALDI-TOF масс-спектрометрическое определение видовой принадлежности патогенов в совершенствовании эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями // Бактериология. 2016. № 1, Т. 1. С. 88–95.
8. Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б. ПЦР-генотипирование нетоксигенных штаммов холерных вибрионов как один из подходов их актуализации в плане эпиднадзора за холерой. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2018. № 2. С. 28–35.

## КЛЕЩЕВОЙ РИККЕТСИОЗ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Леонтьева С. А., Брагина Е. А., Степанова Т. Ф.

ФБУН «Тюменский научно исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия

**Аннотация.** В данной статье авторы приводят собственные исследования иксодовых клещей на выявление возбудителя риккетсиозов.

## TICK-BORNE RICKETTSIOSIS IN TYUMEN REGION

Leontyeva S. A., Bragina E. A., Stepanova T. F.

FBIS «Tyumen Region Infection Pathology Research Institute», Tyumen, Russia

**Abstract.** In this article, the authors present their own studies of ixodic mites to identify the causative agent of rickettsiosis.

**Введение.** Риккетсиозы – группа острых инфекционных заболеваний, вызываемых риккетсиями, передающихся членистоногими [1].

В России установлено широкое распространение природных очагов клещевого риккетсиоза (КР), вызываемого *Rickettsia sibirica* и астраханской пятнистой лихорадки (АПЛ) с этиологическим агентом, относящимся к генокомплексу *R. conorii*. В 1999–2000 гг. в Хабаровском крае у пациентов с клинической картиной, напоминающей КР, в образцах крови была генотипирована *Rickettsia heilongjiangensis* [2].

Клещи заражаются в природе тремя возможными путями – во время питания на животных с риккетсиемией, в результате межфазовой или трансвариальной передачи в ходе развития клеща, инфицированного на одной из предыдущих стадий и при копуляции клещей (со спермой самцов). В первые дни после питания клеща на зараженном риккетсиями хозяине возбудитель попадает в просвет кишечника, а затем в пищеварительные клетки средней кишки. В полости кишечника риккетсии размножаются, накапливаются и поражают другие органы и ткани [3].

Среди риккетсий установлено пожизненное носительство *Rickettsia sibirica* клещом *D. marginatus*, *C. burnetii* – *H. asiaticum*, *R. rickettsii* – *D. variabilis* и *D. andersoni*, *R. slovaca* – *D. marginatus*. Благодаря длительным срокам существования голодающих клещей, и особенно видов р. *Dermacentor*, риккетсии переживают и сохраняют способность к заражению восприимчивых позвоночных в течение нескольких лет [4].

**Материалы и методы.** Исследовано имаго иксодовых клещей рода *Ixodes* и *Dermacentor* в количестве 110 экземпляров, собранных в г. Тюмень, Сладковском, Викуловском и Голышмановском районах Тюменской области в мае 2018 года.

Выявление риккетсий проводили методом ПЦР в режиме реального времени с применением наборов для дифференциального выявления ДНК *Rickettsia sibirica* и ДНК *Rickettsia heilongjiangensis*, Интерлабсервис, г. Москва.

**Результаты и обсуждение.** На территории Тюменской области ежегодно регистрируются спорадические случаи заболеваний клещевым риккетсиозом. В 2017 г. всего было зарегистрировано 19 (в 2016 г. – 17, в 2015 г. – 12) случаев риккетсиоза, болели преимущественно сельские жители – 73,3%, доля городских жителей составила 26,3%. Показатель заболеваемости составил 1,3 на 100 тысяч населения [5].

При исследовании 88 особей клещей *Dermacentor reticulatus*, отловленных в Сладковском и Голышмановском районах, а так же в зеленых зонах г. Тюмень – ДНК риккетсий не выявлено. В 22 экземплярах *Ixodes persulcatus*, отловленных в с. Викулово возбудитель риккетсиоза не обнаружен. Ранее в Тюменской области, при исследовании 44 особей *Dermacentor marginatus* – 2 клеща оказались инфицированными, а 16 клещей *Ixodes persulcatus* – положительного результата не дали.

Проведенные исследования свидетельствуют о вероятности существования очагов клещевого риккетсиоза на территории Тюменской области. Данный вопрос требует дополнительного углубленного изучения.

Литература:

1. Рудаков Н.В., Оберт А.С. Клещевой риккетсиоз. – Омск, 2001. – 120 с.
2. Тарасевич И.В. Современные представления о риккетсиозах. Болезни и возбудители // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 119–129.
3. Балашов Ю.С., Дайтер А.Б. Кровососущие членистоногие и риккетсии. – Ленинград: Наука. 1973. – 250 с.
4. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. – СПб.: Наука, 1998. – 287 с.
5. Доклад о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Тюменской области в 2017 году. – Тюмень: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Тюменской области, 2018. – 218 с.

УДК: 573.6

**МИКРОБНЫЕ АССОЦИАЦИИ НА МЕДИЦИНСКИХ КАТЕТЕРАХ  
У БОЛЬНЫХ УРОЛОГИЧЕСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ**

**Лисовская<sup>1,2</sup> С. А., Халдеева<sup>1</sup> Е. В., Хабипова<sup>2,3</sup> Н. Н., Хазеева<sup>2</sup> К. К., Петухова<sup>2</sup> Е. Н.**

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Казань

ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

**Аннотация.** Нарастает частота такого осложнения, как катетер-ассоциированные инфекции. На внутренней поверхности катетеров и мочеприемников образуется благоприятная среда для различных микроорганизмов, которые способны формировать биопленку. Как правило, они являются составляющими микробных ассоциаций. Целью было изучение катетер-ассоциированных биопленок у пациентов с инфекциями мочевыводящих систем. В ходе работы был определен основной спектр микроорганизмов: *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*. Биопленки высокой плотности были характерны для пациентов с длительностью периода катетеризации более пяти дней.

**MICROBIAL ASSOCIATIONS ON MEDICAL CATHETERS IN PATIENTS  
OF UROLOGICAL DEPARTMENT**

**Lisovskaya<sup>1,2</sup> S. A., Khaldeeva<sup>1</sup> E. V., Habipova<sup>2,3</sup> N. N., Khazeyeva<sup>2</sup> K. K., Petukhova<sup>2</sup> E. N.**

<sup>1</sup>Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia

<sup>2</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia

<sup>3</sup>Kazan Federal University, Kazan, Russia

**Abstract.** The frequency of such complications as catheter-related infections is increasing. On the inner surface of catheters and urinals a favorable environment is formed for various microorganisms that are capable of forming a biofilm. As a rule, they are components of microbial associations. The goal was to study catheter-associated biofilms in patients with urinary tract infections. In the course of the work, the main spectrum of microorganisms was determined: *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*. High-density biofilms were characteristic of patients with a catheterization period of more than five days.

**Введение.** В связи с увеличением установки катетеров и мочеприемников у больных урологического отделения, растут и случаи нозокомиальных инфекций у данных пациентов. Нарастает частота такого осложнения, как катетер-ассоциированные инфекции. Причем инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), как правило, связаны с представителями собственной микрофлоры пациента, поскольку создаются условия для

проникновения условно-патогенных микроорганизмов во внутреннюю среду организма человека [1, 2, 3]. Кроме того, представители условно-патогенной микрофлоры у человека редко встречаются в монокультуре. Как правило, они являются составляющими микробных ассоциаций, где между видами складываются сложные взаимоотношения, в которых тесно переплетаются взаимные влияния участников ассоциаций друг на друга и на макроорганизм [3, 4].

Многие условно-патогенные микроорганизмы могут образовывать на поверхности катетеров биоплёнку, которая, как известно, является более резистентной к антимикробным агентам, чем отдельные планктонные клетки. Формируются биопленочные структуры в результате адгезии, размножения микроорганизмов и образования полисахаридного внеклеточного матрикса. На внутренней поверхности катетеров и мочеприемников образуется благоприятная среда из-за присутствия ионов солей и белков макроорганизма, которые являются субстратом для адгезинов бактерий и грибов.

Основным фактором развития катетер-ассоциированной бактериурии считается длительность катетеризации. По данным многих международных исследований, сегодня длительная катетеризация может увеличивать длительность периода обструкции нижних отделов мочевыводящих путей вследствие закупорки катетера, в том числе и образованием микробных биопленок. Зарегистрированные эпизоды бактериурии при кратковременной катетеризации, проводимой в рамках интенсивной терапии, как правило, не сопровождаются клиническими симптомами, и вызываются каким-либо одним возбудителем. Приблизительно в 95% случаев бактериурия имеет полимикробный характер, а в 1/4 случаев микроорганизмы, выделяемые из мочи, взятой из катетера, не обнаруживаются в моче [1-4].

В связи с этим, **целью** нашей работы являлось изучение видового состава катетер-ассоциированных биоплёнок пациентов с инфекциями мочевыводящих систем у больных в отделении интенсивной терапии при различных периодах катетеризации.

**Материалы и методы.** Исследованы 140 образцов мочевых катетеров, пациентов с заболеваниями мочеполовой системы, предоставленные урологическим отделением. Забор проводился в период катетеризации пациентов от 1 до 9 суток.

Идентификацию микроорганизмов проводили как с помощью биотипирования (MALDI-TOFMS, анализ белкового профиля), так и микроскопическими и биохимическими методами. В работе использовались селективные хромогенные среды (Bio-Rad) и коммерческие тест-системы: «Auchacolor 2» (Bio-Rad). При MALDI-TOFMS анализе значения Score (условное значение, указывающее на точность и качество анализа) выше 2,4 для всех штаммов при успешной интерпретации значений от 2 до 3.

Оценку относительных показателей плотности биоплёнки на поверхности катетеров проводили с помощью метода окрашивания красителем кристаллическим фиолетовым, Ramage et al. (2001). Методика основана на способности красителя связываться с клетками и компонентами матрикса биопленки и используется как основной метод обнаружения биопленок на различных поверхностях *in vitro* и *in vivo* [5]. Трубку катетера, длиной 1 см, разрезали вдоль на две половины, дважды промывали фосфатным буфером для удаления планктонной культуры. Отмытые кусочки катетеров помещали в пробирки 5 мл, типа эппендорф добавляли 1,5 мл 1% кристаллического фиолетового и инкубировали 20 мин при 37°C. Затем не связавшийся краситель тщательно смывали буфером. Пробирки с кусочками образцов высушивали и фотографировали. Далее в пробирки добавляли 95% раствор этанола в объеме 1,5 мл, оптическую плотность регистрировали на ридере с вертикальным лучом света с использованием светофильтра 620 нм. В качестве контроля окрашивали неиспользуемые, новые, катетеры.

Статистический анализ проводили из расчета соотношения контроля (окрашенная стерильная лунка) и образца. Эффективность образования биопленок оценивали по методу предложенному Stepanovic et al., 2007.

**Результаты исследования.** В результате микробиологического посева образцов был определен основной спектр микроорганизмов характерный для внутренней и внешней



поверхности катетера. Доминирующими видами на внутренней поверхности катетера являлись бактерии: *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*. С внешней поверхности, наиболее часто высеивались следующие виды микроорганизмов: *Pseudomonas aeruginosa*, *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *Morganella morganii*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Однако, стоит отметить, что при увеличении срока катетеризации, более трех суток, разнообразие видов увеличивалось. К представителям бактериальной микрофлоры присоединялись микроскопические грибы. Причем на внутренней поверхности катетера микробный пейзаж дополняли дрожжевые виды грибов, где доминировали: *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*. А с внешней стороны в нескольких случаях обнаруживались мицелиальные виды: *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*. Возможно, разнообразие микрофлоры во многом определяется, как состоянием самого пациента, так и ходом лечения. Так, у пациентов длительно принимающих глюкозу внутривенно, в 48% случаев в микробиологическом посеве обнаружены грибы рода *Candida*.

Следует отметить тот факт, что увеличение срока катетеризации приводило к выявлению на образцах мочевых катетеров микробных ассоциаций со значительным количеством условно-патогенных бактерий и грибов (с так называемым протеолитическим основным путем метаболизма) – *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и т.д.

Изучение биопленкообразования на катетерах с внешней и внутренней стороны показало, что в 72% образцах визуализировались биопленочные структуры. Анализ оптической плотности биопленок выявил: 45% – биопленки высокой плотности, по 27% биопленки средней и низкой плотностей. Наибольшая частота встречаемости биопленок высокой плотности была у пациентов с катетеризацией более чем 5 дней, с максимальными значениями в 0,368 опт. ед. Для катетеров с периодом катетеризации пациента от 1 до 2-х дней, характерно минимальное пленкообразование (средние значения пленкообразования составили 0,103 оптических единиц). В то же время, во всех периодах катетеризации (от 1–9 дней) встречались биопленки, количественные значения пленкообразования которых не превышали 0,07 оптических единиц, что коррелировало с отсутствием клинической картины.

Осмотр структуры биопленки с помощью световой и сканирующей электронной микроскопии выявлены сложные коагрегации состоящие из морфологически различных клеток, а также из химических включений в виде кристаллов солей и эритроцитов крови. Кроме того, биопленка содержала поры и каналы, по-видимому, для эффективного процесса метаболизма клеток находящихся внутри структуры.

**Заключение.** Увеличение срока катетеризации и особенности клинического состояния пациента могут приводить к риску возникновения поверхностно-структурных организаций образованных микробными сообществами на медицинских катетерах. В связи с этим, необходимо регулярное и тщательное наблюдение за всеми пациентами, связанными с оказанием медицинской помощи в медицинском учреждении на предмет инфекционных заболеваний.

#### Литература:

1. Пирепанова Т.С. Значение инфекций, обусловленных образованием биопленок, в урологической практике // Эффективная фармакотерапия. Урология и Нефрология. 2013. № 4 (37).
2. Бережанский Б., Жевнерев А. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. 2006. Т. 8, № 2. С.130–144.
3. Tenke P, Kovacs B, Bjerklund Johansen TE, Matsumoto T, Tambyah PA, Naber KG. European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections // Int J Antimicrob Agents 2008. V. 31. P. 68–78.
4. Ferretti G., Mandala M, Di Cosimo S. Catheter related bloodstream infections, part 1: pathogenesis, diagnosis, and management // Infections in Oncology November/December 2002. V. 9, № 6. P. 513–523.
5. Пинегина О.Н., Рауш Е.Р., Васильева Н.В. Определение чувствительности к антимикотикам *Candida spp.* в составе биопленок // Проблемы медицинской микологии. 2014. Т. 16, № 4. С. 46–48.

**АНАЛИЗ И СПОСОБЫ УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ  
ПРИ ОБРАЩЕНИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ  
IN VITRO ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

**Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Никифоров А. К., Демченко В. А., Зайцева Л. В.,  
Феськова А. С., Миронова Н. П., Галетова С. С., Сивохина А. А.**

*Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Саратов, Россия*

**Аннотация.** Актуальность управления рисками при обращении медицинских изделий для *in vitro* диагностики особо опасных инфекций, применяемых с целью подтверждения клинического диагноза и осуществления эпидемиологического мониторинга за возбудителями инфекционных болезней, не вызывает сомнений. В зависимости от объекта, подвергаемого воздействию фактора риска, идентифицируют: косвенные и потенциальные риски, приводящие к ошибочному результату исследования и, как следствие, к неправильному диагнозу пациента и неверной оценке эпидситуации, и прямые риски, представляющие опасность для оператора и окружающей среды.

**ANALYSIS AND RISK-MANAGEMENT METHODS  
FOR HANDLING MEDICAL DEVICES FOR IN VITRO DIAGNOSIS  
OF ESPECIALLY DANGEROUS INFECTIONS**

**Lobovikova O. A., Shulgina I. V., Nikiforov A. K., Demchenko V. A., Zaytseva L. V.,  
Feskova A. S., Mironova N. P., Galetova S. S., Sivohina A. A.**

*Federal State health agency «Russian State anti-plague research Institute «Microbe»  
the Federal service for Surveillance on consumers rights protection and human wellbeing,  
Saratov, Russia*

**Abstract.** The relevance of risk-management during circulation medical devices for *in vitro* diagnosis of especially dangerous infections used to confirm the clinical diagnosis and epidemiological monitoring of infectious diseases is beyond doubt. Depending on the object exposed to the risk factor, the following are identified: indirect and potential risks leading to an erroneous result of the study and, as a consequence, to an incorrect diagnosis of the patient and an incorrect assessment of the epidsituation, and direct risks posing a danger to the operator and the environment.

В рамках реализации законодательных требований к содержанию регистрационного досье на медицинские изделия [1] производителям необходимо включать в техническую и эксплуатационную документацию информацию о факторах риска, связанных с применением медицинских изделий.

Это особенно актуально для МИ для *in vitro* диагностики особо опасных инфекций (ООИ), используемых для выявления возбудителя при подтверждении клинического диагноза и осуществлении эпидемиологического мониторинга за возбудителями инфекционных болезней, направленного на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия страны. Ошибочные результаты, полученные при применении таких медицинских изделий, могут представлять потенциальную опасность не только для конкретного пациента, но и для общественного здоровья.

Для производителей важное значение приобретает проблема оценки и управления рисками при осуществлении технологического процесса производства и контроля качества МИ, в ходе которых, как правило, используют патогенные микроорганизмы высокой степени опасности.

Уже на стадии разработки производитель должен установить и поддерживать в рабочем состоянии непрерывный процесс идентификации рисков, управления данными

рисками и мониторинга результативности такого управления на протяжении всего жизненного цикла медицинского изделия.

При составлении перечня опасностей для каждого медизделия производителю целесообразно учитывать собственный опыт и опыт работы с подобными видами изделий других производителей, нашедший отражение в базе данных нежелательных событий, опубликованных на сайте регуляторов, публикациях и прочих доступных источниках [2].

В зависимости от объекта, подвергаемого воздействию фактора риска, идентифицируют: косвенные и потенциальные риски, приводящие к ошибочному результату исследования и, как следствие, к неправильному диагнозу пациента и неверной оценке эпидситуации, и прямые риски, представляющие опасность для оператора и окружающей среды.

Косвенные риски обусловлены применением МИ несоответствующего качества, недостоверной информацией о свойствах МИ в инструкции изготовителя, нарушением стабильности МИ в процессе транспортирования и хранения.

Это является следствием ненадлежащего функционирования системы менеджмента качества (СМК) производителя на стадиях разработки, предрегистрационных испытаний, изготовления и реализации изделия. Для безопасной и эффективной эксплуатации МИ ИВД руководство пользователя должно содержать подробную информацию о технических и эксплуатационных характеристиках, полученную в ходе предрегистрационных испытаний в соответствии с областью применения с использованием всех видов исследуемого материала, соблюдением условий сбора, обработки, подготовки образцов. Для предотвращения выпуска некачественной продукции необходимо проведение приемо-сдаточных испытаний каждой серии производителем в объеме, предусмотренным технической документацией МИ. Важнейшим способом постмаркетингового управления рисками является сбор информации о нежелательных событиях, полученной производителем в процессе мониторинга безопасности медицинского изделия от потребителей, и, при необходимости, внесение изменений в документы регистрационного досье.

Потенциальные риски связаны с возможными ошибками применения по назначению со стороны сотрудников диагностических лабораторий. К ним относят:

- несоблюдение условий транспортирования, хранения и подготовки проб;
- нарушения условий окружающей среды при эксплуатации МИ;
- применение в комбинации со средствами измерений, не прошедшими поверку и/или калибровку, или с приборами, не прошедшими надлежащее техническое обслуживание;
- отказ программного обеспечения прибора, применяемого в комбинации с МИ;
- нарушения процесса проведения анализа, регистрации и учета результатов.

Результативной мерой по управлению риском при профессиональном применении медицинских изделий для диагностики *in vitro* может служить неукоснительное соблюдение требований эксплуатационной документации, которая должна содержать детальное изложение методики и условий проведения исследования. Ключевую роль в снижении вероятности возникновения ошибочных результатов исследования отводят системе менеджмента качества лаборатории, предусматривающей своевременные поверку и/или калибровки средств измерений, техническое обслуживание оборудования и обучение персонала.

Прямые риски обусловлены непосредственным воздействием медизделия для *in vitro* диагностики особо опасных инфекций (ООИ) на специалиста, участвующего в производстве, контроле качества, уничтожении изделия; исследователя и окружающую среду. Для пациента или обследуемого лица применение диагностических медизделий не создает прямого риска, так как они не соприкасаются с телом человека.

В зависимости от характера опасности прямые риски разделяют на:

- биологические, в том числе эпидемиологические, риски – возможность заражения человека или попадания в окружающую среду патогенных биологических агентов при работе с производственными и контрольными штаммами микроорганизмов I–IV групп патогенности, при применении МИ и утилизации биологических отходов класса Б, В в клиничко-диагностической практике;

- химические риски, обусловленные токсическим и/или агрессивным воздействием химических реагентов при попадании на тело человека и в окружающую среду;
- риски поражения электрическим током, связанные с неисправностью и нарушением правил эксплуатации электрооборудования;
- риски возгорания при использовании воспламеняющихся химических реагентов, при нарушении правил эксплуатации электрооборудования, при нарушении правил утилизации и уничтожения изделий.

Соблюдение требований СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности» [3], а также замена патогенных биологических агентов I–II групп на авирулентные штаммы микроорганизмов, генно-инженерные конструкции в производстве и контроле МИ позволит существенно уменьшить биологические риски.

Следование правилам техники безопасности, предусматривающей использование средств индивидуальной защиты для предотвращения контакта оператора с кожей, глазами и слизистыми оболочками, выполнение мер безопасной работы с электрооборудованием, исключает или снижает до минимума возникновение химических, электро- и пожароопасностей.

Таким образом, менеджмент риска не заканчивается выпуском готового медицинского изделия. Производитель должен осуществлять оценку результативности мер по управлению рисками с использованием данных внутреннего мониторинга эксплуатационных характеристик изделия, основанных на исследовании стабильности, и мониторинга безопасности функционирования медицинского изделия, находящегося в гражданском обороте.

#### Литература:

1. Приказ МЗ РФ от 19 января 2017 г. № 11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинского изделия».
2. ГОСТ ISO 14971-2011 – Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
3. СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности».

УДК: 616-036.22

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ВОДНОЙ ВСПЫШКИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ПОСЕЛКЕ ГОРОДСКОГО ТИПА КРОПАЧЕВО АШИНСКОГО МУНИЦИПАЛЬНОГО РАЙОНА ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ** Лучинина<sup>3</sup> С. В., Романова<sup>1</sup> Г. В., Косарева<sup>1</sup> Р. Р., Зинько<sup>1</sup> Н. Ю., Валеуллина<sup>2</sup> Н. Н., Галкина<sup>2</sup> Е. А., Чиркова<sup>2</sup> Г. Г.

<sup>1</sup>*Управление Роспотребнадзора по Челябинской области, Челябинск, Россия*

<sup>2</sup>*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Россия*

<sup>3</sup>*ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ,  
Челябинск, Россия*

**Аннотация.** Представлен анализ эпидемиологических закономерностей при расследовании вспышки острых кишечных инфекций в поселке городского типа Кропачево Ашинского муниципального района Челябинской области. По результатам эпидемиологического обследования установлены характерные особенности эпидемического процесса, позволяющие утверждать, что вспышка острых кишечных инфекций носила водный характер. Причиной вспышки послужила контаминация возбудителями острых кишечных инфекций централизованных источников водоснабжения. Результаты эпидемиологического расследования обсуждены на уровне Правительства Челябинской области с последующим проведением мероприятий по реконструкции системы очистки воды действующих источников водоснабжения поселка.

**CHARACTERISTICS OF THE WATER OUTBREAK OF ACUTE INTESTINAL  
INFECTIONS IN THE URBAN-TYPE SETTLEMENT OF KROPACHEVO,  
ASHINSKY MUNICIPAL DISTRICT OF THE CHELYABINSK REGION**  
**Luchinina<sup>3</sup> S. V., Romanova<sup>1</sup> G. V., Kosareva<sup>1</sup> R. R., Zin'ko<sup>1</sup> N. Yu., Valiullina<sup>2</sup> N. N.,  
Galkina<sup>2</sup> E. A., Chirkova<sup>2</sup> G. G.**

<sup>1</sup>*Department of Rospotrebnadzor in Chelyabinsk region, Chelyabinsk, Russia*

<sup>2</sup>*Center of hygiene and epidemiology in Chelyabinsk region, Chelyabinsk, Russia*

<sup>3</sup>*South Ural state medical University, Chelyabinsk, Russia*

**Abstract.** The analysis of epidemiological patterns in the investigation of an outbreak of acute intestinal infections in the urban-type settlement of Kropachevo, Ashinsky municipal district, Chelyabinsk region, is presented. According to the results of the epidemiological survey, the characteristic features of the epidemic process were established, suggesting that the outbreak of acute intestinal infections was waterborne. The cause of the outbreak was contamination by pathogens of acute intestinal infections of centralized water sources. The results of the epidemiological investigation were discussed at the level of the Government of the Chelyabinsk Region, followed by measures to reconstruct the water treatment system of the existing water sources of the village.

**Введение.** Острые кишечные инфекции (ОКИ) являются актуальными для Челябинской области. Ежегодно прослеживается тенденция роста заболеваемости ОКИ вирусной этиологии. Показатели заболеваемости за последние 10 лет варьируют от 113,9 до 155,1 на 100 тыс. населения. Удельный вес кишечных вирусных инфекций в структуре ОКИ вырос с 14,8% до 27%. В этиологии кишечных вирусных инфекций преобладают ротавирусы, которые составляют от 100% (2008 г.) до 81% (2018 г.), норовирусы от 1,1% (2008 г.) до 19% (2018 г.). При этом норовирусы обладают более значительным эпидемическим потенциалом и опасностью возникновения крупных эпидемических вспышек, особенно при появлении новых геновариантов.

**Материалы и методы.** Акты эпидемиологического обследования, расследования вспышки, клинические данные, статистические данные по заболеваемости ОКИ, карты экстренного извещения, карты эпидемиологического обследования очагов ОКИ (форма №357-у). Использовались эпидемиологические описательно-оценочный и аналитический («случай-контроль») методы. Индикация возбудителей ОКИ в объектах окружающей среды и клиническом материале проводилась с применением молекулярно-биологического метода, с использованием наборов реагентов для выявления и дифференциации РНК ротавирусов группы А, норовирусов 2 генотипа, астровирусов (АмплиСенс Rotovirus/Norovirus/Astrovirus-F1). Генотипирование проведено в ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора. Статистическую обработку результатов выполняли стандартными методами вариационной статистики.

**Результаты и обсуждение.** В августе 2015 г. (с 15.08.–06.09.2015) в поселке городского типа Кропачево Ашинского муниципального района Челябинской области зарегистрирована водная вспышка ОКИ с числом пострадавших 58 человек, в том числе детей – 43 человека. При анализе динамики заболеваемости в период вспышки установлен резкий подъем заболеваемости в первые 3 дня (20 случаев заболеваний), что в 3 раза выше в сравнении с предыдущим периодом года. Отмечалась максимальная интенсивность эпидемического процесса в пределах одного инкубационного периода (621,1 на 100 т.н.). Социально-профессиональный состав заболевших характеризовался преобладанием среди взрослых – лиц, не относящихся к декретированным контингентам, среди детей – неорганизованных. По клиническим проявлениям заболевания протекали преимущественно в средней (61,9%) и легкой степени тяжести (38,1%). Удельный вес лабораторно подтвержденных диагнозов у больных составил 40%. Ведущими возбудителями в этиологии вспышки явились вирусы Норволк II генотипа (GII), различных субтипов (GII/4 Sydney\_2012 GII.Pe, GII.6/GII.P7,

ГП.17/ГП.Р17), которые составили в этиологической структуре заболеваний 65,2%. Находки ротавирусов составили 30,4%, бактериальная микрофлора (*Citrobacter freundii*) – 4,4%.

В поселке городского типа Кропачево проживает 4830 человек, в том числе детей – 950. Водоснабжение поселка осуществляется из 5 источников: все скважины, в том числе 2 скважины постоянно работающие, обеспечивающие городскую сеть водой на 90%, 2 скважины резервные, 2 – работающие, обслуживаемые структурным подразделением ЮУЖД-филиала ОАО «РЖД». Протяженность водопроводных сетей составляет 25089 м. Материал трубопроводов – чугун, небольшие участки выполнены стальными и пластиковыми трубопроводами. Водопроводная сеть строилась с 1948 по 1990 годы. Износ трубопроводов составлял от 42 до 100%. Водоводы соединены перемычками, позволяющими отключать отдельные скважины, на водопроводной сети установлена 31 водоразборная колонка.

По результатам эпидемиологического обследования домашних очагов больных было установлено, что все заболевшие проживали в домах, которые снабжались водой из 2-х скважин и использовали для питья и хозяйственно-бытовых целей водопроводную воду из городской сети в 98%, в том числе, некипяченую для питья в 36% случаев. Данные скважины межпластовые артезианские не напорные. Подъем воды из скважин осуществляется погружными насосами. Из скважин вода подавалась в водопроводную сеть напрямую, без накопительного резервуара, что создавало опасность возникновения гидравлического удара при отключении и возобновлении подачи электроэнергии, при одновременном включении всех насосов в работу. Приборы учета поднимаемой воды отсутствовали, учет велся расчетным способом. Скважины находились на расстоянии 3 км от населенного пункта, ниже уровня поселковых сетей. Хлорирование осуществляется в оголовке скважины. Отбор в источнике не проводился.

При расследовании вспышки было установлено, что принятая система обеззараживания воды данных скважин не обеспечивала регулярное и качественное обеззараживание питьевой воды, подаваемой населению поселка (хлорирование воды проводилось 1 раз в 10 дней, отсутствие автоматической системы дозирования, расчетной стационарной точки ввода обеззараживающего вещества). Не была организована система производственного контроля исходной воды и на всех этапах её подготовки. Кроме того, имели место нарушения требований санитарных правил, в части устройства скважин. Так, в охранной зоне главных водоводов (d 150, 200мм) и непосредственно над ними были расположены приусадебные участки восточной части поселка, отсутствовало ограждение территории первого пояса зоны санитарной охраны водопроводного сооружения резервуара, отсутствовало твердое покрытие к сооружениям. Отсутствовала аппаратура для систематического контроля дебита. По результатам микробиологических исследований воды из источника (скважин) и разводящей сети нестандартные результаты бактериологических исследований были зарегистрированы в 56% проб, и в 86% проб были обнаружены коли-фаги, что подтверждает бактериальное и вирусное загрязнение воды. Фактором микробного загрязнения воды в источниках водоснабжения, возможно, послужили обильные дожди в первой половине августа 2015 г., поскольку конструктивно оголовки скважин заглублены в приямок, ниже уровня земли, закрыты железобетонными плитами, павильонов над устьем скважин нет, герметичность затрубного и межтрубного пространства за годы эксплуатации с 1977 г. могла нарушиться. Нельзя исключить, как фактор микробного загрязнения, возможную гидравлическую связь водоносных горизонтов с рекой Бердяш, являющуюся приемником очищенных сточных вод канализационных очистных сооружений поселка Кропачево.

При опросе больных не выявлен единый пищевой фактор передачи инфекции. Отсутствовали данные и за контактно-бытовой путь передачи инфекции.

**Заключение.** Анализ эпидемических проявлений при расследовании вспышки ОКИ позволяет утверждать, что вспышка острых кишечных инфекций в августе–сентябре 2015 г. в поселке городского типа Кропачево Ашинского муниципального района Челябинской области носила водный характер. Причиной вспышки послужили нарушения требований санитарного законодательства к зонам санитарной охраны источников водоснабжения,

несоблюдение технологии обеззараживания воды, невыполнение защитных и охранных мероприятий на водозаборах.

В результате проведенного комплекса противоэпидемических (профилактических) мероприятий удалось локализовать очаг и предотвратить последующие эпидемические проявления. В соответствии с разработанным и утвержденным Правительством Челябинской области планом мероприятий по обеспечению качественного централизованного водоснабжения поселка проведены мероприятия по реконструкции системы очистки воды действующих источников водоснабжения поселка городского типа Кропачево Ашинского муниципального района Челябинской области.

#### Литература:

1. Зуева Л.П., Яфаев Р.Х. Эпидемиология: учебник - Санкт-Петербург, 2006 г.
2. Ковалева Е.П., Рябцева В.А., Каспарова Т.Ю. Эпидемиологический анализ. Москва, 1985.
3. Методические указания МУ 3.1.1.2969-11 «Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика норовирусной инфекции».
4. Методические указания. МУК 4.2.2746-10 «Порядок применения молекулярно-генетических методов при обследовании очагов острых кишечных инфекций с групповой заболеваемостью».
5. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1.1.3108-13 «Профилактика острых кишечных инфекций».

УДК: 616–022.39

### **РИСК ЗАРАЖЕНИЯ ТРАНСМИССИВНЫМИ КЛЕЩЕВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА ИРКУТСКА**

**Мельникова<sup>1</sup> О. В., Андаев<sup>1</sup> Е. И., Тимофеева<sup>2</sup> А. А., Быкова<sup>2</sup> Н. А.**

*<sup>1</sup>ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт»*

*Роспотребнадзора, Иркутск, Россия*

*<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», Иркутск, Россия*

**Аннотация.** В статье приводятся результаты анализа архивных материалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» о случаях заражения клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ) и клещевым риккетсиозом (КР) на территории г. Иркутска за многолетний период. Показано, что в антропогенных очагах инфицирование происходит в более ранние сроки и настороженность населения в отношении присасывания клеща значительно ниже. В городских зеленых зонах заражение ИКБ наблюдается чаще, чем КЭ, а возраст пациентов с КЭ и ИКБ ниже по сравнению с инфицировавшимися в природных очагах. С помощью инструментов ГИС выделены зоны разной степени риска встречи с переносчиком на территории областного центра.

### **RISK OF TRANSMISSIBLE TICK-BORNE INFECTIONS IN THE TERRITORY OF THE CITY OF IRKUTSK**

**Melnikova<sup>1</sup> O. V., Andaev<sup>1</sup> E. I., Timofeeva<sup>2</sup> A. A., Bykova<sup>2</sup> N. A.**

*<sup>1</sup>Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russia*

*<sup>2</sup>Irkutsk Regional Center for Hygiene and Epidemiological Surveillance, Irkutsk, Russia*

**Abstract.** The results of the Irkutsk Regional Center for Hygiene and Epidemiological Surveillance archival records analysis concerning cases of contracting the tick-borne encephalitis (TBE), Ixodid tick-borne borrelioses (ITBB) and tick-borne Asian rickettsiosis on the territory of Irkutsk city during long-term period. It was shown that the infecting season becomes earlier in anthropogenic foci, and the public wariness about tick bite is considerably lower. The ITBB contracting is oftener than TBE in urban green areas, and patients with ITBB and TBE are much younger in comparison with those infected in natural foci. Zones of different risk of contracting the tick bite had been detected on the territory of Irkutsk with the help of GIS-technologies.

**Введение.** Среди новых тенденций в эпидемиологии клещевого энцефалита и других природно-очаговых инфекций, экологически связанных с клещами, наиболее важными, пожалуй, являются огромное количество антропогенных очагов в окрестностях больших городов на эндемичных территориях и масштабная заболеваемость городских жителей [2], которые заражаются, зачастую, не выезжая за пределы урбанизированных территорий. Наблюдаемое в последние три десятилетия регулярное присутствие клещей в городских биотопах [6, 7] связано с усилением миграции в города и укоренением в них млекопитающих и птиц, являющихся прокормителями клещей. В поддержании городских популяций клещей играют роль и бесхозные домашние животные [5]. На сегодняшний день имеется множество публикаций, посвященных изучению клещей и их прокормителей в урбанистических ландшафтах и детальная библиография таких работ [1], но недостаточно сведений, касающихся случаев заражения людей «клещевыми» инфекциями (КИ) непосредственно на территории крупных городов. **Цель** данной статьи – анализ случаев заражения людей клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ) и клещевым риккетсиозом (КР) в границах города Иркутска и определение зон риска заражения с помощью инструментов ГИС.

**Материал и методы.** В работе использованы карты эпидемиологического расследования случаев КЭ ( $n=1583$ ), ИКБ ( $n=901$ ) с 1995 по 2018 г. и КР ( $n=263$ ) с 2001 по 2018 г. Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с применением программного приложения Microsoft Excel.

**Результаты и обсуждение.** Иркутск расположен в зоне южной тайги и, по районированию ареала КЭ [4], территориально входит в Западнобайкальский очаговый регион, где показано существование сочетанных очагов инфекций, экологически связанных с клещами [3]. Нападение клещей на человека в границах города происходит ежегодно и составляет значимую долю от всех регистрируемых обращений по поводу присасывания клеща –  $7,7 \pm 0,1\%$  [3]. Из всех зарегистрированных в исследуемый период случаев заболеваний иркутян КИ, на территории областного центра, со слов пострадавших, заразились 268 человек, из них КВЭ – 111 (7,0% от всех случаев), ИКБ – 132 (14,7%) и КР – 25 (9,5%). Двое больных КВЭ заразились алиментарным путем, 29 человек отрицают контакт с переносчиком (восемь пациентов с КВЭ, 18 – с ИКБ и три – с КР), остальные 88,4% пострадавших связывают свое заболевание с присасыванием клеща. При этом люди, заразившиеся КИ на территории города, значительно чаще ( $10,8 \pm 1,90$  против  $4,8 \pm 0,43\%$ ;  $P < 0,01$ ) не замечали присасывания переносчика, чем инфицировавшиеся за городской чертой, не ожидая встречи с клещом в урбанизированном ландшафте.

Большая часть случаев КВЭ и ИКБ имела место с 1995 по 2001 гг., что примерно соответствует динамике этих заболеваний по Иркутску в целом за те же годы. С 2001 по 2018 г. достоверных линейных трендов в динамике КВЭ, ИКБ и КР не прослеживается. В структуре заболеваемости, начиная с 2001 г. (с которого имеются сведения по всем трём инфекциям), имеются различия по долям рассматриваемых нозоформ (таблица): на территории областного центра заражение ИКБ происходит гораздо чаще ( $P < 0,01$ ), а КВЭ реже ( $P < 0,05$ ), чем в других местах.

Сравнение некоторых экологических и социально-демографических показателей, свойственных группам больных КВЭ, ИКБ и КР, заразившихся на территории города и за его пределами (таблица) с очевидностью свидетельствует о более ранней сезонности всех анализируемых инфекций в городских условиях. Это объясняется характерной для крупных городов повышенной, по сравнению с окрестностями, температурой и, соответственно, ранней активизацией измененных антропогенным влиянием очагов. По другим сравниваемым параметрам значимых отличий у групп людей, заразившихся в городе, не выявлено, кроме более короткого инкубационного периода при ИКБ ( $P < 0,01$ ) и более молодого возраста пострадавших при КВЭ и ИКБ ( $P < 0,01$  для КВЭ и  $P < 0,05$  для ИКБ).



**Таблица.** Некоторые эколого-эпидемиологические параметры заражения трансмиссивными клещевыми инфекциями жителей Иркутска на территории города и за его пределами

	Клещевой энцефалит		Иксодовые клещевые боррелиозы		Клещевой риккетсиоз	
	В городе	За городом	В городе	За городом	В городе	За городом
Доля (%) больных данной нозоформой от общего количества пациентов с КИ	37,6±3,99	49,2±1,29	44,3±4,10	33,3±1,22	16,8±3,08	17,5±0,98
Пик присасываний клещей	25 мая	8 июня	7 июня	13 июня	14 мая	6 июня
Пик заболеваний	10 июня	22 июня	22 июня	25 июня	8 июня	17 июня
Инкубационный период (дней)	10,3±1,00	11,0±0,25	8,8±0,81	11,6±0,39	11,9±4,18	8,9±0,65
Доля мужчин среди заболевших (%)	64,0±4,56	68,3±1,21	59,1±4,28	58,4±1,78	52,0±9,99	60,5±3,17
Средний возраст больных (лет)	27,9±1,99	34,3±0,50	35,9±2,15	41,1±0,77	33,0±4,48	28,4±1,42
Доля незанятого населения среди заболевших (%)	24,8±4,14	32,1±1,22	40,2±4,27	34,5±1,71	40,0±9,80	25,6±2,83

Все случаи заболеваний были визуализированы на электронной карте города с применением инструментов ГИС. На территории Иркутска выделено три группы зеленых зон, где, со слов пострадавших, они подверглись атаке инфицированных клещей: 1) жилые районы, расположенные по окраинам города и непосредственно граничащие с природными очагами; 2) парки, скверы, кладбища и садовые участки, расположенные в городской черте; 3) небольшие участки озеленений, расположенные внутри городских построек. Общая доля заражений в этих группах зон соответственно составила 50,6; 27,9 и 21,5%. География инфицирования пострадавших несколько различалась: инфицирование КВЭ чаще происходило на городских окраинах, непосредственно граничащих с лесными массивами или в новых микрорайонах и коттеджных поселках, расположенных практически в лесу (61,1%). Значительная доля заражений ИКБ и КР также пришлась на эти районы (43,2 и 44,0% соответственно), но заметная часть встреч с боррелиеформными и риккетсиеформными клещами произошла во 2 зоне – городских парках и скверах, в том числе в самом центре города – 33,3 и 44,0% соответственно.

Таким образом, зеленые зоны г. Иркутска представляют собой значительную опасность с точки зрения риска заражения трансмиссивными КИ. Наибольшему риску подвергаются жители городских районов, непосредственно примыкающих к пригородным очагам и слабо охваченных противоклещевыми обработками. Однако, несмотря на то, что городские парки и кладбища, расположенные городской черте, ежегодно обрабатываются акарицидами, значительная доля пострадавших встретилась с инфицированным клещом именно на этих территориях. Судя по тому, что заражение КИ на территории города происходит ежегодно, вполне вероятно существование многолетних антропогенных очагов в его границах, которые необходимо выявить и изучить все их компоненты.

#### Литература:

1. Акимов И.А., Небогаткин И.В. Иксодовые клещи (Acari: Ixodidae) в урбанистических ландшафтах (история изучения, страны) // Українська ентомофауністика, 2016. 7 (2). С. 1–34.
2. Злобин В.И. Клещевой энцефалит в Российской Федерации: этиология, эпидемиология и стратегия профилактики // Инфекционные болезни, 2010. 2. С. 13–21.
3. Козлова И.В. Научное обоснование и пути совершенствования экстренной диагностики и профилактики трансмиссивных клещевых инфекций в условиях сочетанности природных очагов: Дис. д-ра мед. наук. Иркутск, 2008. 307 с.

4. Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В. Районирование ареала клещевого энцефалита. Итоги науки и техники: Медицинская география. ВИНТИ. М., 1981. Т. 11. 148 с.
5. Романенко В.Н. Особенности распространения таежного клеща (*Ixodidae*) в г. Томске // Паразитология, 1999. 33, 1. С. 61–66.
6. Greenfield B.P.J. Environmental parameters affecting tick (*Ixodes ricinus*) distribution during the summer season in Richmond Park, London // Bioscience Horizons, 2011. 4, 2. P. 141–148.
7. Rizzoli A., Silaghi C., Obiegala A. et al. *Ixodes ricinus* and Its Transmitted Pathogens in Urban and Peri-Urban Areas in Europe: New Hazards and Relevance for Public Health. Front Public Health, 2014. 1; 2. P. 251. doi: 10.3389/fpubh.2014.00251.

УДК: 578.823.91

## **ФИЛОГЕОГРАФИЯ РОССИЙСКИХ РОТАВИРУСОВ ВИДА А ГЕНОТИПА G1**

**Морозова О. В., Сашина Т. А., Новикова Н. А.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В настоящее время данные филогеографического анализа российских штаммов ротавирусов вида А очень ограниченно представлены в литературе. С целью установления географических связей отечественных и зарубежных штаммов РВА, была проанализирована выборка нуклеотидных последовательностей ротавирусов G1 генотипа, который является одним из широко распространенных в мире. Наш анализ показал наличие в популяции российских G1 РВА как завозных штаммов (аллель G1-I), так и штаммов, которые по расчетам продолжительное время циркулируют в нашей стране (аллель G1-IIС).

## **PHYLOGEOGRAPHY OF RUSSIAN ROTAVIRUSES A, GENOTYPE G1**

**Morozova O. V., Sashina T. A., Novikova N. A.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** At present, the data of phylogeographic analysis of Russian rotavirus strains of species A are very limited in the literature. Rotavirus with G1 genotype is one of the most widespread in the world. In order to establish the geographical links of domestic and foreign strains of RVA, a subsample of nucleotide sequences of rotaviruses of the G1 genotype was analyzed. Our analysis showed the presence in the Russian G1 rotavirus population of both as imported strains (allele G1-I) and as strains that are estimated to circulate in our country for a long time (allele G1-IIС).

**Введение.** Термин «Филодинамика» был введен в 2004 году как синтез иммунодинамики, эпидемиологии и эволюционной биологии патогена [12]. Филодинамический анализ позволяет связать филогенетическую информацию с пространственно-временным распространением вирусов. Филогеография является одной из составляющих филодинамики, которая иллюстрирует географические связи между патогенами с разных территорий на основе их генетических данных, воссоздавая пути миграции штаммов.

Как было показано ранее, ротавирусы вида А (РВА) генотипа G1 показывают относительное разнообразие на территории России [2]. В Нижнем Новгороде в период 2005–16 гг. доля РВА-G1 в среднем составила 16,6% (6–50% в зависимости от сезона). В 2007–08 гг. произошло снижение активности циркуляции штаммов G1 генотипа, а в 2017–2018 гг. их доля составила 12,8%. При этом, период низкой активности циркуляции ротавирусов G1 характеризовался большим генетическим разнообразием.

Представляло научно практический интерес проследить географические взаимосвязи РВА-G1, циркулирующих на территориях разных стран. **Целью** работы явилось установление географического происхождения аллелей гена VP7 российских РВА-G1 типа.

**Материалы и методы.** В качестве материала для исследований использованы нуклеотидные последовательности гена VP7 с генотипом G1 ротавирусов, которые были

изолированы на территории России в период: 1984–2016 гг. и доступны в международной базе данных Genbank. В выборку вошли отечественные штаммы с территорий Нижнего Новгорода (36), Омска (10), Новосибирска (52), Смоленска (2), Красноярска (1), а также зарубежные штаммы с территорий США, Индии, Бельгии, Австралии, Германии, Японии, Кении, Италии и Бангладеш (всего 28 последовательности).

Дискретный пространственно-временной анализ исследуемых штаммов был выполнен с использованием программного обеспечения BEAST v.2.4.2 с применением библиотеки BEAGLE [11]. Для достижения значений ESS >> 200, размер MCMC цепи составил 20 млн. шагов. Расчет был выполнен в трех повторах. Полученные данные проанализированы в программе Tracer v1.7.1 (<http://beast.bio.ed.ac.uk/tracer>). Расчет фактора Байеса был осуществлен в программе SPREAD v. 1.0.7 [10].

**Результаты и обсуждение.** РВА-G1 детектируются как в России, так и за рубежом, являясь одним из широко распространенных вариантов [5, 7-9]. Ротавирусы G1 генотипа подразделяют на 11 филогенетических линий, пять из которых разделены на сублинии [3]. Нами было установлено, что на территории России циркулируют ротавирусы, относящиеся к двум филогенетическим линиям – G1-I и G1-II, с уровнем различий нуклеотидных последовательностей 7% [2]. Российские штаммы РВА с генотипом G1, несущие аллель G1-I, имеют полифелитичное происхождение. Ротавирусы, входящие в этот кластер, представлены географически разнородными штаммами. Наш анализ показал, что общий предок современных российских штаммов, несущих аллель G1-I, циркулировал на территории Европы (Бельгия, Италия), Азии (Индия, Япония, Бангладеш) и Африки (Кения). Кластер G1-I содержит штаммы, близкородственные штаммам из Бангладеш, имевшие общего предка в 1988 (1985–1991) году. Кроме этого, удалось установить близкородственные российским ротавирусам японские РВА с общим предком, датирующимся 1979 (1968–1987) годом. Стоит отметить, что японские штаммы дали начало ротавирусам, в дальнейшем обнаруженным на территории Нижнего Новгорода в 2014 году [1]. Эти штаммы являются двойными межгеногрупповыми реассортантами между Wa- и DS-1-подобными штаммами. Первые сообщения о таких реассортантах впервые были получены из Японии, в дальнейшем подобные РВА были изолированы во многих странах мира, а так же стали причиной крупных вспышек в Японии и Австралии [4, 6].

Как было показано ранее, российские штаммы G1-II относятся к трем сублиниям: G1-IIВ, G1-IIС и G1-IIЕ. Кластер G1-IIЕ представлен ротавирусами 80–90х годов, которые не получили дальнейшего распространения на нашей территории. Установить географическое происхождение этих штаммов не представляется возможным из-за ограниченности выборки нуклеотидных последовательностей этого временного отрезка, представленного в базе данных GenBank.

Кластеры G1-IIВ и G1-IIС включают современные российские штаммы; общий для этих линий предок по расчетам циркулировал в 1991 (1987–1995) году. Аллель G1-IIВ включает в себя как российские (Нижний Новгород, Новосибирск), так и зарубежные ротавирусы.

Линия G1-IIС широко представлена российскими РВА, которые были изолированы в 2003–2016 гг. с территорий Нижнего Новгорода, Новосибирска, Омска. Внутри этой линии показано два кластера с временем циркуляции общего предка в 1995 (1991–1999) году. Интересно, что один из кластеров включает штаммы с высокими индексами поддержки узлов дерева, демонстрируя близкое родство российских ротавирусов этой линии, изолированных в Нижнем Новгороде, Омске, Новосибирске, Красноярске. По всей вероятности, эти РВА присущи нашей территории и циркулируют на ней продолжительное время. Второй кластер аллеля G1-IIС так же включает российские РВА, но для установления происхождения этих штаммов необходимы дальнейшие исследования.

В настоящее время, массовая вакцинация против ротавирусной инфекции проводится в 93 странах мира. В России вакцины против РВА не внесены в национальный календарь прививок и по всей вероятности снижение доли G1 обусловлено инфекционно-иммунологическими перестройками в популяции ротавирусов.

**Заключение.** В представленном исследовании проведен филогеографический анализ российских штаммов ротавируса вида А с генотипом G1. Установлено, что популяция

российских G1 ротавирусов вариабельна, неоднородна по структуре, имеет несколько сублиний и представлена как штаммами, циркулирующими на нашей территории продолжительное время (линия G1-ПС), так и завозными штаммами РВА (линия G1-І).

Литература:

1. Морозова О.В., Сашина Т.А., Новикова Н.А. Обнаружение и молекулярная характеристика реассортантных DS-1-подобных G1P[8] штаммов ротавируса группы А // Вопросы вирусологии. 2017. Т. 62. № 1. С. 91–96.
2. Сашина Т.А. Молекулярная характеристика ротавируса группы А, циркулирующих в Нижнем Новгороде // Автореферат дис. канд. биол. наук. Москва. 2018. С. 24.
3. Detection and genetic characterization of group A rotavirus strains circulating among children with acute gastroenteritis in Japan / Phan T. G. [et al.] // J Virol. 2007. V. 81, N 9. P. 4645–4653.
4. Emergence of a novel equine-like G3P[8] inter-genogroup reassortant rotavirus strain associated with gastroenteritis in Australian children / Cowley D. [et al.] // J Gen Virol. 2016. V. 97, № 2. P. 403–410.
5. G1P[8] Rotavirus in children with severe diarrhea in the post-vaccine introduction era in Brazil: Evidence of reassortments and structural modifications of the antigenic VP7 and VP4 regions / Santos F. S. [et al.] // Infect Genet Evol. 2019. V. 69. P. 255–266.
6. Gastroenteritis outbreaks caused by a DS-1-like G1P[8] rotavirus strain, Japan, 2012–2013 / Yamamoto S. P. [et al.] // Emerg Infect Dis. 2014. V. 20, N 6. P. 1030–1033.
7. Genetic variability of VP7, VP4, VP6 and NSP4 genes of common human G1P[8] rotavirus strains circulating in Italy between 2010 and 2014 / Ianiro G. [et al.] // Virus Res. 2016. V. 220. P. 117–128.
8. Predominance of rotavirus G1[P8] genotype among under-five children with gastroenteritis in Mwanza, Tanzania / Hikororo A. [et al.] // J Trop Pediatr. 2014. V. 60, N 5. P. 393–396.
9. Rotavirus strain types circulating in Africa: Review of studies published during 1997–2006 / Todd S. [et al.] // J Infect Dis. 2010. V. 202 Suppl. P. S34–42.
10. SPREAD: spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics / Bielejec F. [et al.] // Bioinformatics. 2011. V. 27. N 20. P. 2910–2912.
11. Suchard M. A., Rambaut A. Many-core algorithms for statistical phylogenetics // Bioinformatics. 2009. V. 25. № 11. P. 1370–1376.
12. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens / Grenfell B. T. [et al.] // Science. 2004. V. 303, № 5656. P. 327–332.

УДК: 616.988:578-074/078(083/133)

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ  
В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ: ПРЕОБЛАДАЮЩИЕ СЕРОТИПЫ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ  
И ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ**

**Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Шилова Ю. А., Богуш З. Ф.**

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск,  
Республика Беларусь*

**Аннотация.** В работе представлены результаты молекулярно-эпидемиологического мониторинга энтеровирусной инфекции в Республике Беларусь с 2003 по 2018 гг. Показано значительное генетическое разнообразие циркулировавших возбудителей: за весь период наблюдения с помощью молекулярного типирования идентифицировано 30 серотипов энтеровирусов. К числу доминирующих серотипов принадлежали вирусы Коксаки В5, ЕСНО 30 и ЕСНО6, широко распространенных – вирусы Коксаки В3, В4, ЕСНО 9, 11. Проведен филогенетический анализ и идентифицированы отдельные генотипы, геногруппы, субтипы и геноварианты внутри наиболее распространенных серотипов энтеровирусов. Наибольшим генетическим разнообразием характеризовался вирус Коксаки В5: изоляты, идентифицированные с 1998 по 2018 гг. принадлежали к 11 субгеногруппам внутри двух основных геногрупп вируса. В периоды подъемов заболеваемости регистрировалась одновременная циркуляция нескольких геновариантов внутри каждого из доминирующих серотипов – Коксаки В5, ЕСНО 30, ЕСНО 6, ЕСНО 9.

# MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF ENTEROVIRAL INFECTION IN THE REPUBLIC OF BELARUS: PREDOMINANT SEROTYPES AND THEIR GENETIC DIVERSITY

**Poklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Shilova Yu. A., Bogush Z. F.**

*Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus*

**Abstract.** The paper presents the results of molecular epidemiological monitoring of enterovirus infection in the Republic of Belarus from 2003 to 2018. A significant genetic diversity of circulating pathogens has been shown: for the entire observation period, 30 enterovirus serotypes have been identified using molecular typing. Among the dominant serotypes were Coxsackievirus B5, Echovirus 30 and Echovirus 6, the widespread ones were Coxsackievirus B3, B4, Echoviruses 9 and 11. A phylogenetic analysis was carried out and individual genotypes, genogroups, subgenogroups and genovariants inside the most common enterovirus serotypes were identified. Coxsackievirus B5 was characterized by the highest genetic diversity: isolates identified from 1998 to 2018 belonged to 11 subgenogroups within two main genogroups of the virus. During the periods of morbidity increase in 2006, 2013–2014 and 2016–2017, the simultaneous circulation of several genovariants within each of the dominant serotypes – Coxsackievirus B5, Echovirus 30, 6, and Echovirus 9 – was recorded.

**Введение.** Молекулярно-эпидемиологические исследования энтеровирусной инфекции (ЭВИ) в Республике Беларусь впервые были осуществлены в 1996 г. при расшифровке вспышки серозного менингита, вызванного вирусом ЕСНО30 [1]. Начиная с 2003 г., в стране проводится регулярный молекулярно-эпидемиологический мониторинг ЭВИ, включающий молекулярное типирование возбудителей и их филогенетический анализ [2, 3].

**Целью** представленной работы был комплексный анализ результатов, полученных за весь период наблюдения, включающий установление преобладающих серотипов энтеровирусов (ЭВ), их генетического разнообразия и связанных с ними особенностей эпидемиологического процесса. Всего было исследовано 423 изолята ЭВ, выделенных из проб клинического материала пациентов и объектов окружающей среды. Детекцию ЭВ в исследуемых пробах осуществляли методом ОТ-ПЦР с использованием различных коммерческих наборов. Молекулярное типирование осуществляли на основании анализа нуклеотидной последовательности гена основного капсидного белка 423 изолятов ЭВ. Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST [4]. Филогенетическую реконструкцию проводили методами присоединения соседей и максимального правдоподобия, статистическую достоверность топологии оценивали с помощью бутстреппинга (1000 псевдореplikатов). Компьютерный анализ последовательностей проводили с помощью программы MEGA версии 6.0 [5].

**Результаты и обсуждение.** В период наблюдения 2003–2018 гг. зарегистрирована циркуляция 30 серотипов ЭВ, которые по частоте их обнаружения могут быть условно разделены на 3 группы: доминирующие серотипы ЭВ (58,9% всех идентифицированных изолятов, включают Коксаки B5 (28%), ЕСНО 30 (18,5%), ЕСНО 6 (12,4%)), распространенные серотипы (20,2% идентифицированных изолятов, в том числе Коксаки B3, B4, ЕСНО 9, 11), часто регистрируемые серотипы (14% идентифицированных, в том числе Коксаки A4, A6, A9, B2, ЕСНО 3, 7, 16, 25), редко выявляемые серотипы (6,6% от общего количества, включают Коксаки A1, 5, 8, 13, 16, 19, 21, 22, 24, Коксаки B1, ЕСНО 13, 14, 15, 19, 20, Энтеровирус C99).

Подъемы заболеваемости ЭВИ регистрировались в 2003, 2006, 2009, 2013–2014, 2016–17 годах и в основном были связаны с циркуляцией доминирующих, или распространенных серотипов ЭВ. Так, вспышка энтеровирусного менингита в 2003 г. была вызвана вирусами ЕСНО 30, Коксаки B5 и ЕСНО6, подъем заболеваемости в 2006 г. – вирусами Коксаки B5, ЕСНО 6, в 2009 г. – Коксаки B4, в 2013–14 гг. – ЕСНО 30, 11, 6, Коксаки B3), 2016–2017 гг. – ЕСНО 9, 6, Коксаки B5. Локальные обострения эпидситуации в

различных регионах республики в разные годы были вызваны вирусами ЕСНО 6, 9, 11, Коксаки В4.

Результаты филогенетического анализа доминирующих и распространенных серотипов ЭВ показали их значительную генетическую гетерогенность. Все они были представлены большим количеством геногрупп, генотипов и геновариантов. Так, филогенетический анализ изолятов ЕСНО 30 (n=78) обнаружил циркуляцию 9 геновариантов вируса. Все они принадлежали к ранее идентифицированным генотипам E, F, H. D. Вспышку 1996 г. вызвали 2 геноварианта вируса – E30/BLR/1996-1 и E30/BLR/1996-2. Геновариант E30/BLR/1996-1 принадлежал к субгруппе 1 генотипа F, геновариант E30/BLR/1996-2 – к генотипу H. Следует отметить, что данный геновариант является впервые описанным представителем генотипа H. После вспышки в Беларуси он распространился на юг по территории Украины, Грузии и других стран. В 2002 и 2006–2007 гг. была зарегистрирована циркуляция двух других геновариантов генотипа F – E30/BLR/2002, относящегося к субгруппе 2, и E30/BLR/2006-07, который входил в субгруппу 3 генотипа F. В 2003 г. была зарегистрирована самая крупная вспышка энтеровирусного менингита в стране. Одним из ее этиологических агентов был ЕСНО 30, принадлежащий к субгруппе 3 генотипа E. В 2013–2014 гг. подъем заболеваемости ЭВИ также был обусловлен вирусом ЕСНО 30, который принадлежал генотипу H и характеризовался достаточно заметной генетической гетерогенностью внутри геноварианта. В 2018 г. на территории Беларуси появилось 2 новых геноварианта ЕСНО 30, один из которых принадлежал генотипу H, другой – входил в субгруппу 3 генотипа E.

Вирус Коксаки В5 являлся наиболее часто регистрируемым серотипом за весь период наблюдения. Его циркуляция наблюдалась как в годы подъемов заболеваемости, так и в периоды относительного эпидемического благополучия. Анализ нуклеотидных последовательностей гена основного капсидного белка 118 изолятов Коксаки В5, идентифицированных в Беларуси с 1998 по 2018 гг., выявил их принадлежность, по меньшей мере, к 11 субгеногруппам внутри двух ранее идентифицированных геногрупп вируса – Коксаки В5-А и Коксаки В5-В. Внутри наиболее крупных субгеногрупп обнаруживались отдельные геноварианты, которые включали изоляты, объединенные временным промежутком циркуляции. В отличие от вируса ЕСНО 30, для Коксаки В5 была характерна параллельная циркуляция множественных геновариантов, принадлежащих как к различным субгеногруппам, так и разным геногруппам. Вплоть до 2018 г. не выявлено преобладание среди циркулирующих геновариантов одной геногруппы.

Вирус ЕСНО 6 регистрировался, как один из преобладающих серотипов, в 2003, 2006 и 2013–2014 гг. Анализ 52 изолятов ЕСНО позволил установить, что за весь период наблюдения в Беларуси циркулировало 4 различных геноварианта этого серотипа, каждый из которых обнаруживался на протяжении нескольких лет. В годы подъемов заболеваемости, сопровождающиеся преобладанием ЕСНО 6, регистрировалась одновременная циркуляция нескольких геновариантов вируса: трех – в 2006 г. и двух – в 2013 г.

В составе других распространенных серотипов, вызвавших подъемы заболеваемости ЭВИ (Коксаки В3, В4, ЕСНО 9, 11) также были идентифицированы отдельные геноварианты, которые сменяли друг друга с течением времени и/или циркулировали параллельно. Максимальное количество одновременно циркулирующих геновариантов среди вирусов ЕСНО было зарегистрировано для вируса ЕСНО 9. В 2016 г., когда этот серотип вызвал заметный рост заболеваемости тяжелыми неврологическими формами ЭВИ, была отмечена одновременная циркуляция 4 различных геновариантов вируса, принадлежащих к 3 разным геногруппам. Среди идентифицированных геновариантов один являлся эндемичным как для Беларуси, так и для Европейского региона России, а остальные 3 геноварианта, объединяли вирусы ЕСНО 9, циркулировавшие в различные периоды времени на очень удаленных друг от друга территориях.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли молекулярно-эпидемиологических исследований в системе надзора за ЭВИ с целью выявления

закономерностей, лежащих в основе изменений текущей эпидемиологической ситуации и прогноза ее дальнейшего развития.

Литература:

1. Amvrosieva T. V. Viral water contamination as the cause of aseptic meningitis outbreak in Belarus / T. V. Amvrosieva, L. P. Titov, M. Mulders, T. Hovi, O. V. Dyakonova, V. I. Votyakov, Z. B. Kvacheva, V. F. Eremin, R. M. Sharko, S. V. Orlova, O. N. Kazinets, Z. F. Bogush // Cent. Eur. J. Public. Health. – 2001. – V. 9 (3). – P. 154–7.
2. Amvrosieva TV, Enteroviral infection outbreak in the Republic of Belarus: principal characteristics and phylogenetic analysis of etiological agents / T.V. Amvrosieva, N.V. Paklonskaya, A.A. Biazruchka, O.N. Kazinets, Z.F. Bohush, E.G. Fisenko // Cent. Eur. J. Public. Health. – 2006. – V. 14 (2). – P. 67–73.
3. Поклонская Н.В., Генетическое разнообразие эпидемически значимых возбудителей энтеровирусной инфекции / Н.В. Поклонская, А.А. Безручко, Т.В. Амвросьева, К.Л. Дедюля // Мол. медицина. – 2011. – № 3. – С. 48–53
4. Basic local alignment search tool / S. Altschul [et al.] // J. Mol. Biol. – 1990. – V. 215. – P. 403–410.
5. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 / K. Tamura [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2013. – V. 30. – P. 2725–2729.

УДК: 616.98:578.833:614.4

**КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ  
ЭПИДЕМИЧЕСКИХ И ЭПИЗОТИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ КРЫМСКОЙ  
ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(НА ПРИМЕРЕ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ)**

**Прислегина Д. А., Дубянский В. М., Василенко Н. Ф., Малецкая О. В., Куличенко А. Н.**  
*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** В работе представлены результаты комплексного анализа факторов, влияющих на интенсивность эпидемических и эпизоотических проявлений Крымской геморрагической лихорадки. С использованием метода Кульбака были определены коэффициенты информативности для биотических, природно-климатических и социальных факторов, а также косвенных показателей циркуляции вируса ККГЛ (всего 14) по каждому административному району Ставропольского края. В ходе исследования установлено, что наиболее информативными факторами, оказывающими выраженное влияние на эпидемиологическую ситуацию по КГЛ, являются температура воздуха и количества выпавших осадков предшествующего летнего сезона и зимне-весеннего периода текущего года, а также косвенные показатели циркуляции вируса ККГЛ – число зарегистрированных больных и количество эпидемически неблагополучных населенных пунктов.

**COMPREHENSIVE ANALYSIS OF FACTORS EXPLAINING THE INTENSITY  
OF EPIDEMIC AND EPIZOOTIC CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER  
MANIFESTATIONS IN THE RUSSIAN FEDERATION  
(ON THE EXAMPLE OF STAVROPOL KRAI)**

**Prislegina D. A., Dubyanskiy V. M., Vasilenko N. F., Maletskaya O. V., Kulichenko A. N.**  
*Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia*

**Abstract.** The results of comprehensive analysis of factors explaining the intensity of epidemic and epizootic CCHF manifestations are presented in this article. The informativeness coefficients for biotic, climatic, social factors and indirect indicators CCHF -virus circulation (it is just 14 types of data) for each administrative district of the Stavropol region have been calculated by Kullback's method. The study revealed that the most informative factors affecting the CCHF epidemiological situation are average temperature and rainfall of previous summer season and winter-spring period of current year as well as indirect indicators CCHF-virus circulation (number of CCHF cases in the past year, numbers of localities where CCHF patients were reported).

**Введение.** Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – особо опасная арбовирусная инфекция, представляющая серьезную угрозу для здоровья населения Российской Федерации [1, 5, 6, 7]. Случаи данного заболевания ежегодно регистрируются в эндемичных регионах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, а результаты проводимого эпизоотологического мониторинга свидетельствуют о постоянной циркуляции вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) на территории всех субъектов юга России (за исключением Республики Северная Осетия-Алания) [1, 5]. Сохраняющаяся напряженная эпидемиологическая ситуация по КГЛ на территории нашей страны требует совершенствования тактики организации и проведения профилактических мероприятий. Препараты для специфической профилактики данной инфекции на сегодняшний день не разработаны [1]. Снижения уровня заболеваемости населения возможно добиться только при эффективном выполнении неспецифических профилактических мероприятий, целенаправленное планирование которых должно быть основано на результатах эпизоотологического прогноза, учитывающего комплексное действие наиболее значимых факторов на интенсивность эпидемических и эпизоотических проявлений данной инфекции.

**Материалы и методы.** В качестве данных при проведении комплексного анализа факторов были использованы числовые значения биотических, природно-климатических и социальных показателей, а также косвенных показателей циркуляции вируса ККГЛ (всего 14) по каждому административному району Ставропольского края. Биотические факторы – результаты эпизоотологического мониторинга и лабораторного исследования полевого материала на наличие маркеров возбудителя КГЛ: численность имаго и преимагинальных фаз развития клещей *Hyalomma marginatum* предыдущего эпидемического сезона (значения индексов обилия), инфицированность *H. marginatum* вирусом ККГЛ предыдущего эпидемического сезона (число положительных пулов) и численность прокормителей имаго *H. marginatum* – крупного рогатого скота (на начало текущего года). Природно-климатические факторы были представлены ежемесячными значениями показателей предыдущего эпидемического сезона и текущего года, влияющих на развитие клещей-переносчиков вируса ККГЛ: температуры воздуха (°C), относительной влажности воздуха (%), количества выпавших осадков (мм), высоты снежного покрова (см) и скорости ветра (м/с). В качестве социальных факторов изучались показатели выполнения акарицидных обработок природных биотопов и пастбищ (га, % от плана), противоклещевых обработок сельскохозяйственных животных (голов, % от плана), а также количество лиц, обратившихся в лечебно-профилактические организации (ЛПО) по поводу укусов клещей и косвенных показателей циркуляции вируса ККГЛ – число выявленных случаев заболевания КГЛ и количество населенных пунктов, в которых были зарегистрированы случаи заболевания КГЛ.

Материалом исследования послужили данные официальной статистической отчетности и учетно-отчетная документация – ежегодные итоговые донесения по заболеваемости КГЛ, предоставленные Управлением Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ставропольскому краю и результаты эпизоотологического мониторинга возбудителя КГЛ, проводимого специалистами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в Ставропольском крае и ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора за период 2012–2018 гг. Гидрометеорологические данные были получены из базы данных ФГБУ «ВНИИГМИ-МЦД» <http://www.meteo.ru>, архивов метеостанций <https://rp5.ru/> и дневников погоды <https://www.gismeteo.ru/diary/>. Оценка информативности факторов проводилась по методу Кульбака [2, 3, 4, 8]. Математические расчеты выполнялись автоматически в программе на основе Microsoft Excel 2010, разработанной д.б.н. В.М. Дубянским [4, 6]. Согласно используемой методике, исследуемый фактор способен оказать выраженное влияние на эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию по КГЛ при значении коэффициента информативности  $\geq 0,5$  [4, 8].

**Результаты и обсуждение.** Наибольшие значения коэффициентов информативности в течение всего исследуемого периода (от 3,3 до 1,1) были получены для температуры воздуха и количества выпавших осадков предшествующего летнего сезона и зимне-весеннего



периода текущего года. Результаты могут быть объяснены выраженным действием данных природно-климатических факторов как на развитие преимагинальных фаз, определяющих численность популяций следующей генерации, так и на сохранение жизнеспособности зимующих членистоногих переносчиков вируса ККГЛ.

Высокая информативность косвенных показателей циркуляции вируса ККГЛ (от 1,3 до 2,8) свидетельствует о потенциальной эффективности их использования в качестве предвестников осложнения эпидемиологической ситуации в предстоящем эпидемическом сезоне (особенно при отсутствии положительных находок маркеров вируса ККГЛ в пробах полевого материала, собранного на территории, где были зарегистрированы случаи заболевания населения в предыдущем году).

Низкие значения коэффициентов информативности ( $< 0,5$ ), полученные для показателей акарицидных обработок (фактора, оказывающего регулирующее действие на численность клещей-переносчиков вируса ККГЛ), могут быть объяснены достаточными (согласно предоставляемым сведениям) объемами проводимых противоклещевых мероприятий как в районах с низкой, так и с высокой заболеваемостью в течение всего исследуемого периода.

Невысокая информативность биотических факторов ( $\leq 0,6$ ) является отражением небольшого числа вирусифорных пулов *H. marginatum*, а также отсутствием выраженных различий показателей численности поголовья сельскохозяйственных животных, (являющихся прокормителями имаго клещей данного вида) между сельскими районами с разной интенсивностью проявлений эпидемического процесса КГЛ.

Низкие значения коэффициентов информативности ( $< 0,5$ ), полученные для показателей обращений населения в ЛПО по поводу укусов клещей могут быть объяснены тем, что в эпидемически неблагоприятных по КГЛ сельскохозяйственных районах Ставропольского края местное население чаще удаляет клещей самостоятельно. Поэтому основную долю обращений составляют жители крупных промышленных и курортных городских округов, на территории которых местные случаи заражения вирусом ККГЛ регистрируются крайне редко. Поэтому фактическое число лиц, пострадавших от укусов клещей в отдельных административных районах, значительно отличается от официально зарегистрированного.

**Заключение.** Таким образом, высокие значения коэффициентов информативности температуры воздуха и количества выпавших осадков предшествующего летнего сезона и зимне-весеннего периода текущего года, а также косвенных показателей циркуляции вируса ККГЛ свидетельствуют о первоочередности учета их влияния на эпидемиологическую ситуацию по данной инфекции при прогнозировании заболеваемости и планировании профилактических мероприятий. Вместе с тем следует отметить, что значения исследуемых факторов не являются постоянной величиной и ежегодно изменяются (меняя при этом силу и направление своего действия на эпидемический и эпизоотический процессы КГЛ). Поэтому при составлении эпидемиологического прогноза информативность для всех выбранных 14 параметров необходимо рассчитывать ежегодно.

#### Литература:

1. Василенко Н.Ф. Причины обострения эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2016 году / Н.Ф. Василенко, О.В. Малецкая, Е.А. Манин, Д.А. Прислегина, А.С. Волынкина, Я.В. Лисицкая, Л.И. Шапошникова, Т.В. Таран, А.Н. Куличенко // ЖМЭИ. – 2017. – № 5. – С. 17–23.
2. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
3. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – Л.: Медицина, 1973. – 141 с.
4. Дубянский В.М. Опыт системного анализа динамики весенней численности большой песчанки в Центральных Кызылкумах: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.08 / Дубянский Владимир Маркович. – Алматы, 2007. – 22 с.

5. Куличенко А.Н. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах в 2017 г. (Аналитический обзор) / А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Д.А. Прислегина, Н.Ф. Василенко, Т.В. Таран, О.В. Семенко, Е.А. Манин, В.М. Дубянский. – Ставрополь, 2018. – 112 с.
6. Прислегина Д.А. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка в Ставропольском крае: современные клинико-эпидемиологические аспекты и новый подход к прогнозированию заболеваемости / Д.А. Прислегина, В.М. Дубянский, О.В. Малецкая, А.Н. Куличенко, Н.Ф. Василенко, Е.А. Манин, И.В. Ковальчук // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2018. – № 3. – С. 49–56.
7. Прислегина Д.А. Эпидемиологические особенности природно-очаговых инфекционных болезней в Ставропольском крае в 2015 году / Д.А. Прислегина, О.В. Малецкая, Н.Ф. Василенко, Е.А. Манин, И.В. Ковальчук // Здоровье населения и среда обитания. – 2017. – № 1. – С. 52–55.
8. Прогнозирование эпизоотической активности чумы в Приаралье и Кызылкумах / М.А. Дубянский [и др.] – Нукус: Каракалпакстан, 1992. – 240 с.

УДК: 616–036.22

### **ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ОСТРЫМ ГЕПАТИТОМ В В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ**

**Скворода<sup>1,2</sup> В. В., Буцкая<sup>2</sup> М. Ю.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Педиатрический Медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия*

**Аннотация.** Исследование посвящено детальному анализу эпидемиологического надзора за острым гепатитом В на территории Северо-Западного федерального округа оценке эффективности проводимого эпидконтроля, а так же противоэпидемических и профилактических мероприятий. Проведен вакцинальный аудит пациентов с острым гепатитом В за 2016–2018 гг., с выяснением причин неэффективности проведенной иммунопрофилактики. Так же были проведены молекулярно-генетические исследования с последующим составлением карты распределения генотипов/субтипов вируса гепатита В на территории Северо-Западного федерального округа.

### **EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE OF ACUTE HEPATITIS B IN THE NORTH-WESTERN FEDERAL DISTRICT**

**Skvoroda<sup>1,2</sup> V. V., Butskaya<sup>2</sup> M. Yu.**

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur*

<sup>2</sup>*Saint-Petersburg State Pediatric Medicine University*

**Abstract.** The study is devoted to a detailed analysis of the epidemiological surveillance of acute hepatitis B in the North-West Federal District, assessment of the effectiveness of the control, as well as anti-epidemic and preventive measures. Vaccine audit of patients with acute hepatitis B for 2016–2018 has been carried out with identifying the causes of the ineffectiveness of immunization. Molecular genetic studies were also carried out with the subsequent mapping of the distribution of genotypes / subtypes of the hepatitis B virus in the North-West Federal District.

**Введение.** Гепатит В (ГВ) – это управляемая инфекция, которая имеет одно из приоритетных направлений в сфере общественного здравоохранения. С момента обнаружения первой частицы, оказавшейся вирусом гепатита В (ВГВ), прошло полвека, однако и на сегодняшний момент ГВ не теряет своей актуальности, как на международном уровне, так и на отечественном уровне. Всемирная организация здравоохранения полна

решимости элиминировать вирусный гепатит, как серьезную угрозу здоровью населения планеты, к 2030 г. Поэтому в августе 2013 г. была разработана программа «Элиминация острого гепатита В на территории Северо-Западного федерального округа Российской Федерации», целями которой является подготовка распорядительных и методических документов для реализации Программы, поддержание высокого уровня охвата профилактическими прививками у детей и взрослых и ликвидация индигенных случаев ОГВ на территории всех субъектов Северо-Западного федерального округа (СЗФО).

**Материалы и методы.** В работе были применены аналитический (ретроспективный эпидемиологический анализ) и экспериментальные (молекулярно-генетические методы, ПРЦ-метод) методы исследования. В качестве материалов исследования использовались статистические данные о текущей заболеваемости ОГВ и о заболеваемости за предшествующий период (2000–2018 гг.) в СЗФО; данные об охвате иммунопрофилактическими прививками населения в 2017 г., и сыворотки крови пациентов ОГВ на территории СЗФО (2015–2019 гг.).

**Результаты и обсуждение.** СЗФО на рубеже XX–XXI веков находился на втором месте по эпидемически неблагоприятным регионам по ОГВ среди всех федеральных округов РФ. В 2000 г. на территории СЗФО был зарегистрирован самый высокий показатель заболеваемости (49,1 на 100 тыс. населения). В период эпидемиологического надзора за ОГВ (2000–2017 гг.) заболеваемость снизилась более чем в 77 раз и в 2017 г. составила 0,55 на 100 тыс. населения.

По предварительным данным ФБУН НИИЭМ им. Пастера, в 2018 г. на территории СЗФО зарегистрировано 49 новых случаев ОГВ, из них 6,1% случаев (n=3) пришлось на детей и подростков от 0 до 17 лет, остальные 93,8% (n=46) были зарегистрированы у взрослых.

Более детальное рассмотрение распределения больных на территориях федерального округа выявило, что в пяти субъектах (Псковская, Ленинградская, Новгородская области, Ненецкий автономный округ (НАО) и Республика Карелия) не было зарегистрировано ни одного нового случая ОГВ. Самое большое количество случаев зафиксировано в Санкт-Петербурге (n=36), во всех остальных субъектах число колебалось от 1 до 6.

ГВ управляется путем вакцинопрофилактики, и поэтому одним из основных критериев оценки эпидемиологического контроля за ГВ является показатели эффективности проведенной иммунопрофилактики у разных возрастных групп. Мы рассматривали охваты прививками трех возрастных групп: дети до 1 года; дети в возрасте 1 год – 1 год 11 месяцев 29 дней; взрослые 18–55 лет на территории СЗФО и субъектах федерального округа, данные представлены в таблице.

**Таблица.** Показатели охвата вакцинопрофилактики у различных возрастных групп в РФ, СЗФО и на субъектах СЗФО в 2017 г.

Территория	0–11 месяцев 29 дней, %	1 год – 1 год 11 месяцев 29 дней, %	18–55 лет, %
СЗФО	49,6	97,5	91,9
Республика Карелия	40,8	97,7	79,0
Республика Коми	47,7	96,9	90,7
Архангельская область	46,4	96,9	83,7
Ненецкий авт. округ	33,1	93,9	92,3
Вологодская область	45,1	97,6	96,1
Калининградская область	52,8	96,9	95,9
Ленинградская область	60,9	97,6	97,4
Мурманская область	48,7	97,5	83,4
Новгородская область	47,4	97,4	70,6
Псковская область	41,6	95,4	92,9
Санкт-Петербург	50,3	98,1	98,0

В 2017 г. результаты анализа выявили, что в возрастной группе детей до 1 года охват вакцинацией, как на территории СЗФО (49,6%), так и на субъектах не достигает минимального 95,0% уровня и варьируется от 33,1% в НАО до 60,8% в Ленинградской области. Охват прививками детей в возрасте 1 год – 1 год 11 месяцев 29 дней в СЗФО и на его субъектах составлял более 95,0%, за исключением НАО – 93,9%. У взрослых в возрасте 18-55 лет охват прививками в СЗФО составил 91,9%. Показатель более 80% наблюдался на всех субъектах, кроме Новгородской области (70,6%) и республики Карелия (79,0%).

У 170 пациентов ОГВ за 2016–2018 гг. был проведен вакцинальный аудит, который показал, что у 70,0% не было проведена иммунизация; у 25,3% – прививочный анамнез был неизвестен, и в 4,5% вакцинация была проведена. Изучение документации привитых пациентов ОГВ показало, что основной причиной было нарушение схемы проведения вакцинации.

С 2015–2019 гг. лаборатория вирусных гепатитов ФБУН НИИЭМ им. Пастера исследовали 96 образцов крови пациентов ОГВ. 88,5% изолятов принадлежала к генотипу D, также были обнаружены изоляты генотипов А (10,5%) и С (1%). На всех территории СЗФО встречаются все субтипы генотипа D. Субгенотип D2 является самым распространённым и встречается в 42,4% от всех изолятов генотипа D, D3 и D1 выявлялся в 34,15% и 23,5% соответственно.

Анализ структуры субтипов выделенных на отдельных территориях СЗФО, показал мозаичное распространение субгенотипов ВГВ. Субгенотип D1 превалировал в Псковской, Архангельской и Мурманской областях; D2 – Ленинградская область, Санкт-Петербурге и республике Карелия; D3 – Вологодской, Калининградской областях и Республике Коми. Из всех субгенотипов А на территории СЗФО встречался только А2 в Санкт-Петербурге и Калининградской области. Единичный случай С1 был зарегистрирован так же в Санкт-Петербурге.

**Заключение.** Эпидемиологический анализ заболеваемости ОГВ позволяет сделать вывод о том, что в СЗФО эпидемиологическая ситуация данной инфекцией имеет положительную динамику, и каждый год количество регистрации новых случаев заболевания становится все меньше. Оценка охвата вакцинопрофилактики позволяет сделать вывод о необходимости соблюдения схем прививания против ГВ как среди детей, так и среди взрослых. Появление новых данных о распространённости генотипов ВГВ позволит повлиять на эпидемический процесс и его исход.

УДК: 616.921:616.036.11:616.9:(470.61)

## **АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ СЛУЧАЕВ ГРИППА И ОРВИ НЕ ГРИППОЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Слись<sup>1</sup> С. С., Ковалев<sup>1</sup> Е. В., Ерганова<sup>1</sup> Е. Г., Ненадская<sup>1</sup> С. А.,  
Мирошниченко<sup>1</sup> Г. А., Литовко<sup>2</sup> А. Р.**

*<sup>1</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Россия*

*<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Проведен анализ результатов лабораторного мониторинга по Ростовской области за 2 эпидемических сезона 2016–2017 гг. и 2017–2018 гг., выявлен полиморфизм возбудителей, вирусы гриппа А(Н3N2) и гриппа В встречались чаще, чем А(Н1N1)рdm09; в сезон 2016–2017 гг. с 48 недели 2016 (21.11.2016–27.11.2016) по 05 неделю 2017 (23.01.2017–29.01.2017) циркулировал вирус гриппа А(Н3N2) на его долю в структуре пришлось до 92,7% на 1 недели 2017 года, а начиная с 6-й недели 2017 года (30.01.2017–05.02.2017) доминирующие позиции занял вирус гриппа В на фоне некоторого снижения заболеваемости. В сезон 2017–2018 гг. циркулировали все 3 вируса гриппа, с незначительным перевесом А(Н1N1)рdm09 за счет взрослого населения. Острые респираторные вирусные заболевания (ОРВИ) не гриппозной этиологии чаще выявляли у детей от 0–2 лет и 3–6 лет – это случаи риновирусной инфекции, аденовирусной и РС-вирусной.

## ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF THE INFLUENZA AND ARVI CASES OF NON-INFLUENZA ETIOLOGY ON THE TERRITORY OF ROSTOV REGION

Slis<sup>1</sup> S. S., Kovalev<sup>1</sup> E. V., Erganova<sup>1</sup> E. G., Nenadskaya<sup>1</sup> S. A.,  
Miroshnichenko<sup>1</sup> G. A., Litovko<sup>2</sup> A. R.

<sup>1</sup>*Department of Federal Service on Surveillance for Consumer rights protection and human well-being in the Rostov region, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>2</sup>*FBHI «Center of hygiene and epidemiology in Rostov region», Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The analysis of the results of laboratory monitoring in the Rostov region for 2 epidemic seasons of 2016–2017 and 2017–2018 was carried out, a polymorphism of pathogens, influenza A(H3N2) and influenza B viruses were revealed more frequently than A(H1N1)pdm09; during the season 2016–2017 from week 48 of 2016 (21.11.2016–27.11.2016) to week 05 of 2017 (23.01.2017–29.01.2017) the influenza A (H3N2) virus was ongoing. Its share in the structure accounted up to 92.7% in the week 01 of 2017, as per week 06 of 2017 (30.01.2017–05.02.2017), the influenza B virus dominated due to a slight incidence rate decrease. During the 2017–2018 season, 3 influenza viruses were circulating, with a slight preponderance of the A(H1N1)pdm09 virus due to the adult population. Acute respiratory viral infections (hereinafter-A.R.V.I.) of non-influenza etiology were more often detected in children at the age from 0–2 years and 3–6 years. Those were cases of rhinovirus infection, adenovirus and RS-virus (Respiratory syncytial virus).

**Введение.** Ежегодно в Российской Федерации до 90% всех регистрируемых инфекционных болезней приходится на ОРВИ, значительный экономический ущерб от ОВРИ – около 90% потерь, наносимых всеми инфекционными заболеваниями, обусловлен не столько вспышками гриппа, сколько высокой заболеваемостью прочими ОРВИ в течение года [1, 2].

Эпиднадзор за гриппом и ОРВИ на территории Ростовской области проводился еженедельно в течение всего года, так в зимний период (с 40-й недели по 20-ю неделю следующего года) и в летний период (с 20–40 недели). По данным литературы с учетом развития эпидемического процесса выделены 4 периода: эпидемический (январь–март), послепандемический (март–апрель), межэпидемический (май–октябрь) и предэпидемический (ноябрь–декабрь); обращает на себя внимание, что эпидемический период в сезон 2016–2017 гг. и 2017–2018 гг. невозможно выделить в Ростовской области, так как отсутствовало превышение эпидемических порогов среди совокупного населения, хотя в указанный период отмечался эпидемический подъем заболеваемости с незначительной интенсивностью.

**Материалы и методы.** Для проведения исследования использовались еженедельные суммарные данные лабораторных исследований на грипп и ОРВИ по Ростовской области в возрастных группах: дети в возрасте от 0–2 лет, 3–6 лет, 7–14 лет, дети от 15 до 17 лет включительно, взрослые старше 18 лет. Диагностика гриппа проводилась на тест-системах «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» [3], а для диагностики возбудителей ОРВИ применялась тест-система «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» [4].

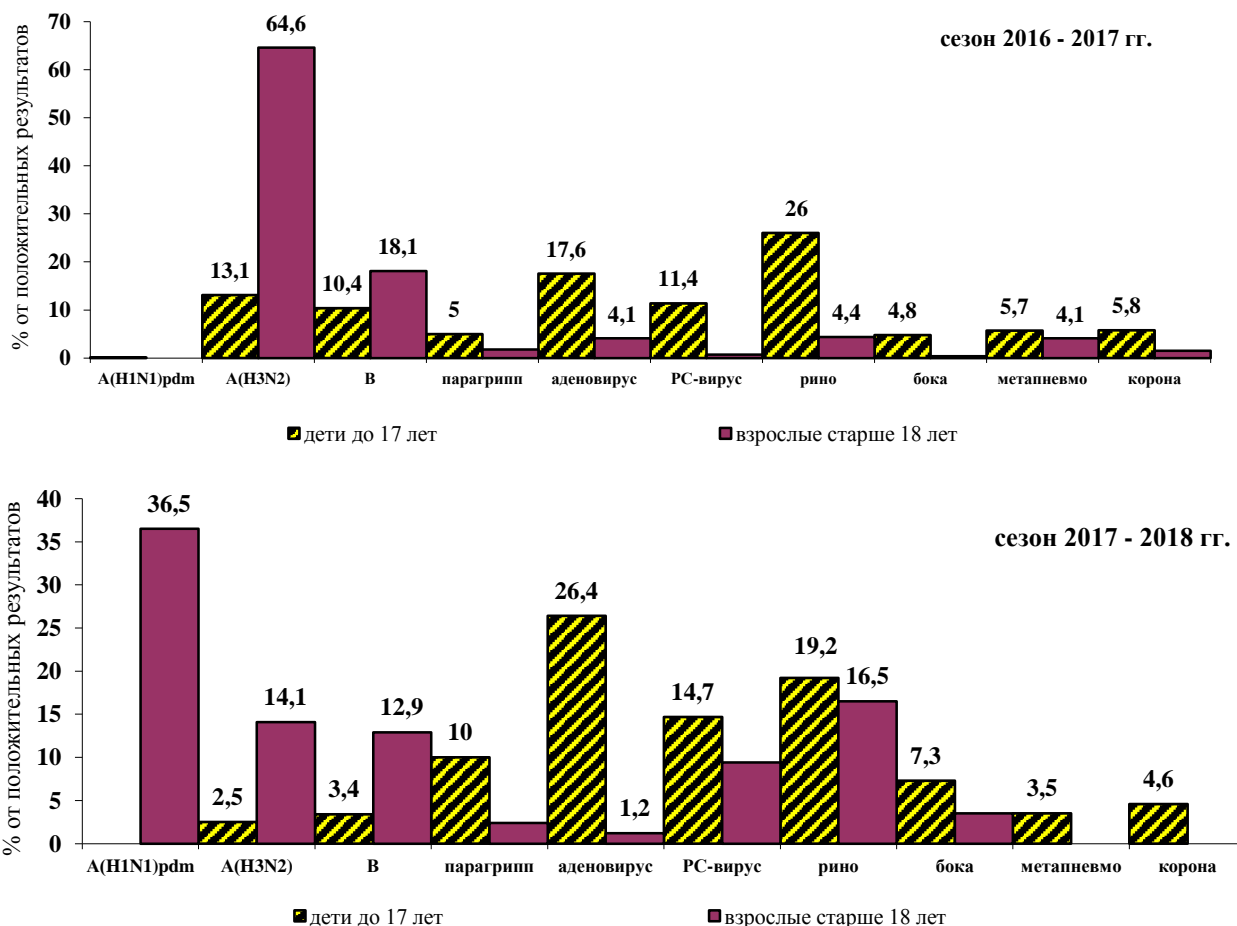
**Результаты и обсуждение.** В Ростовской области проводится еженедельный вирусологический мониторинг гриппа и ОРВИ, по результатам исследований клинического материала от 4 938 больных; в сезон 2016–2017 гг. у детей в возрасте до 17 лет в этиологической структуре возбудителей ОРВИ доминировали риновирусы и аденовирусы (26,0% и 17,6% соответственно от общего количества положительных находок). Несколько реже встречались вирусы гриппа А, респираторно-синцитиальные вирусы, вирусы гриппа В (13,2%, 11,4% и 10,4% соответственно); вирусы гриппа А(H3N2) – 13,1%.

В сезон 2017–2018 гг. у детей в возрасте до 17 лет в этиологической структуре возбудителей ОРВИ доминировали аденовирусы и риновирусы (26,4% и 19,2% соответственно от общего количества положительных находок каждый). Несколько реже

встречались респираторно-синцитиальные вирусы, вирусы гриппа А, парагриппа (14,7%, 10,9% и 10,0% соответственно); вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09 – 8,4%.

В сезон 2016–2017 гг. у взрослого населения старше 18 лет в этиологической структуре возбудителей ОРВИ доминировали вирусы гриппа А (64,9% от общего количества положительных находок); в основном вирусы гриппа А(Н3N2) – 64,6%, реже встречались вирусы гриппа В (18,1%).

В сезон 2017–2018 гг. у взрослого населения старше 18 лет в этиологической структуре возбудителей ОРВИ доминировали вирусы гриппа А (54,1% от общего количества положительных находок); вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09 – 36,5%, а на вирус гриппа А(Н3N2) – 14,1% (рисунок).



**Рисунок.** Структура заболеваемости гриппом и ОРВИ не гриппозной этиологии в Ростовской области за сезоны 2016–2017 и 2017–2018 гг.

Изучение структуры возбудителей ОРВИ в зависимости от стадии эпидемического процесса по гриппу показало, что в предэпидемический период с 31.10.2016–25.12.2016 (ноябрь–декабрь) основной вклад в формирование заболеваемости ОРВИ вносили вирус гриппа А (54,2%). В период с 26.12.2016–26.03.2017 (январь–март) в структуре возбудителей ОРВИ доминировал вирус гриппа А (Н3N2), вирус гриппа В, аденовирусы (27,9%, 15,8%, 15,2% соответственно). Другие этиологические агенты ОРВИ выявлялись спорадически. В период с 27.03.2017–30.04.2017 (март–апрель) заболеваемость ОРВИ была связана с активной циркуляцией риновирусов, респираторно-синцитиального вируса, вируса гриппа В, которые лидировали в этиологической структуре возбудителей ОРВИ (31,1%, 22,6% и 19,3% соответственно).

В сезон 2017–2018 гг. в период с 30.10.2017–04.02.2018 (ноябрь–январь) основной вклад в формирование заболеваемости ОРВИ вносили РС-вирусы, аденовирусы и риновирусы (26,0%, 23,4% и 18,8%). В период с 05.02.2018–29.04.2018 (февраль–апрель) в структуре возбудителей

ОРВИ доминировали вирусы гриппа А, аденовирусы и риновирусы (31,3%, 22,1% и 17,1%). Другие этиологические агенты ОРВИ выявлялись спорадически. В период с 30.04.2018–03.06.2018 заболеваемость ОРВИ была связана с активной циркуляцией риновирусов и аденовирусов, которые лидировали в этиологической структуре возбудителей ОРВИ (35,3% и 20,6%), в связи с тем, что доля циркулирующих вирусов гриппа в структуре положительных находок на 14, 15 и 16 неделях 2018 года составила 68,4%, 51,1% и 51,4%, соответственно.

**Заключение.** В 2016–2017 гг. сезонный подъем в основном определил грипп А(Н3N2). В 2017–2018 гг. сезонный подъем в большинстве вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09, а также циркуляция вирусов гриппа А(Н3N2) и грипп В, что повлияло на продолжительность эпидемического процесса с временным сдвигом до апреля 2018 года.

Литература:

1. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Российской Федерации в 2017 году». – М., 2018. – С. 109–111.
2. Рубис Л.В., Масюк В.С., Хурцилава О.Г., Щербо А.П. Природные и социальные факторы риска заболеваемости острыми респираторными инфекциями. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2008, 5: С. 34–38.
3. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А и гриппа В. Утверждена Приказом Росздравнадзора от 12.10.2012, №1896-Пр/12.
4. Инструкция по применению набора реагентов для выявления возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека. Утверждена Приказом Росздравнадзора от 22.07.2011, №4481-Пр/11.

УДК: 616-093/-098

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ НА ЭХИНОКОККОЗ ПАЦИЕНТОВ  
ФБУН «ТЮМЕНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
КРАЕВОЙ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ» РОСПОТРЕБНАДЗОРА**

**Смирнова С. С., Панина Ц. А., Сидоренко О. Н., Иванова Н. А.,  
Степанова К. Б., Степанова Т. Ф.**

*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** В клинике в 2017–2018 гг. проведены обследования 3936 пациентов проживающих на территории Тюменской области и в городе Тюмени на эхинококкоз. Пациенты распределены по возрастным группам, полу, и выявлены серопозитивные реакции по эхинококкозу в данных группах. Существенных различий в частоте встречаемости антител класса IgG к возбудителю эхинококкоза в 2018 году по сравнению с 2017 годом не наблюдалось.

**Ключевые слова:** эхинококкоз, иммуноферментный анализ, серопозитивность, диагностический титр.

**RESULTS OF A SURVEY ON THE ECHINOCOCCOSIS OF PATIENTS  
OF TYUMEN SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF REGIONAL INFECTIOUS  
PATHOLOGY**

**Smirnova S. S., Panina Ts. A., Sidorenko O. N., Ivanova N. A.,  
Stepanova K. B., Stepanova T. F.**

*Tyumen Scientific Research Institute of Regional Infectious Pathology, Tyumen, Russia*

**Abstract.** In the clinic in 2017–2018 3936 patients living in the territory of the Tyumen region and in the city of Tyumen were examined for echinococcosis. Patients are distributed by age group, sex, and seropositive reactions for echinococcosis in these groups were identified. There were no significant differences in the frequency of occurrence of IgG class antibodies to the causative agent of echinococcosis in 2018 compared with 2017.

**Key words:** echinococcosis, enzyme immunoassay, seropositivity, diagnostic titer.

Эхинококкоз – одно из тяжелейших паразитарных заболеваний человека и животных, наносящее большой социально-экономический ущерб. Эхинококкоз человека является зоонозом, вызываемым ленточными червями рода *Echinococcus* [1].

Эпидемиологическая значимость эхинококкозов определяется широким распространением, тяжелым клиническим течением с множественными и сочетанными поражениями различных органов, приводящими к длительной потере трудоспособности, инвалидизации и к летальному исходу, обширным кругом хозяев, формированием синантропных и смешанных очагов. Клиническая картина эхинококкозов определяется локализацией паразитарных кист, что обуславливает разнообразие и неспецифичность клинической симптоматики. С момента заражения до времени установления диагноза бессимптомный период может продолжаться от 5 до 20 лет и выше. Диагноз «эхинококкоз», как правило, устанавливается на поздних стадиях заболевания, с применением преимущественно инструментальных методов исследования (ультразвуковое исследование, рентгенография, компьютерная томография) и во время оперативных вмешательств [2].

По данным официальной статистике в 2017 году на территории Российской Федерации зарегистрировано 455 случаев ( $0,31^{0/0000}$ ) заболеваний эхинококкозом, из них 67 детей ( $0,23^{0/0000}$ ), в 2018 году – 489 случаев ( $0,33^{0/0000}$ ), из них 62 ребенка ( $0,21^{0/0000}$ ). В период с 2010 по 2018 гг. впервые отмечен один случай заболевания ребенка до года (Ставропольский край).

В Тюменской области в 2017 году зарегистрировано 15 случаев ( $1,02^{0/0000}$ ) заболеваний эхинококкозом, в 2018 году зарегистрировано 6 случаев ( $0,40^{0/0000}$ ) заболеваний у взрослого населения [3].

В клинике ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора за 2017–2018 гг. проведены обследования 3936 пациентов на эхинококкоз (в том числе в 2017 г. – 2011, 2018 г. – 1925). У больных исследовали сыворотку крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие специфических иммуноглобулинов класса G к эхинококкозу с использованием диагностических тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск).

**Целью** нашей работы явилось изучение распространенности антител класса G к эхинококкозу среди пациентов ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора за 2017 и 2018 года, установление частоты встречаемости антител к эхинококкозу в различных возрастных категориях.

Результаты анализа на иммуноглобулины класса G к эхинококкозу оценивают по коэффициенту позитивности (КП), результат анализа считается положительным при  $КП \geq 1$ , отрицательным – при  $КП < 0,85$ . Если КП пациента  $\geq 0,85$ , но  $< 1$ , то результат считается неопределенным, через 2–4 недели необходим повторный анализ вновь взятого образца сыворотки крови данного человека.

Обследованные пациенты – взрослые и дети – были жителями города Тюмени и Тюменской области. Детей в 2017 году было 23,2%, от общего числа обследованных, в 2018 году – 20,3%. По возрасту дети разделены на 3 группы. В возрастной группе от 0 до 6 лет обследованно 183 пациента в 2017 г. и 135 в 2018 г.; от 7 до 14 лет – 230 в 2017 г. и 203 в 2018 г.; от 15 до 18 лет – 54 в 2017 г. и 53 в 2018 г. (таблица).

**Таблица.** Характеристика обследованных пациентов на эхинококкоз

	2017 год			2018 год		
	всего	положительные		всего	положительные	
		абс.	%		абс.	%
Всего пациентов	2011	424	21,08	1925	401	20,83
Мужчины	741	144	19,43	705	131	18,58
Женщины	1270	280	22,04	1220	270	22,13
Дети общее количество	467	75	16,06	391	66	16,88
0–6 лет	183	18	9,83	135	20	14,81
7–14 лет	230	44	19,13	203	31	15,27
15–18 лет	54	13	24,07	53	15	28,3



В целом среди всех обследованных антител класса IgG к возбудителю эхинококкоза в положительном титре (1:100 и выше) зарегистрировано в 2017 году 21,08%±0,9, в 2018 году 20,83%±0,9 наблюдений. Из всех серопозитивных пациентов на долю взрослых в 2017 году приходится 82,3%±1,9, в 2018 году – 83,5%±1,9, на долю детей: 17,7%±1,9 и 16,5%±1,9 соответственно. Среди детей наиболее часто антитела класса IgG встречались в возрастной группе от 15 до 18 лет – 24,07%±5,9 в 2017 году и 28,3%±6,2 в 2018 году.

За два года исследований было отмечено 122 случая с неопределенным результатом: 62 пациента в 2017 и 60 – в 2018 году, из них детей: 17,7%±4,9 в 2017 году и 36,7%±6,3 в 2018 году.

На долю женщин, среди всех обследованных, в 2017 и 2018 годах приходится 63,2%±1,1 и 63,4%±1,1, из них серопозитивных 22,04%±1,2 и 22,13%±1,2 соответственно; мужчин 36,8%±1,1 и 36,6%±1,1, положительных 19,43%±1,5 и 18,58%±1,5.

Из общего количества положительных результатов, показателей с титром антител 1:200 и более, среди взрослого населения за 2017 год отмечено 23,8%, в 2018 г. – 31,9%, среди детей в 2017 году – 13,3%, в 2018 – 16,7%. Отмечен один случай заболевания ребенка 2016 года рождения с титром антител 1:400 в 2018 году.

Существенных различий в частоте встречаемости антител класса IgG к возбудителю эхинококкоза в 2018 году по сравнению с 2017 годом не наблюдалось. Наблюдается тенденция к увеличению распространенности антител класса IgG к эхинококку с возрастом.

#### Литература:

1. Геллер И.Ю. «Эхинококкоз» – М.: Медицина, 1989. – 208 с.
2. Письмо от 20 июня 2016 года N 01/7782-16-27 «О заболеваемости эхинококкозом и альвеококкозом в Российской Федерации». А.Ю. Попова Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
3. Федеральное статистическое наблюдение «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» форма № 2 за 2010–2017 гг. Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора).

УДК: 616.995.1-07

## **АКТУАЛЬНЫЕ БИОГЕЛЬМИНТОЗЫ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ И ПРОБЛЕМЫ ИХ ДИАГНОСТИКИ**

**Старостина О. Ю.**

*ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций»  
Роспотребнадзора, Омск, Россия*

**Аннотация.** Показано, что на территории Омской области на фоне сохраняющегося высокого риска заражения описторхисами в северных прибрежных населенных пунктах и росте серологических маркеров зараженности в пределах ареала возбудителя описторхоза, наблюдается снижение концентрации яиц в копроматериале, что затрудняет диагностику описторхоза. На территории Омской области существует постоянный риск заражения как гидатидозным, так и альвеолярным эхинококкозами. Антитела к эхинококкам регистрируются у 4,9–15,2% жителей сельских районов области, и у 2,8% городских жителей. Одной из проблем диагностики эхинококкозов является отсутствие на сегодняшний день отечественных тест-систем для выявления специфических антител к возбудителю альвеолярного эхинококкоза. Помимо традиционных для данного региона биогельминтозов, сформирован и функционирует антропоургический очаг трансмиссивной инвазии – дирофиляриоза.

## ACTUAL BIO HELMINTHIASIS OF OMSK REGION AND THE PROBLEMS OF THEIR DIAGNOSTICS

Starostina O. Yu.

*Federal budgetary Institution of a Science «Omsk Research Institute of Natural Foci Infectious»  
of Federal Service on Customers Rights Protection and Human Well-Being Surveillance,  
Omsk, Russia*

**Abstract.** In the Omsk region, there is a high risk of infection with opistorhis. There is an increase in the percentage of seropositive people and a decrease in the concentration of helminth eggs in feces. This makes diagnosis difficult. In the Omsk region there is a constant risk of infection with both hydatid and alveolar echinococcosis. Antibodies to echinococcus are registered in 4,9–15,2% of rural residents of the region, and in 2,8% of urban residents. One of the problems in the diagnosis of echinococcosis is the absence of domestic test systems for the detection of specific antibodies to the causative agent of alveolar echinococcosis. In addition to the biohelminthoses traditional for this region, an anthroponotic focus of transmissible invasion, dirofilariasis, is formed and functions.

**Введение.** Территория Западной Сибири является эндемичной для ряда гельминтозов, передающихся человеку через объекты внешней среды и продукты питания. Наиболее актуальными биогельминтозами для Омской области остаются описторхоз и эхинококкоз: ежегодно регистрируется 1469–1622 случая описторхоза и от 2 до 5 случаев эхинококкозов. Кроме того, в области наблюдается рост случаев диروفилариоза.

**Материалы и методы.** Проанализированы результаты собственных паразитологических, серологических, молекулярно-биологических исследований на актуальные биогельминтозы в различных группах населения Омской области за период 2010–2017 гг. Всего исследовано 2830 проб сывороток крови и 520 проб фекалий людей, 476 проб крови собак, 675 комаров. Статистическая обработка полученных результатов исследования проводилась общепринятыми методами в программе Microsoft Excel 2010. Вычислялись: средняя арифметическая, стандартная ошибка, критерий Стьюдента [1].

**Результаты и обсуждение.** Самым распространенным биогельминтозом в Омской области традиционно является описторхоз. Вся долина Иртыша в пределах области эндемична по описторхозу. Интенсивность эпидемического процесса нарастает от юга к северу области. Результаты сероэпидемиологических исследований, проведенных в 2013–2015 гг. показали, что в северных прибрежных населенных пунктах сохраняется высокий риск заражения возбудителем описторхоза, характерный для гиперэндемичной территории – антитела к описторхисам выявлены в среднем у 50,3±2,9% обследованных лиц, с разбросом показателей от 34,7% до 62,8%. На мезоэндемичной территории вдоль русла Иртыша также за последние 15 лет не наблюдается снижения риска заражения возбудителем описторхоза: доля серопозитивных по отношению к антигенам описторхисов в прибрежных населенных пунктах составляет 18,8–32,2% от числа обследованных лиц. В сельских районах, расположенных на участках среднего течения притоков Иртыша, отнесенных ранее к гипоэндемичной территории, отмечена тенденция к росту доли серопозитивных лиц (в сравнении с результатами исследований 1997–1998 годов [2] до 12,7–17,3%. Рост серологических показателей наблюдается и на остальной территории Омской области, находящейся в пределах ареала возбудителя.

Лабораторная диагностика описторхозной инвазии основывается на прямых паразитологических методах – копроовоскопии и исследовании дуоденального содержимого. Из копроовоскопических методов, наиболее эффективными являются методы уксусно-эфирной или формалин-эфирной седиментации. Однако, данные методы редко используются в рутинной практике клинических лабораторий в силу сложности и длительности методики в случае приготовления всех реактивов на месте, или высокой себестоимости в случае

использования импортных готовых одноразовых концентратов типа «PARASEP». Чаще используется метод мазка под целлофаном по Като и Миура. Однако, при низкой интенсивности инвазии с выделением небольшого числа яиц гельминтов, данный метод мало эффективен. Наши исследования показали, что за последние 20 лет резко снизилось количество яиц гельминта в копро материале от лиц, больных описторхозом, косвенно указывающее на интенсивность инвазии. Средние показатели числа выделенных яиц гельминта у лиц, проживающих на мезоэндемичной территории, в 1998 г. составляли в среднем  $87,0 \pm 25,0$  я/г [2], в 2017 г. –  $18,1 \pm 4,3$  я/г фекалий ( $P < 0,05$ ). При такой концентрации яиц гельминта эффективность толстого мазка по Като-Миура не превышала 73% от результатов метода уксусно-эфирного осаждения. На сегодняшний день методом выбора диагностики описторхоза должны быть методы обогащения седиментацией, а производство отечественных наборов концентратов на основе методов седиментации и внедрение в практику лабораторий позволило бы значительно повысить выявляемость инвазии.

На территории Омской области существует постоянный риск заражения как гидатидозным, так и альвеолярным эхинококкозами. Природные очаги альвеококкоза функционируют в различных ландшафтных зонах области [3]. Зараженность мелких млекопитающих *Echinococcus multilocularis*, по результатам проведенных нами молекулярно-биологических исследований, составляет  $7,8 \pm 3,0\%$ .

Антитела к эхинококкам регистрируются у жителей практически всех сельских районов области. В 2013–2015 гг. показатели серопозитивности колебались в разных районах от 4,9% до 15,2%. В сельских поселениях, доля серопозитивных среди взрослых лиц значительно выше, чем у детей до 17 лет ( $10,4 \pm 1,5\%$  и  $2,3 \pm 2,3\%$  соответственно,  $P < 0,01$ ). Среди городских жителей серологические маркеры эхинококкоза встречаются с одинаковой частотой как среди детей до 17 лет ( $2,6 \pm 0,9\%$ ), так и среди взрослых лиц ( $2,8 \pm 1,4\%$ ) в случайной выборке. Одной из проблем диагностики эхинококкозов является отсутствие на сегодняшний день отечественных тест-систем для выявления специфических антител к возбудителю альвеолярного эхинококкоза. Представленная на рынке ИФА-тест-система производства ЗАО «Вектор-Бест» «Эхинококк-IgG-ИФА-Бест» предназначена для выявления в сыворотке или плазме крови антител к антигенам эхинококка однокамерного. Между тем, дифференциальная диагностика необходима в предоперационном периоде для выбора правильной тактики ведения пациента, учитывая злокачественное течение альвеококкоза.

В Омской области с 2013 года наблюдается прогрессивный рост числа местных случаев дирофиляриоза, в том числе, среди городского населения. Из 16 случаев, зарегистрированных с 2013 г. по февраль 2017 г., у 11 человек (в том числе – у 8 городских жителей) заражение было расценено как местное. Для подтверждения циркуляции возбудителя дирофиляриоза, нами были обследованы окончательные хозяева дирофилярий (собаки) и промежуточные хозяева/переносчики – комары. Личинки дирофилярий выявлены в крови у  $3,2 \pm 0,8\%$  животных. В пробах крови собак с паразитологическим подтверждением дирофиляриоза, была выявлена ДНК *D. repens*, кроме того, у двух собак обнаружена также ДНК *D. immitis*. Зараженность комаров, собранных в парковых зонах города, в частном секторе, рекреационной зоне вокруг города, составила от 1,1% до 2,5% по результатам ПЦР. Выявлена ДНК *D. repens* и *D. immitis*.

В настоящее время все большую популярность приобретают молекулярно-биологические методы, направленные на выявление специфических участков ДНК возбудителей различных инфекций и инвазий, в частности метод ПЦР. Фактически, их можно отнести к прямым методам диагностики. Данные методы носят объективный характер, кроме того, современная автоматизация постановки реакции ПЦР позволяет внедрять ее в рутинную практику лабораторий и обрабатывать одновременно большое количество проб. Это особенно важно при массовых исследованиях объектов окружающей среды в системе эпиднадзора, мониторинге зараженности мелких млекопитающих в очагах альвеококкоза, зараженности комаров дирофиляриями и т. д.

**Заключение.** На территории Омской области на протяжении последних 17 лет сохраняется напряженная ситуация в отношении описторхоза и эхинококкозов. Помимо традиционных для данного региона биогельминтозов, сформирован и функционирует антропоургический очаг дирофиляриоза. Разработка, производство и внедрение в рутинную практику отечественных тест-систем для копроовоскопических исследований, ИФА тест-систем для дифференциальной диагностики эхинококкозов, тест-систем на основе ПЦР, позволит повысить эффективность и качество диагностики гельминтозов и осуществлять мониторинг за циркуляцией возбудителей инвазий на эндемичных территориях.

Литература:

1. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. / Е.Д. Савилов, Л.М. Мамонтова, В.А. Астафьев, С.Н. Жданова. М.: МЕДпресс-информ, 2004. 111 с.
2. Старостина О.Ю. Сероэпидемиологические исследования в системе эпидемиологического надзора за описторхозной инвазией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Омск, 1999. 23 с.
3. Сравнительное изучение степени риска заражения людей в природных очагах альвеококкоза различных зональных типов на территории Омской области / Малькова М.Г., Пахотина В.А., Старостина О.Ю. // Мат-лы юбилейн. научно-практич. конференции, Омск, 1996. С. 247–254.

УДК: 6.61.614.4

**ЭЛИМИНАЦИЯ КРАСНУШНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОССИИ**

**Тураева<sup>1</sup> Н. В., Герасимова<sup>1</sup> А. Г., Цвиркун<sup>1</sup> О. В., Тихонова<sup>1</sup> Н. Т., Мамаева<sup>1</sup> Т. А.,  
Ежлова<sup>2</sup> Е. Б., Мельникова<sup>2</sup> А. А.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Федеральная служба в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия*

**Аннотация.** Статья посвящена достижению элиминации краснухи в Российской Федерации.

**ELIMINATION OF RUBELLA INFECTION IN RUSSIA**

**Turaeva<sup>1</sup> N. V., Gerasimova<sup>1</sup> A. G., Tsvirkun<sup>1</sup> O. V., Tihonova<sup>1</sup> N. T., Mamaeva<sup>1</sup> T. A.,  
Ezhlova<sup>2</sup> E. B., Melnikova<sup>2</sup> A. A.**

<sup>1</sup>*G.N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology of Rosпотребнадзор, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Federal service for supervision of consumer rights protection and human welfare, Moscow, Russia*

**Abstract.** The article is devoted to the achievement of rubella elimination in the Russian Federation.

**Введение.** Программа элиминации краснухи в России стартовала в 2012 году, обозначив новый этап борьбы с инфекцией. Это стало возможным благодаря достижению 95% охвата вакцинацией против краснухи в декретированных группах населения в рамках Национального календаря профилактических прививок (в 1 год, 6 лет и женщин 18–25 лет из числа не привитых ранее, не болевших этой инфекцией или привитых однократно), стабилизации заболеваемости на спорадическом уровне. Кроме того ежегодно вакцинацию против краснухи получают контингенты высокого риска заражения (медицинские работники, работники сферы торговли и образования, студенты, мигранты) не имевшие в своем анамнезе прививки.

Успешной реализации программы способствовало введение индивидуального учёта каждого случая краснухи с лабораторной верификацией (не менее 80% по критерию ВОЗ), соблюдение показателя отмененных случаев (не менее 2 на 100 тыс. населения) [1].

**Материалы и методы.** При анализе заболеваемости краснухой использованы данные ежемесячных отчетов Региональных центров по надзору за корью и краснухой и «Карт эпидемиологического расследования случая заболевания краснухой или подозрительного на эту инфекцию». Всего проанализировано 4218 отчетных форм. Для оценки охвата вакцинацией декретированных групп населения проанализированы Государственные статистические формы отчетности «Сведения о контингентах детей и взрослых, привитых против инфекционных заболеваний» за период 2001–2018 гг.

**Результаты и обсуждение.** Широкое использование вакцинопрофилактики способствовало постепенному уменьшению числа случаев заболевания краснухой. Устойчивое снижение заболеваемости наблюдается с 2007 года, после прививочной кампании 2006–2007 гг., проведенной в рамках Национального проекта «Здоровье», когда было привито более 11 млн. детей, подростков и женщин до 25 лет. Показатель заболеваемости снизился до 21,7 против 93,1 на 100 тыс. нас. в 2006 году и снижение заболеваемости краснухой до спорадического уровня сохраняется до сегодняшнего дня [2].

В 2015 году страна впервые достигла целевого показателя элиминации инфекции – менее 1,0 на 1 млн нас., который поддерживался в течение всех последующих лет. В 2017 году был зарегистрирован «исторический минимум» заболеваемости краснухой: 5 случаев заболевания на пяти территориях страны; пять случаев краснухи было зарегистрировано и в 2018 году на трех территориях, из них 1 случай – завезен из Китая гражданкой этой страны, 2 случая выявлены у граждан Индии, обучающихся в вузе на территории Российской Федерации [3].

Успеху в борьбе с краснухой способствовало достижение и сохранение на высоком уровне охвата профилактическими прививками декретированных групп населения страны: охват двумя дозами вакцины последние десять лет остается высоким (более 95%), что препятствует распространению вируса краснухи.

Под влиянием вакцинопрофилактики существенно изменились основные эпидемиологические характеристики краснухи: произошло смещение заболеваемости в сторону взрослого населения и перераспределение значимости возрастных групп в общей структуре заболеваемости. Если до 2003 года эпидемический процесс краснухи поддерживался за счет детей 3–6 лет (показатель на 100 тыс. детей данного возраста колебался 490,2 в 2003 г. до 2593,3 в 1999 г.), то к 2011 году произошло выравнивание показателей заболеваемости во всех возрастных группах населения, (от 0,05 в группе 7–14 лет до 0,6 в группе до 1 года). Такое соотношение показателей сохранялось до 2016 года; в 2017 и 2018 гг. среди детей данных возрастных групп случаи краснухи не регистрировались.

На протяжении последних лет эпидемический процесс краснухи поддерживается за счет лиц, не привитых против этой инфекции или не имеющих сведений о вакцинации, что свидетельствует о высокой эффективности проводимых профилактических прививок против краснухи. Так, уже в 2012 году в среднем 80% заболевших не были привиты или не имели сведений о вакцинации; а в 2018 году все заболевшие не имели прививок против краснухи.

Важнейшим показателем, характеризующим эпидемический процесс краснухи, является очаговость. Последние очаги с распространением инфекции были зарегистрированы в 2016 году. В 2017–2018 годах регистрировались очаги без распространения инфекции (с одним случаем заболевания).

Поскольку на территориях регистрировались единичные случаи краснухи, не связанных между собой и не являющиеся импортированными, можно предположить наличие не диагностированных (пропущенных) случаев инфекции. Трудность дифференциальной диагностики заболеваний, протекающих с экзантемой и лихорадкой, сохраняется до сих пор: гипо- и гипердиагностика краснухи вносили свой вклад в заболеваемость по стране. Лабораторное подтверждение заболевания не только существенно облегчило диагностику краснухи, но и явилось важным объективным показателем снижения заболеваемости краснухой в Российской Федерации. Сегодня все зарегистрированные случаи краснухи имеют лабораторное подтверждение.

Учитывая тератогенный эффект вируса краснухи, с 2012 года обследование беременных женщин становится обязательным [4].

Выявление IgM+ проводится в плановом порядке при постановке беременных на учет в ж/к; в очагах краснухи обследуются женщины, имевшие контакт с больным краснухой, и лицо, явившееся источником инфекции (таблица).

**Таблица.** Обследование беременных женщин на наличие антител к вирусу краснухи в лабораториях РЦ по надзору за корью и краснухой

Годы	Общее число беременных	Беременные, имевшие контакт	Беременные с предварительным диагнозом «краснуха»	Беременные, обследованные в др. лаб.	Плановое обследование беременных	СВК
	Всего / IgM+	Всего / IgM+	Всего / IgM+	Всего / IgM+	Всего / IgM+	Всего / IgM+
2015	747/30	48/2	72/16	15/7	612/5	8/1
2016	789/36	36/7	70/17	32/12	651/0	6/0
2017	772/14	7/3	11/4	16/4	738/3	7/0
2018	603/12	17/3	24/5	0	562/4	3/0
Всего	2911/92	108/15	177/42	63/23	2563/12	24/1

Женщины обследуются по определённой схеме существующего протокола [5] с определением показателя авидности. Результат обследования с большой долей вероятности отвечает на вопрос о риске рождения ребенка с СВК.

Кроме того, на наличие антител к вирусу краснухи обследуются дети с подозрением на СВК. В течение последних лет случаи рождения детей с СВК не регистрируются. Исключение составил случай СВК, закончившийся летальным исходом, у ребенка, родившегося в цыганской семье в конце 2014 года, мать которого не состояла на учете по беременности в медицинских учреждениях. Диагноз был подтвержден серологическими и молекулярно-генетическими методами.

**Заключение.** Таким образом, успеху в борьбе с краснухой в стране способствовали избранная тактика вакцинации населения и качественный эпидемиологический надзор за инфекцией. В 2017 году по итогам совещания Европейской региональной комиссии ВОЗ по верификации элиминации кори и краснухи была признан факт элиминации краснухи на территории Российской Федерации [6]. Главной задачей практического здравоохранения и службы Роспотребнадзора является сохранение и поддержание данного статуса.

#### Литература:

1. Элиминация кори и краснухи Основы процесса верификации в Европейском регионе ВОЗ, 2012, [электронный ресурс] [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0011/180776/e96153-Rus-final-version.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0011/180776/e96153-Rus-final-version.pdf) (дата обращения 8.04.2019).
2. Куц Н.С., Герасимова А.Г., Цвиркун О.В., Тихонова Н.Т. Состояние заболеваемости краснухой в Российской Федерации на современном этапе. «Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие», 2011. Т. VI, 3:82–85.
3. О региональном совещании по кори и краснухе, «Эпидемиология и вакцинопрофилактика», 2018. Т. 17. № 2 (99). С. 36.
4. Куц Н.С., Цвиркун О.В., Герасимова А.Г., Тихонова Н.Т., Мамаева Т.А. Эпидемиологический надзор за краснухой у беременных женщин. «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии», 2014. № 4. С. 49–53.
5. Методические указания 3.1.2.2356-08 «Эпидемиологический надзор за врожденной краснухой».
6. Седьмое совещание Европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори и краснухи. 2017. [электронный ресурс] [http://www.euro.who.int/data/assets/pdf\\_file/0007/387160/7th-rvc-mtg-rus.pdf](http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0007/387160/7th-rvc-mtg-rus.pdf) (дата обращения 08.04.2019).

**ОЦЕНКА РИСКА ЗАРАЖЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ В ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ  
КЛОНОРХОЗА В СРЕДНЕМ ТЕЧЕНИИ р. АМУР**

**Ушаков А. В., Фаттахов Р. Г.**

*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Исследования осуществлены в Биробиджанском, Ленинском и Смидовичском районах Еврейской автономной области во второй половине августа 2011 г. Исследовано 745 особей рыб 20 видов, отловленных в бассейнах рек Бидж́ан, Бира́, Вертопра́шиха, Ин. На территории области функционирует природный очаг клонорхоза. Лоймопотенциал очага предопределяет риск заражения населения и эндемичность территории. Заражённость и заболеваемость населения является эпидемиологической проекцией природного очага клонорхоза.

**ASSESSMENT OF INFECTION RISK IN THE POPULATION IN THE NATURAL  
CLONORCHOSIS FOCUS IN THE MIDDLE REACHES OF THE AMUR RIVER**

**Ushakov A. V., Fattahov R. G.**

*FBIS «Tyumen Region Infection Pathology Research Institute», Tyumen, Russia*

**Abstract.** Research carried out in Birobidzhansky, Leninsky and Smidovichsky districts of the Jewish autonomous region during the second half of august 2011. 745 fish species of 20 species caught and studied in the river basins of the Bijan, Bira, Vertoprashikha, and In. On the territory of the region there is a natural focus of clonorchiasis. Loymopotential focus determines the risk of infestation of the population and the endemicity of the territory. Infestation and morbidity of population epidemiological projection is a natural focus of clonorchiasis.

**Введение.** Исследования природной очаговости клонорхоза на Дальнем Востоке в бассейне Амура проводились на территориях Хабаровского края и Амурской области. Возбудитель выявлен у всех сочленов паразитарной системы *Clonorchis sinensis* Cobbold, 1875. Таковыми здесь являются дикие, домашние млекопитающие и человек. В Еврейской автономной области (ЕАО) были исследованы только млекопитающие. Среди них в бассейне р. Биры́ выявлены заражённые кошка, обыкновенная лисица, енотовидная собака и колонок [2]. Паразитологического исследования рыб здесь не проводилось

**Цель работы:** оценка риска заражения населения в природном очаге клонорхоза в среднем течении р. Амур на территории ЕАО.

**Материал и методы.** Ихтиопаразитологические исследования осуществлены в Биробиджанском, Ленинском и Смидовичском районах области (среднее течение р. Амур) во второй половине августа 2011 г. Исследовано 745 особей рыб 20 видов (545 сеголеток, 150 годовиков и 50 двух- и трёхлеток), отловленных в бассейнах рр. Бидж́ан, Бира́, Вертопра́шиха, Ин. Исследование рыб на заражённость метацеркариями *C. sinensis* проводилось компрессорным методом. Пробы мышц микроскопировались с подсчётом количества метацеркарий трематоды. Сеголетки и годовики просматривались полностью.

**Результаты и обсуждение.** Исследованы горчак амурский (*Rhodeus sericeus*), верхогляд обыкновенный (*Chanodichthys erythropterus*), карась серебряный (*Carassius gibelio*), жерех краснопёрый (*Pseudaspius leptcephalus*), конь-губарь (*Hemibarbus labeo*), конь пёстрый (*Hemibarbus maculatus*), сазан (*Cyprinus carpio*), лещ чёрный амурский (*Megalobrama terminalis*), востробрюшка обыкновенная (*Hemiculter leucisculus*), пескарь обыкновенный (*Gobio gobio*), уклей (*Culter alburnus*), язь амурский (*Leuciscus waleckii*), желтощёк (*Elopichthys bambusa*), голянь амурский (*Phoxinus lagowskii*), сом амурский (*Silurus asotus*), косатка-плеть (*Tachysyrusus suriensis*), косатка-скрипун (*Pseudobagrus fulvidraco*), косатка Бражникова (*Leiocassis braschnikowi*), ротан (*Perccottus glehni*) и щиповка

обыкновенная (*Cobitis taenia*). Метациркарии *C. sinensis* обнаружены у амурского горчака, обыкновенного верхогляда, серебряного карася, косатки-плети, косатки-скрипуна, косатки Бражникова и ротана. Среди них были не только представители сем. *Cyprinidae*, а также три вида рыб сем. *Bagridae* (косатковые) и ротан – представитель сем. *Eleotridae* (головешковые). У последнего метациркарии *C. sinensis*, также как и у других видов рыб, были обнаружены в спинных мышцах. Наиболее высокая экстенсивность инвазии (ЭИ) была выявлена у сеголеток амурского горчака. В биотопах различных водоёмов ЭИ изменялась от 10,0% до 48,0%. В четырёх из шести водоёмов у горчака обнаружены метациркарии *C. sinensis*. Интенсивность инвазии (ИИ) была невысокой, изменяясь от 1 до 4 метациркарий на рыбу, лишь в отдельных случаях достигая 28. Индексы обилия также были низкими и колебались в пределах от 0,1 до 2,6.

Оценивая эпидемический риск в природном очаге клонорхоза, необходимо определиться с понятиями «энзоотичность» (энзоотия), «природный очаг», «лоймопотенциал очага», «риск заражения» и «эндемичность». Энзоотия – это постоянная приуроченность болезни диких или домашних животных к определённой местности, обусловленная природными факторами. Природная очаговость представляет собой частный случай энзоотии [1]. Пребывание людей в природном очаге сопряжено с опасностью заражения определённой болезнью.

По Ш.Д. Мошковскому [3] природный очаг – это включённая в определённый биогеоценоз лоймосистема, в которой протекает лоймопроцесс. Под ним автор понимает воспроизведение определённой инфекции в популяциях экологически связанных видов. Вне всякого сомнения, это определение в полной мере касается и очагов клонорхоза. Воспроизведение данной инвазии осуществляется в популяциях млекопитающих, моллюсков и рыб – хозяев паразита, на основе которых в процессе эволюции сформировалась паразитарная система биогельминта. Исходя из этого, можно заключить, что в совокупности ядра очага и зоны выноса возбудителя определяют эпизоотическую активность природного очага клонорхоза, обуславливая его лоймопотенциал. Понятие «лоймопотенциал очага» в наибольшей степени приложимо к природно-очаговым зоонозам. Лоймопотенциал – это интенсивность передачи инфекции в данном очаге в данный момент, определяющая долю лиц в населении, в организм которых проникает (или мог бы проникнуть – в случае попадания людских контингентов в природный очаг) возбудитель в форме и дозе, достаточной для эффективного заражения восприимчивого человека [3]. С данным понятием тесно связано понятие эндемичности, под которым понимают постоянное (в течение многих лет) наличие болезни в данной местности, обусловленное природными факторами.

**Заключение.** Опираясь на приведённые выше данные, можно сделать вывод, что в среднем течении р. Амур на территории Еврейской автономной области функционирует природный очаг клонорхоза. В нём в популяциях млекопитающих, моллюсков и рыб – хозяев паразита осуществляется воспроизведение данной инвазии. Ядра очага и зоны выноса возбудителя в совокупности определяют эпизоотическую активность очага, обуславливая его лоймопотенциал. Последний предопределяет риск заражения населения и эндемичность территории. Заражённость и заболеваемость населения, т. е. существование эпидемического очага, является эпидемиологической проекцией природного очага клонорхоза.

#### Литература:

1. Кучерук В.В., Росицкий Б. Природная очаговость инфекций – основные термины и понятия // Мед. паразитол. и паразитар. болез. 1984. № 2. С. 7–16.
2. Медико-экологический атлас Хабаровского края и Еврейской автономной области. Хабаровск, 2005. 112 с.
3. Мошковский Ш.Д. Некоторые основные понятия учения о природной очаговости инфекционных и паразитарных болезней // Мед. паразитол. и паразитар. болез. 1975. № 4. С. 390–396.



**ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ  
НЕСТЕРИЛЬНЫХ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ  
В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН**

**Хакимуллина А. Х., Юзлибаева Л. Р., Авдонина Л. Г., Патяшина М. А.**  
*Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан, Казань, Россия*

**Аннотация.** В последние десятилетия эндоскопия получила широкое развитие. Ежегодно увеличивается количество проводимых эндоскопических исследований, как диагностических, так и лечебных. В то же время риск инфицирования пациентов и медицинских работников при проведении эндоскопических вмешательств не снижается. Постоянные конструктивные изменения гибких эндоскопов, рост заболеваемости социально значимыми инфекциями выдвигают жесткие требования к обеспечению эпидемиологической безопасности при проведении эндоскопических манипуляций.

**Ключевые слова:** эндоскопические вмешательства, эпидемиологическая безопасность, факторы риска.

**ENSURING EPIDEMIOLOGICAL SAFETY OF NON-STERILE ENDOSCOPIC  
PROCEDURES IN MEDICAL ORGANIZATIONS OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN**

**Khakimullina A. Kh., Yuzlibaeva L. R., Avdonina L. G., Patyashina M. A.**

*The administration of Rospotrebnadzor in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia*

**Abstract.** In recent decades, endoscopy has been widely developed. Every year, the number of endoscopic examinations, both diagnostic and therapeutic, is increasing. At the same time, the risk of infection of patients and health care workers during endoscopic interventions is not reduced. Constant constructive changes in flexible endoscopes, an increase in the incidence of socially significant infections put forward stringent requirements for ensuring epidemiological safety during endoscopic manipulations.

**Key words:** endoscopic interventions, epidemiological safety, risk factors.

**Введение.** В последние годы актуальность проблемы предупреждения внутрибольничного инфицирования пациентов и персонала медицинских организаций (МО) растёт в связи с широким использованием в большинстве областей медицины эндоскопических методов диагностики и лечения, которые могут привести к инфицированию пациентов и медицинского персонала. Потенциальный риск инфицирования преимущественно связан с нарушением требований санитарных правил при организации работы эндоскопического кабинета и выполнении технологического процесса обработки эндоскопов.

**Цель исследования:** изучить состояние эпидемиологической безопасности при выполнении нестерильных эндоскопических вмешательств и выявить основные факторы риска возможного инфицирования пациентов и медицинского персонала в Республике Татарстан.

**Материал и методы.** В качестве материалов для изучения были проанализированы акты проверок органами Управления Роспотребнадзора Республики Татарстан эндоскопических отделений/кабинетов медицинских организаций Республики Татарстан за 2017–2018 годы.

**Результаты исследования.** В Республике Татарстан ежегодно проводится около 300 тысяч эндоскопических исследований. В последние годы проведена определённая работа по техническому переоснащению и обеспечению необходимым набором помещений эндоскопических подразделений МО республики.

Однако, в ряде МО имеют место серьёзные недостатки при проведении эндоскопических вмешательств. Так, допускается проведение эндоскопических исследований верхних отделов желудочно-кишечного тракта и нижних отделов желудочно-кишечного тракта в одной манипуляционной, эндоскопические подразделения не отвечают требованиям по минимальной площади помещений.

При проведении дезинфекции высокого уровня эндоскопов отмечается использование дезинфицирующих средств, не имеющих спороцидных действующих веществ (ДВ), либо с неэффективными концентрациями ДВ.

Типичными нарушениями при обработке эндоскопов явились:

- не проводится заполнение раствором всех каналов через ирригатор, адаптеры и промывочные трубки;
- не выполняется обязательный тест на герметичность каждый цикл обработки после завершения этапа предварительной очистки;
- растворы моющих средств для очистки эндоскопов на основе ферментов и поверхностно-активных веществ применяются многократно;
- при проведении процесса окончательной очистки эндоскопов не проводится очистка щётками клапанов, гнёзд клапанов, торцевой оптики и открытых для доступа каналов;
- для дезинфекции высокого уровня (ДВУ) эндоскопов используются средства, не имеющие спороцидных действующих веществ, а не растворы альдегидсодержащих, кислородоактивных и некоторых хлорсодержащих средств в спороцидной концентрации;
- плановый бактериологический контроль качества ДВУ эндоскопов для нестерильных вмешательств и инструментов к ним проводится не ежеквартально, не проводится отбор проб смывов с/из обработанного эндоскопа с поверхностей вводимой части эндоскопа, клапанов, гнёзд клапанов, блока управления, из биопсийного канала).

В целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, эпидемиологической безопасности эндоскопических вмешательств и снижения рисков инфицирования пациентов и персонала медицинских организаций республики было вынесено Постановление Главного государственного санитарного врача по Республике Татарстан № 1 от 02.02.2018 г. «О мероприятиях по обеспечению эпидемиологической безопасности при проведении эндоскопических вмешательств в медицинских организациях Республики Татарстан», где также отражены вопросы внедрения учёта и регистрации случаев инфекционных заболеваний среди пациентов и медицинских работников, предположительно связанных с проведением эндоскопических вмешательств и обработкой эндоскопов.

В системе надзора за обеспечением эпидемиологической безопасности эндоскопических процедур в медицинских организациях Республики Татарстан остаются следующие проблемные вопросы:

- в медицинских организациях сохраняются факторы риска заражения инфекционными заболеваниями при проведении эндоскопических вмешательств;
- низкий уровень выявления и регистрации случаев инфекционных заболеваний, предположительно связанных с эндоскопическими вмешательствами: медицинскими работниками не осуществляется подробный сбор эпидемиологического анамнеза у пациентов, в т. ч. о наличии эндоскопического вмешательства за последний год с внесением информации в медицинскую документацию при возникновении случая заболевания (подозрении) инфекцией, связанной с оказанием медицинской помощи;
- отмечаются нарушения требований к технологии обработки и хранению эндоскопов и инструментов к ним, а также требований к охране здоровья медицинских работников, осуществляющих проведение эндоскопических вмешательств и обработку эндоскопов;
- медленное внедрение в практику автоматических моюще-дезинфицирующих и стерилизующих установок в медицинских организациях республики для обработки эндоскопов.

Таким образом, усиление контроля за условиями проведения эндоскопических вмешательств, обработкой эндоскопического оборудования, внедрение современных установок и организация учёта и регистрации инфекционных заболеваний, связанных с проведением эндоскопических вмешательств и обработкой эндоскопов позволит обеспечить эпидемиологическую безопасность эндоскопических вмешательств.

#### Литература:

1. СП 3.1.3263-15 «Профилактика инфекционных заболеваний при эндоскопических вмешательствах».

УДК: 616.44+616.99

## САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ ПО ПАРАЗИТАРНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Хуторянина И. В., Димидова Л. Л., Черникова М. П.

*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Представлены данные санитарно-паразитологического мониторинга направленные на выявление причинно-следственных связей между состоянием здоровья населения и воздействием на него факторов среды обитания.

## SANITARY AND EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF THE ENVIRONMENT BASED ON PARASITIC INDICATORS

Khutoryanina I. V., Dimidova L. L., Chernikova M. P.

*FBSI «Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology» of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The data of sanitary and epidemiological monitoring are presented to identify cause-effect relationships between the state of public health and exposure to environmental factors.

**Введение.** Несмотря на то, что санитарно-эпидемиологическая обстановка в целом по Российской Федерации в последние годы характеризуется как стабильная, паразитарные болезни продолжают занимать одно из ведущих мест в структуре инфекционной заболеваемости. Ежегодно в Российской Федерации регистрируется сотни тысяч новых случаев паразитарных болезней [4]. Реализации эпидемического процесса при паразитарных болезнях способствуют эпидемиологически значимые объекты среды обитания населения [1, 4].

Санитарно-паразитологические исследования играют существенную роль в оценке активности эпидемического процесса при паразитарных болезнях, так как позволяют определить состояние одного из ключевых элементов паразитарной подсистемы этих заболеваний – механизм передачи заразного начала [4].

В санитарной паразитологии объектами контроля являются элементы внешней среды, которые могут служить факторами передачи паразитозов, индикаторами возможного риска заражения населения и вероятности распространения возбудителей паразитарных болезней в среде обитания человека [6]. Значимыми являются результаты наблюдений за качеством воды поверхностных водных объектов, почв населенных пунктов и рекреационных зон по паразитологическим показателям как при контрольно-надзорных, так и при мониторинговых исследованиях [5]. В системе санитарно-паразитологического мониторинга особая роль отведена определению качества сточных вод и их осадков по паразитологическим показателям, в связи с их эпидемиологической значимостью и влиянием на возможное загрязнение поверхностных водных объектов патогенами при сбросе стоков [2].

Важное эпидемиологическое значение имеет также наличие на территории населенных мест синантропных мух (комнатные, домовые, мясные и т.д.), которые являются механическими переносчиками возбудителей ряда инфекционных и инвазионных болезней человека [3].

**Материалы и методы.** Исследования осуществлялись на территориях юга России совместно с органами и учреждениями Роспотребнадзора по Ростовской области, и Республике Адыгея. В период с 2016–2018 гг. выполнено 1365 санитарно-паразитологических исследований сточных вод и их осадков отобранных на очистных сооружениях канализации, 2896 – почвы селитебных зон, песка песочниц и почвы с территории ДОУ, 201 – воды поверхностных водных объектов. Исследования осуществляли в соответствии с МУК 4.2.2661-10 «Методы санитарно-паразитологических исследований»,

МУ 2.1.7.2657-10 «Энтомологические методы исследования почвы населенных мест на наличие преимагинальных стадий синантропных мух», МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водоемов».

**Результаты и обсуждение.** Сточные воды и их осадки являются эпидемиологически значимыми в реализации риска заражения населения паразитарными болезнями [7]. Об этом свидетельствуют полученные результаты. Так экстенсивность контаминации сточных вод до очистки в Ростовской области – 77%, в Республике Адыгея – 93%, сточных вод после очистки 33,3%. Интенсивность обсемененности колебалась от 0,1 до 0,3 экз/10л.

Установлена тенденция повышенной выявляемости жизнеспособных возбудителей паразитозов в воде водоемов в точках ниже сбросов сточных вод с очистных сооружений канализации, средней степени выявляемость – в точках соответствующих местам сброса, низкая выявляемость – в точках, расположенных выше сбросов сточных вод. Это подтверждает наличие риска загрязнения воды поверхностных водных объектов возбудителями паразитарных болезней, содержащихся в недостаточно очищенных и обезвреженных сточных водах очистных сооружений канализации, что является прямым показанием к осуществлению минимизации управляемых рисков распространения паразитарного начала в окружающей природной среде.

Почва один из основных компонентов окружающей среды, который имеет большое значение в распространении паразитарных инвазий.

В Ростовской области доля положительных проб соответственно периоду наблюдений (2016-2018 гг.) была 20,0; 38,2; 17,2%. В положительных пробах жизнеспособные патогены выявлены не были, что не дает оценить их в соответствии с эпидемиологическими требованиями. Результаты свидетельствуют о снижении показателей опасности почвы в отношении риска заражения населения геогельминтозами.

В Республике Адыгея установлены достаточно высокие показатели контаминации проб возбудителями гельминтозов: 30,8; 26,9; 35,5 (2016–2018 гг.). Доля проб с жизнеспособными патогенами составила 11,5; 15,4; 3,2%. На этой территории отмечается наиболее выраженная тенденция проявления возможного риска заражения населения паразитами, фактором передачи которых является почва.

Спектр выявляемых на всех территориях возбудителей паразитозов в почве был практически идентичен: яйца аскарид, токсокар, остриц. В Республике Адыгея, кроме этого, выявляли яйца дикроцелиума. Следует отметить, что зональная приуроченность наибольшей эпидемиологической значимости почвы при гео- и контактных гельминтозах определена в отношении территорий селитебных зон населенных пунктов, детских дошкольных учреждений.

Интенсивность обсеменения почвы на исследованных территориях составила в среднем за годы наблюдения по территориям Республик Адыгея и Ростовской области: от 5,0 до 20,0 и от 5,0 до 15,0 экз/кг.

Личинок и куколок синантропных мух ни на одной из территорий юга России обнаружено не было.

**Заключение.** Полученные данные подтверждают недостаточную эффективность дезинвазии сточных вод на очистных сооружениях канализации, вероятность негативного воздействия ОСК на окружающую природную среду, а так же возможный риск дальнейшего распространения паразитарных патогенов, в том числе в поверхностные водоемы.

Исследования почвы, проведенные с целью определения ее качества по паразитологическим показателям и степени безопасности для человека, показали, что на всех территориях в той или иной степени подтвержден фактами и степенью обсемененности почвы риск осуществления эпидпроцесса при геогельминтозах с вероятностью заражения ими населения. В соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативными показателями степени эпидемической опасности почвы, приведенными в СанПиН 2.1.7.1287-03 «Санитарно-эпидемиологические

требования к качеству почвы», почву некоторых территорий юга России можно характеризовать как умеренно опасную, по наличию яиц гельминтов и чистой по энтомологическим показателям.

Таким образом, результаты санитарно-паразитологического мониторинга за наиболее эпидемиологически значимыми объектами окружающей среды на юге России подтверждают актуальность динамического наблюдения за степенью выраженности их влияния на реализацию риска заражения населения паразитами. Полученные данные способствуют формированию адекватных выводов и предложений по профилактике паразитарных болезней среди прочих угроз здоровью населения.

#### Литература:

1. Димидова Л.Л. и др. Почва, как фактор поддержания риска заражения населения геогельминтозами / Димидова Л.Л., Хроменкова Е.П., Думбадзе О.С., Хуторянина И.В. // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2016. № 17. С. 155–157.
2. Димидова Л.Л. и др. Санитарно-эпидемиологическая оценка качества сточных вод и их осадков по паразитологическим показателям / Димидова Л.Л., Хроменкова Е.П., Думбадзе О.С., Упырев А.В. Хуторянина И.В. // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2015. № 16. С. 123–124.
3. Димидова Л.Л. и др. Санитарно-эпидемиологическая оценка качества почвы по паразитологическим показателям / Димидова Л.Л., Хроменкова Е.П., Думбадзе О.С., Упырев А.В. Хуторянина И.В. // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2014. № 15. С. 87–90.
4. Хроменкова Е.П. и др. Структура эпидемиологической значимости объектов окружающей среды в санитарной паразитологии / Хроменкова Е.П., Димидова Л.Л., Твердохлебова Т.И., Упырев А.В., Хуторянина И.В. // Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 7 (268). С. 46–49.
5. Хроменкова Е.П. и др. Особенности загрязнения воды водоемов паразитарными патогенами на Юге России / Хроменкова Е.П., Димидова Л.Л., Думбадзе О.С., Упырев А.В., Хуторянина И.В. и др. // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – М., 2014., № 15. С. 341–343.
6. Хуторянина И.В. и др. Методы и средства дезинвазии объектов окружающей среды / Хуторянина И.В., Димидова Л.Л., Хроменкова Е.П., Твердохлебова Т.И. // Здоровье населения и среда обитания. 2018. № 3 (300). С. 54–56.
7. Хуторянина И.В., Димидова Л.Л. Сточные воды и их осадки – источник паразитарного загрязнения окружающей природной среды // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – М., 2017., № 18. С. 520–522.

УДК: 579.61

### **ИНДЕКС АВИДНОСТИ АНТИТЕЛ КЛАССА G K *COXIELLA BURNETII* В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ Q ЛИХОРАДКИ**

**Чеканова Т. А.**

*ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия*

**Аннотация.** Впервые в иммуноферментном анализе проведено пилотное исследование оценки значимости определения индекса авидности специфических IgG к *Coxiella burnetii* в I и II фазовом состоянии в сыворотках крови людей. Наряду с изучением молекулярно-биологических маркеров индекс авидности специфических IgG к *C. burnetii* может быть полезным дополнением к диагностическим критериям определения острой и хронической Q лихорадки, позволит проводить эффективный мониторинг населения, судить о наличии природных и антропогенных очагов коксиеллеза на различных территориях, прогнозировать эпидемиологическую ситуацию.

## AVIDITY INDEX OF CLASS G ANTIBODIES TO *COXIELLA BURNETII* FOR EPIDEMIOLOGICAL MONITORING OF Q FEVER

Chekanova T. A.

*N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Abstract.** This is pilot study for avidity index of specific IgG to *Coxiella burnetii* in phase I and II in human blood sera. Avidity index of IgG to *C. burnetii* can be a useful addition for diagnostic determination of acute and chronic Q fever, for effective monitoring of the population, estimation of natural and anthropogenic foci of coxiellosis in various areas and predicting the epidemiological situation.

**Введение.** Дефицит зарегистрированных диагностических препаратов не позволяет отразить реальные сведения заболеваемости Q лихорадкой (кокциеллезом) в Российской Федерации [9]. Вместе с тем, кокциеллез является широко распространенным во всем мире зоонозом с многообразием путей передачи без характерных патогномичных признаков заболевания и нередким субклиническим течением [1, 2]. Эффективный мониторинг текущей эпидемиологической ситуации по кокциеллезу и прогноз уровня заболеваемости Q лихорадкой на различных территориях предполагает не только изучение встречаемости возбудителя в объектах внешней среды и переносчиках, но и оценку «иммунной прослойки» населения. Полимеразно-цепная реакция (ПЦР) эффективна в первые две недели заболевания, досероконверсионном периоде, однако реакция чувствительна к антибиотикотерапии и быстро становится отрицательной по мере нарастания специфических антител [6], поэтому факт инфицирования людей *Coxiella burnetii* зачастую устанавливается ретроспективно по выявлению специфических антител в сыворотке крови. Известно, что первыми в ответ на заражение образуются IgM и вскоре IgG к *C. burnetii* II фазы (далее – IgM fII и IgG fII, соответственно). По мере развития инфекционного процесса становится возможным детектировать в сыворотке крови антитела к антигенам возбудителя I фазы (IgG fI) [1-6]. В отсутствии ПЦР-тестирования на наличие возбудителя в крови людей или при получении отрицательных результатов острый кокциеллез серологически можно подтвердить регистрацией изменения титров в парной сыворотке крови IgG fII и/или IgM fII, как минимум, в 4 раза (оптимально спустя 3–6 недель со времени первого серологического тестирования). Выявление только IgG fII в отсутствии IgG fI не является доказательством острой инфекции, т. к. такие антитела могут выявляться долгие годы. Известно, что avidность специфических антител постепенно нарастает по мере развития инфекционного процесса. Вместе с тем нет работ, посвященных изучению индекса avidности (ИА) IgG к *C. burnetii* в иммуноферментном анализе (ИФА) в сыворотках крови больных кокциеллезом.

**Цель работы** – определение дополнительных серологических маркеров острой Q лихорадки на основании оценки ИА специфических IgG.

**Материалы и методы.** С целью разработки методологии оценки ИА IgG в работе использованы следующие образцы сывороток/плазмы крови серопозитивных к *C. burnetii* людей:

- с наличием в крови ДНК возбудителя и содержанием в сыворотке IgM fII и IgG fII одновременно (11 образцов);

- парные сыворотки крови 12 пациентов, содержащие только IgG fII, у которых было отмечено увеличение титра антител во втором образце в 4 раза;

- 8 одиночных сывороток крови с наличием IgG fII, IgM fII и IgG fI, причем титры IgG fII (1: 400 – 1: 800) превышали IgG fI (1: 100 – 1: 200), а титры IgM fII установлены в пределах 1: 100 – 1: 200;

- сыворотки крови 10 пациентов, в которых были выявлены IgG fI и IgG fII одновременно, причем превышение титров IgG fI (1: 800) над IgG fII (1: 200 – 1: 400) отмечено у трех больных, одинаковые титры антител у двух пациентов, а у пяти пациентов без превышения титров IgG fI над IgG fII;

- 17 парных сывороток крови пациентов с отрицательными результатами ПЦР и наличием IgG fII в титрах 1:100 – 1:400 без изменения динамики антител во втором образце.

Наличие в сыворотках крови людей специфических антител к *S. burnetii* (дифференциальное выявление IgG fII, IgM fII, а также IgG fI в образцах, содержащих IgG fII) установлено в ИФА с применением экспериментальных наборов, о разработке которых сообщалось ранее [7, 8]. Избирательные молекулярно-биологические исследования крови на наличие ДНК *S. burnetii* проводили с помощью набора реагентов «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

ИА IgG изучен в ИФА с применением вышеуказанных экспериментальных тест-систем с модификацией в постановке анализа. Сыворотки крови в разведении 1:100, внесенные параллельно в две лунки иммуносорбента, инкубировали 1 ч при 37°C. После стандартной однократной промывки планшета в одну лунку (контроль) вносили фосфатно-солевой раствор с твином 20 (ФСР-Т), в другую (опыт) – ФСР-Т с добавлением подобранного денатурирующего раствора и выдерживали 10 мин при комнатной температуре. Предварительное изучение различных концентраций мочевины и цистеина, времени экспозиции денатурирующего раствора в опытных лунках позволило определить условия для эффективного разрушения низкоавидных антител без затрагивания высокоавидных. После заключительной промывки всего планшета ФСР-Т во все лунки вносили рабочее разведение конъюгата анти-IgG человека с пероксидазой и инкубировали 1 ч при 37°C. После промывки иммуносорбента и 15-минутной экспозиции хромогена рассчитывали ИА антител по формуле:  $IA = \frac{O_{Попыт}}{O_{Контроль}} \times 100\%$ , где  $O_{Попыт}$  – оптическая плотность образца в опытной лунке,  $O_{Контроль}$  – оптическая плотность образца в контрольной лунке.

**Результаты и обсуждение.** В соответствии с рекомендациями ведущих экспертов [3-6] доказанная и/или вероятная острая Q лихорадка определена для 11 пациентов с положительными результатами ПЦР и содержанием в сыворотке IgM fII и IgG fII, а также для 12 лиц, в парных сыворотках которых отмечено 4-кратное изменение титров IgG fII. В этой группе ИА IgG fII у 21 пациента из 23 исследуемых варьировал от 17,8% до 42,1%, т. е. в большинстве своем антитела IgG fII были низкоавидными, что подтверждало недавнее инфицирование. У двух пациентов выявлены переходные значения ИА (55,6% и 59,1%). В парных образцах наряду с увеличением титров IgG fII отмечено постепенное нарастание ИА, в среднем, на  $11,2 \pm 4,1\%$ .

У 7 пациентов из 13, в сыворотках крови которых были определены антитела класса G к *S. burnetii* в двух фазовых состояниях без превышения титров IgG fI над IgG fII, независимо от наличия IgM fII, антитела были высокоавидными, причем ИА IgG fI ( $65,7 \pm 11,0\%$ ) не превысил ИА IgG fII ( $77,8 \pm 19,2\%$ ), а в 6 случаях при низкоавидных IgG fI ( $40,2 \pm 12,7\%$ ) выявлены высокоавидные IgG fII ( $79,3 \pm 9,9\%$ ). ИА IgG fII во втором образце у 17 пациентов без изменения динамики титров антител определяли в диапазоне 54,5% до 81,7%. У одного пациента с давним сроком инфицирования изучены 5 сывороток крови за двухлетний период наблюдения и выявлены только высокоавидные IgG fII со значениями ИА 74,2–77,5%. Высокоавидные IgG fII закономерно исключали острый коксиеллез.

Отдельного внимания заслуживает сравнительное изучение ИА IgG fI и IgG fII в сыворотках крови пациентов с отмеченным превышением титров IgG fI над IgG fII. Такая серологическая картина может свидетельствовать в пользу вероятной хронической Q лихорадки. Примечательно, что IgG fI охарактеризованы как высокоавидные (ИА IgG I – от 66,2% до 82,1%) в отличие от IgG fII, ИА которых не превысил 38%, причем в доступных для изучения парных сыворотках (интервал забора крови 11 дней и 17 дней) зарегистрировано падение ИА IgG fII при одновременном нарастании ИА IgG fI. Вероятно, снижение ИА IgG fII у пациентов, в сыворотках крови которых также определяются IgG fI, можно расценивать как неблагоприятный диагностический признак, свидетельствующей о развитии осложнений, характерных в хронической стадии коксиеллеза.

**Заключение.** Индекс авидности IgG к *S. burnetii* может быть полезным дополнением к диагностическим критериям определения острой и хронической Q лихорадки. Комплекс

молекулярно-биологических и серологических маркеров с оценкой индекса авидности специфических антител позволит проводить эффективный эпидемиологический мониторинг коксииеллеза.

Литература:

1. Maurin M., Raoult D. Q Fever. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999. Oct; 12(4): 518–53.
2. Kazar J. *Coxiella burnetii* infection. *Annals of New York Academy Sciences*. 2005. Dec; 1063: 105–14.
3. Kampschreur LM, Delsing CE, Groenwold RH, Wegdam-Blans MC, Bleeker-Rovers CP, de Jager-Leclercq MG, et al. Chronic Q fever in the Netherlands 5 years after the start of the Q fever epidemic: results from the Dutch chronic Q fever database. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014; 52(5): 1637–43.
4. Raoult D, Tissot-Dupont H, Foucault C, Gouvernet J, Fournier PE, Bernit E, et al. Q fever 1985–1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine (Baltimore)*. 2000; 79(2): 109–23.
5. Raoult D. Chronic Q fever: Expert opinion versus literature analysis and consensus. *Journal of Infection*. 2012; 65(2): 102–8.
6. Anderson A., Bijlmer H., Fournier P., Graves S., Hartzell J., Kersh G. J., et.al. Diagnosis and management of Q fever – United States, 2013: Recommendations from CDC and the Q Fever Working Group, *MMWR*, 2013; 62(3): 1–23.
7. Чеканова Т.А., Пантюхина А.Н., Шпынов С.Н., Лучшев А.В., Нафеев А.А., Тарасевич И.В. Иммуноферментные тест-системы для дифференциального выявления антител к антигенам I и II фаз возбудителя Q-лихорадки *Coxiella burnetii*. В кн.: Молекулярная диагностика – 2017. М.; 2017; 2: 201–2.
8. Чеканова Т.А., Шпынов С.Н., Неталиева С.Ж., Бабаева М.А. Диагностическая значимость определения спектра антител к *Coxiella burnetii* в I и II фазовых стояниях. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(4): 165–71.
9. Яковлев Э.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4: 49–54.

УДК: 579.61

**КОМПЛЕКСНАЯ КОМОРБИДНОСТЬ КАК АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА  
МЕДИЦИНЫ**

**Шкарин В. В., Ковалишена О. В., Квашнина Д. В.**

*ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В данной проблемной статье представлены эпидемиологические подходы к изучению комплексной коморбидности, особенности терминологии, роль сочетанных инфекций в этиопатогенезе психосоматической патологии, проблемы клинического и профилактического профиля в ведении пациентов с комплексной коморбидностью.

**COMPLEX COMORBIDITY AS AN ACTUAL PROBLEM OF MEDICINE**

**Shkarin V. V., Kovalishena O. V., Kvashnina D. V.**

*FSBEI HE PRMU MOH Russia, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** This problematic article presents epidemiological approaches to the study of complex comorbidity, terminology, the role of combined infections in the etiopathogenesis of psychosomatic pathology, problems of clinical and prophylactic profile in the management of patients with complex comorbidity.

Анализируя современный этап эволюционного развития инфектологии можно с уверенностью утверждать о неуклонном росте сочетанных инфекций, а так же констатации комплексной коморбидности инфекционной и соматической патологии. С точки зрения



представления о причинных факторах инфекционной патологии XX век являлся эпохой моноэтиологичности. Вся идеология (теории, концепции, нормативная база и т. д.) того периода в эпидемиологии и клинике инфекционных болезней была построена на фундаменте моноэтиологичности: один возбудитель – одна болезнь. На этом принципе и в настоящее время построена вся система противоэпидемического обеспечения населения в нашей стране. Этот же «моноэтиологизм» заложен в подготовку и переподготовку кадров в высшей медицинской школе. Ни в одном из существующих учебников нет специальных разделов о сочетанной инфекционной патологии, не говоря уже о комплексной коморбидности соматических и инфекционных болезней.

Коморбидность стала отдельным исследовательским направлением в различных специальностях медицины и в настоящее время оформляется в систему знаний о закономерностях сочетаемости заболеваний, их частоты, степени клинической отягощенности, поисков рационализации лечебной тактики, разработки организационных мер, уточнению профилактических и противоэпидемических мероприятий.

В последнее десятилетие вопросы коморбидности стали все чаще озвучиваться в тематике конгрессов и конференций, а так же отдельных публикаций [1-4].

Напомним, что в общепринятом мнении под коморбидностью понимают сочетание у одного больного одновременно двух и более заболеваний. Однако в настоящее время единого понимания в терминологии сочетанных болезней нет. В отечественной литературе их трактуют как «сочетанные», «смешанные», «микст-инфекции» и т. д. В зарубежной литературе чаще всего используется термин «коморбидность».

На наш взгляд, их следует разделить на две группы. Одна из них представляет термины, характеризующие полиэтиологичность инфекционных болезней, другая коморбидность соматических заболеваний. Терминология полиэтиологичности инфекционной патологии нами была подробно рассмотрена и представлена в нашей монографии [5]. Схематически она представлена в таблице 1.

**Таблица 1.** Термины, характеризующие инфекции, вызванные двумя и более возбудителями

Термины, характеризующие эпипатогенетическую суть сочетанности		Термины, характеризующие временной интервал инфицирования
– Сочетанная	– Сопутствующая	– Коинфекция
– Микст-инфекция	– Сопряженная	– Суперинфекция
– Ассоциированная	– Полиэтиологичная	– Вторичная инфекция
– Сателитная	– Коморбидная	– Секундарная инфекция
– Смешанная		

Все употребляемые в литературе термины были разделены на две группы. К первой отнесены определения, характеризующие эпипатогенетическую сущность сочетанной патологии. По большому счету их принято считать синонимами, хотя по отдельным из них имеются возражения, изложенные нами в предыдущих публикациях. Из всех вышеприведенных терминов мы отдаем предпочтение «сочетанная инфекция». Именно он подчеркивает взаимодействие и взаимосвязь всех процессов при действии нескольких возбудителей на макроорганизм. Именно сочетание в разных вариантах разных видов микроорганизмов вполне отражается данным термином. Вторая группа определений свидетельствует о времени инфицирования (одновременное, последовательное, инфицирование вторым и более) возбудителем. Под «коинфекцией» принято понимать одновременное инфицирование макроорганизма. Под второй, суперинфекцией, секундарной обычно подразумевается процесс присоединения следующей инфекции через какой-то промежуток времени к основной, уже развившейся инфекции.

Рассматривая различные виды взаимодействия возбудителей инфекционных заболеваний в организме человека можно констатировать, что чаще всего при сочетанных

инфекциях наблюдается явление синергизма, что способствует более бурному течению заболеваний. Оно может быть односторонним, когда один из них стимулирует деятельность другого и двусторонним, при котором оба «участника» взаимно усиливают биологическую активность друг друга, что всегда приводит к формированию различной соматической патологии, т. е. к комплексной коморбидности. Примерами тому служит ВИЧ+туберкулез, клещевой энцефалит+иксодовый клещевой боррелиоз, а также аденовирусная инфекция в сочетании со стафилококковой [6-8].

В случаях комплексной коморбидности можно полагать, что независимое течение инфекционных болезней так или иначе будет усиливать клиническое течение соматических заболеваний, а значит влиять на их осложнения, длительность течения и особенно на сложность медикаментозного лечения.

Терминологический плюрализм коморбидности представлен в таблице 2.

**Таблица 2.** Терминологический плюрализм коморбидности

Термины, характеризующие патогенетическую суть		Термины, характеризующие временной интервал формирования коморбидности
– Коморбидность	– Полипатия	– Синхрония
– Комплексная коморбидность	– Синтропия	
– Полиморбидность	– Интерференция	
– Мультиморбидность	– Сопряженные болезни	
– Плюрипатология	– Мультифакторные заболевания	

Все термины, как и при инфекционной патологии были разделены на две группы. В первую группу внесены термины, определявшие патогенетическую суть сочетанности соматической патологии. Вторая группа имеет только один термин, весьма редко употребляемый в терминологии коморбидных заболеваний – «синхрония», который характеризует временной интервал формирования коморбидных заболеваний (одновременно, последовательно через определенный промежуток времени).

Практически все термины первой группы, приведенные в таблице 2, так или иначе находят употребление как в отечественной, так и англоязычной литературе. Особое место в приведенной терминологии принадлежит «синтропиям». Под синтропией понимается как «взаимная склонность», «притяжение» друг к другу двух и более болезней. Синтропия чаще всего рассматривается с позиции генетической предрасположенности одновременно к двум и более заболеваниям, в т. ч. и инфекционным, в основе которых лежит наличие синтропных генов [9]. При использовании термина «синтропные заболевания» акцент делается на общие, чаще на генетические причины, а при использовании термина «коморбидные» заболевания на их статистические характеристики.

Термин «коморбидность» может быть использован в отношении соматической патологии при одновременной сочетанности с инфекционной. Но это уже другая, более сложная и фактически неизученная форма патологии человека, которая требует особого внимания. Такую патологию мы обозначили как «КОМПЛЕКСНАЯ КОМОРБИДНОСТЬ». В этой связи мы предлагаем её следующее определение.

Комплексная коморбидность – это сложное эпипатологическое состояние человека, характеризующееся одновременным или последовательным сочетанием психосоматической и инфекционной патологии.

Оно может иметь место при сочетании одной или более инфекционных болезней в комплексе с психосоматическими нозологиями, состоящими из одной и более единиц.

Современная структура эпидемиологии, как известно, включает в себя два основных раздела: эпидемиологию инфекционных заболеваний и эпидемиологию неинфекционных болезней. Отсюда в нее органично вписывается как сочетанная инфекционная патология, так

и коморбидность психосоматической патологии. В конечном счете, так или иначе, всё это формирует комплексную коморбидность.

С формальной точки зрения комплексная коморбидность может сформироваться довольно элементарно. Любая инфекция или их сочетание в процессе своего развития способствует различным осложнениям в виде поражения отдельных органов, образуя тем самым целый конгломерат сочетанных болезней. Но, как оказалось, судя по данным многочисленных публикаций, этот уникальный процесс чаще всего формирует отдельная группа инфекций. Основные из них по убывающей это: ВИЧ-инфекция, туберкулез, ВИЧ+туберкулез, ВИЧ+туберкулез+вирусные гепатиты, оппортунистические инфекции, паразитозы и инфекции, вызванные *H. pylori*.

Из данного списка ВИЧ-инфекция, особенно в сочетании с туберкулезом на сегодня является самыми «любвеобильными» заболеваниями, которые привлекают в свое «ложе» десятки других инфекций, сотни различных соматических болезней, а так же служат причиной множественных осложнений.

Яркой иллюстрацией может служить клинический случай [11]. Пациентка М. 34 года, пришла к гинекологу на консультацию 7.01.2018 г. в одно из медицинских учреждений г. Москвы. Вставая после осмотра с гинекологического кресла, потеряла сознание и была госпитализирована. В процессе обследования выяснилось, что более 10 лет назад была инфицирована ВИЧ половым путем. Формально состоит на учете в центре СПИД с 2007 г., но никогда там не проходила обследование. При госпитализации пациентки в специализированное отделение 15.01.2018 г., её состояние расценено как тяжелое. Пациентка лечилась в стационаре два месяца с диагнозом ВИЧ-инфекция, стадия 4В, фаза прогрессирования без антиретровирусной терапии, токсоплазмоз головного мозга, ВИЧ-энцефалит, манифестная цитомегаловирусная инфекция с поражением легких.

Данный клинический случай следует расценивать пример комплексной коморбидности. Можно полагать, что заражение ВИЧ-инфекцией и её дальнейшее развитие привело к манифестации имеющегося в организме пациентки латентного токсоплазмоза, а затем и цитомегаловирусной инфекции с поражением головного мозга, легких, печени, поджелудочной железы, лимфатической системы. Фактически три сочетанные инфекции сформировали как минимум четыре сочетанных соматических заболевания.

Необходимо отметить, что одной из важных проблем туберкулеза в сочетании с ВИЧ, является широкое распространение лекарственно устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза, частота регистрации которых в популяции больных ВИЧ+туберкулез достигает 65–70%, в два раза превышая таковую у больных туберкулезом без иммунодефицита [1, 12]. Данный фактор в комплексе с широким применением антиретровирусной терапии у больных с комплексной коморбидностью приводит, с одной стороны, к снижению смертности, а с другой – к нарастанию доли больных с хроническими формами туберкулеза, которые становятся эпидемиологическим «хранилищем», поддерживающим заболеваемость в популяции наркозависимых с ВИЧ-инфекцией.

На сегодняшний день в комплексной коморбидности туберкулез чаще других сочетанных заболеваний является причиной смерти у пациентов с ВИЧ-инфекцией [2, 12]. На момент начала массового применения в России антиретровирусной терапии у больных с ВИЧ-инфекцией в 2006 г. появилась надежда снижения риска фатального исхода в том числе и при сочетанной инфекции. Однако, в 2016 г., по прошествии десяти лет обязательного применения препаратов, показатели летальности от туберкулеза не только не снижаются, но и продолжают расти.

Известно, что при комплексной коморбидности, с учетом взаимодействия заболеваний, возраста и лекарственного патоморфоза существенно меняется клиническая картина и течение основной патологии, характер и тяжесть осложнений, ухудшается качество жизни больного, оказывает влияние на неблагоприятный прогноз для жизни, увеличивает вероятность летального исхода, способствует росту числа койко-дней, инвалидизации, препятствует проведению реабилитации [13-15].

Так же необходимо помнить, что лечение пациентов с комплексной коморбидностью приводит к полипрагмазии, а отсюда теряется контроль над эффективностью терапии и увеличивает материальные расходы. Кроме этого полипрагмазия, особенно у пожилых пациентов, способствует возрастанию вероятности развития местных и системных побочных эффектов лекарственных препаратов.

В литературе дискутируется вопрос: сочетанная патология – это случайное явление или следует рассматривать «...не как случайно возникающие ассоциации, а с межвидовых экологических позиций» [3]. С учетом имеющихся данных литературы по сочетанной инфекционной патологии и комплексной коморбидности к однозначному мнению (случайные или неслучайные) мы тоже не пришли. Если рассматривать коморбидные клинические случаи сочетанной инфекции, то они наиболее понятны с позиций вида возбудителя, механизма передачи, тропности возбудителя и его экологии, когда их вполне резонно отнести к закономерному явлению, как например, брюшной тиф+шигиллез. Еще более убедителен пример при клещевых инфекциях, когда в одном переносчике (клеще) одновременно обнаруживается два или более возбудителя (клинический случай: клещевой энцефалит+иксодовый клещевой боррелиоз+моноцитарный эрлихиоз человека+гранулоцитарный анаплазмоз человека). А как расценивать другие клинические случаи, например: токсоплазмоз+трихомоноз+кандидоз+хламидиоз? При этом имеют место разные виды возбудителей (простейшие+гриб+бактерия), разная тропность возбудителей (полиорганное поражение, урогенитальный тракт), различный механизм передачи, значительная разница в сроках инкубационного периода и, наконец, различная экология возбудителя (зооноз+антропоноз). Или другой клинический случай: токсоплазмоз+цитомегаловирусная инфекция+вирус простого герпеса+листериоз. В данном случае уже другой набор возбудителей: простейшее+вирус+бактерия, разная тропность возбудителя, разные механизмы передачи (весь существующий спектр) и очень редкое явление по экологии микроорганизма, когда в инфекционном процессе одновременно принимают участие зооноз (зооантропоноз)+антропоноз+сапроноз.

Исходя из приведенных клинических случаев и позиций организменного уровня, скорее всего его можно рассматривать как случайное явления и особенно когда они не совпадают по большинству эпидемиологических детерминант (механизм передачи, экология возбудителя, его тропность и др.). С другой стороны, рассматривая инфекционную патологию в целом на популяционном уровне, приходишь к выводу, что определенная группа сочетанных инфекций и коморбидных соматических заболеваний, а значит и комплексной коморбидности явление явно неслучайное. Получается, что в целом это явление можно обозначить как случайно-неслучайное. Однако все это еще требует дальнейшего уточнения и изучения.

Итак, в настоящее время достаточной научной базы для эпидемиологического контроля, диагностики и ведения больных с комплексной коморбидностью нет и лечение в значительной мере осуществляется эмпирически. Врачам практического здравоохранения и, в первую очередь терапевтам, педиатрам, инфекционистам, эпидемиологам и др., крайне необходима информационная база (публикации, учебники, справочная литература и др.), а также внесение ряда дополнений в соответствующие существующие нормативные документы.

#### Литература:

1. Коморбидные и тяжелые формы ВИЧ-инфекции в России / Беляков Н.А., Рассохин В.В., Трофимова Т.Н., и др. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2016. – Т. 8. № 3. – С. 9–25.
2. Вторичные и соматические заболевания при ВИЧ-инфекции / Рассохин В.В., Беляков Н.А., Розенталь В.В., и др. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2014. – Т. 6. № 1. – С. 7–18.
3. Интеграционная эпидемиология инфекций с гемоконтактным механизмом передачи (ВИЧ, гепатиты В и С) на модели республики Саха (Якутия): монография / Яковлев А.А., Лаптева Н.И. – Владивосток: Медицина ДВ, 2016. – 116 с.

4. Коморбидность в эпидемиологии - новый тренд в исследованиях общественного здоровья / Савияев Е.Д., Колесников С.И., Брико Н.И. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2016. – № 4. – С. 66–75.
5. Эпидемиологические особенности сочетанных инфекций: монография / Шкарин В.В., Благодранова А.С. – Нижний Новгород: НижГМА, 2017. – 400 с.
6. Случай смерти от цирроза печени больной с ВИЧ-инфекцией и инфильтративным туберкулезом легких / Бабаева И.Ю., Авдеева М.Г., Шевченко Н.П., и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. – № 1. – С. 49–54.
7. Социально значимая триада коинфекции: ВИЧ, вирусный гепатит и туберкулез на северо-западе Европы / Беляков Н.А., Коновалова Н.В., Огурцова С.В., и др. // Инфекция и иммунитет. – 2017. – № 5. – С. 110.
8. Инфекционные заболевания у детей: роль в возникновении соматической патологии / Мазанкова Л.Н., Григорьев К.И. // Детские инфекции. – 2013. – Т. 12. № 3. – С. 3–8.
9. Пузырев В.П. Генетика мультифакториальных заболеваний: между прошлым и будущим // В.П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2. № 12. – С. 498–508.
10. Коморбидность, мультиморбидность, полипатии – три взгляда на сочетанную патологию / Гудков Р.А., Коновалов О.Е. // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2015. – № 1. – С. 39–45.
11. ВИЧ-инфекция: церебральный токсоплазмоз в практике гинеколога / Т.Н. Ермак, Н.В. Козырина // Инфекционные болезни. – № 1. Т. 17. – С. 137–140.
12. Шилова М.В. Туберкулез в России. Смертность населения от туберкулеза / М.В. Шилова // Медицинский алфавит. – 2018. – Т. 1. № 10 (347). – С. 42–50.
13. Летальные исходы у больных с ВИЧ-инфекцией в крупном противотуберкулезном учреждении Кемеровской области // Викторова И.Б., Ханин А.Л., Зимина В.Н. // Журнал инфектологии. – 2017. – Т. 9. № 3. – С. 25–31.
14. Стяжкина С.Н., Макшакова Н.П. Коморбидность как проблема современной медицины / С.Н. Стяжкина, Н.П. Макшакова // Academy. – 2017. – № 1 (6 (21)). – С. 81–83.
15. Диагностика, диспансерное наблюдение и специфическое лечение коморбидных и тяжелых форм заболевания, вызванного вирусом иммунодефицита человека / Улюкин И.М., Мурачев А.А., Болехан В.Н., и др. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2017. – 3 (59). – С. 69–71.

УДК: 578.232

**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ НАСЕЛЕНИЯ  
ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ И ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ ЭНТЕРОВИРУСОВ**  
**Шукелайт С. Н., Кистенев А. А., Агеева О. Т.**

*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области», Воронеж, Россия*

**Аннотация.** В статье проводится анализ заболеваемости населения Воронежской области энтеровирусной инфекцией с учетом возрастной структуры, клинических форм, особенностей этиологической расшифровки.

**THE INCIDENCE OF ENTEROVIRUS INFECTION IN THE POPULATION  
OF THE VORONEZH REGION AND THE PECULIARITIES OF CIRCULATION  
OF ENTEROVIRUSES**

**Shukelayt S. N., Kistenev A. A., Ageeva O. T.**

*Center of Hygiene and Epidemiology in the Voronezh region, Voronezh, Russia*

**Abstract.** The article analyzes the incidence of enterovirus infection in the population of the Voronezh region, taking into account the age structure, clinical forms, peculiarities of etiological decoding.

**Введение.** Энтеновирусная инфекция (ЭВИ) – типичный антропоноз, источниками инфекции при котором являются больные или вирусоносители [1]. Энтеновирусы представляют собой многочисленную группу вирусов, встречаются во всем мире. Энтеновирусы являются убиквитарными микроорганизмами, которые передаются от человека к человеку через прямые и косвенные контакты [2]. Энтеновирусы в природе существуют благодаря двум резервуарам: природному (почва, вода, продукты питания) и организму человека, в которых они могут накапливаться и через них распространяться. Главной эпидемиологической особенностью инфекции является формирование у человека «здорового вирусоносительства» с длительным, до нескольких недель, выделением возбудителя во внешнюю среду. Этот фактор способствует выживанию вируса в человеческой популяции, несмотря на высокий уровень иммунных лиц. [1].

**Цель и задачи.** Изучение структуры заболеваемости энтеновирусной инфекцией в Воронежской области в 2013–2018 гг. и оценка эпидемической значимости циркулирующих энтеновирусов.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости населения Воронежской области энтеновирусной инфекцией в 2013–2018 гг. В рамках работы с Референс-центром по мониторингу за энтеновирусными инфекциями (ФБУН «Нижегородский НИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора») исследованы образцы биоматериала от 142 больных с различными клиническими формами энтеновирусной инфекции. Тип вируса был установлен в 87 случаях.

**Результаты и обсуждение.** Заболеваемость энтеновирусной инфекцией на территории Воронежской области с 2013 года регистрируется практически круглогодично, однако прослеживается четко выраженная летне-осенняя сезонность с началом эпидемического подъема в июле–августе, пиком в сентябре–октябре (до 60% случаев заболеваний).

Всего в 2013–2018 гг. зарегистрировано 1296 случаев заболевания энтеновирусной инфекцией. В структуре заболеваемости удельный вес детей до 14 лет составляет 86,3% (1118 человек) от общего числа заболевших, в том числе: до 2-х лет – 355 (31,8%), 3–6 лет – 471 (42,1%), 7–14 лет – 292 (26,1%). В возрастной группе 3–6 лет среди детей, посещающих организованные детские коллективы, зарегистрировано 319 случаев заболевания энтеновирусной инфекцией, в том числе 91 – серозного менингита. Зарегистрировано 397 случаев заболевания энтеновирусным менингитом (30,6% от всех случаев заболевания энтеновирусной инфекцией), 899 случаев – без поражения ЦНС (69,4%). В структуре заболеваемости энтеновирусной инфекцией без поражения ЦНС ящуроподобным синдромом составил 33,7% (302 случая), герпангина – 16,3% (146), ящуроподобный синдром / герпангина – 13,2% (119), респираторный синдром – 28,7% (258), гастроэнтерит – 6,4% (58), миалгия – 1,3% (12), экзантема – 0,4% (4).

На территории Воронежской области в 2013–2018 гг. выявлена циркуляция 19 типов неполиомиелитных вирусов (таблица).

Среди идентифицированных у больных энтеновирусов доминирующее положение занял *вирус Коксаки А6* (27,7% типированных штаммов), который выявлялся ежегодно в 2014–2017 гг. В 2017 году он практически вытеснил циркуляцию прочих энтеновирусов и обнаруживался у больных преимущественно при случаях экзантемы и герпангины энтеновирусной этиологии. К активно циркулирующим вирусам на территории области также отнесены энтеновирусы *ЕСНО30*, *Коксаки В5*, *Коксаки А5*, на долю которых приходится 12–14,5–10,8% соответственно от всех типированных штаммов. В структуре выделенных вирусов *ЕСНО30*, *Коксаки В5*, *Коксаки А5* составили 36,9%. Активность циркуляции *ЭВ 71 типа* низкая, выявляются единичные случаи, что свидетельствует о заносе вируса на территорию области. В 2013, 2015 годах обнаружены *энтеновирусы 71 типа генотип С4*, которые вызывали легкие формы энтеновирусной инфекции с респираторным синдромом. В 2017 году обнаружен *энтеновирус 71 типа С1*, что свидетельствует о смене возбудителя в результате активных трансграничных миграционных процессов.

**Таблица. Пейзаж энтеровирусов на территории Воронежской области в 2013–2018 гг.**

№ п/п	Вид ЭВ	Тип ЭВ	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	Итого
1	ЭВА	СА4		1					1
2		СА5	6		3				9
3		СА6		5	2	1	15	1	24
4		СА9	1			1			2
5		СА10		1	1				2
6		СА16			2				2
7		ЭВА71	2 С4		1 С4		1 С1		4
		НТЭВА				3			3
8	ЭВВ	СА9	1						1
9		СВ2	1			1			2
10		СВ3	4						4
11		СВ5	7		5				12
12		Е2			1				1
13		Е3	1						1
14		Е6	2						2
15		Е9	1						1
16		Е11	1						1
17		Е16	2						2
18		Е18	2						2
19	Е30	8	1		1			10	
	НТЭВВ			1				1	
Всего			39	8	16	7	16	1	87

Ведущими этиологическими агентами энтеровирусного менингита в 2013 году были *ЕСНО30*, *ЕСНО6*, *ЕСНО18*, *ЭВ 71 типа*, в 2015 году – *ЕСНО2* и *Коксаки В5*.

Пейзаж неполиомиелитных энтеровирусов, идентифицированных на территории области за последние 6 лет представлен вирусами видов Энтеровирус А (7 типов) и Энтеровирус В (13 типов). Доля вирусов вида Энтеровирус В преобладающая (65%).

В целях изучения циркуляции полиовирусов во внешней среде организован круглогодичный вирусологический мониторинг за циркуляцией в сточной воде, исследовано 160 проб, из них 20 положительных, в том числе энтеровирусы 71 типа – 2, *ЕСНО30* – 1, *ЕСНО6* – 1, *Р1 типа* – 1, *Р 3 типа* – 2, *Коксаки В4* – 8, *Коксаки В5* – 2, аденовирусы – 3.

**Заключение.** В структуре выделенных вирусов преобладают *Коксаки А6*, *ЕСНО30*, *Коксаки В5*, *Коксаки А5*. Наиболее поражаемыми контингентами остаются дети возрастных групп до 2-х лет и 3–6 лет, что объясняется их первой встречей с возбудителями энтеровирусной инфекции на фоне широко распространенного «здорового носительства». Основную роль в реализации механизма передачи энтеровирусной инфекции играет контактно-бытовой путь.

Литература:

1. Анохин В.А., Сабитова А.М., Кравченко И.Э., Мартынова Т.М. Энтеровирусные инфекции: современные особенности // Практическая медицина. 2014. № 9. С. 52–59.
2. Анкудинова Л.А. Циркуляция энтеровирусов групп Коксаки и ЕСНО среди здоровых детей Кыргызстана (Санкт-Петербург, 15–16 ноября 2001 г.) // Материалы Научной конференции с международным участием «Достижения отечественной эпидемиологии в XX веке. Взгляд в будущее». СПб, 2001. – С. 143.

## **РАЗДЕЛ 2. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МОНИТОРИНГЕ И ИЗУЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПРОГНОЗНО-МОДЕЛИРУЮЩИЕ СИСТЕМЫ**

УДК: 614.4:57/084/.085:528.9

### **ОНЛАЙН ГИС «ЕДИНАЯ СИСТЕМА МОНИТОРИНГА ВНЕШНИХ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ УГРОЗ»**

**Водопьянов А. С., Титова С. В., Пичурина Н. Л., Москвитина Э. А., Водяницкая С. Ю.,  
Воловикова С. В., Янович Е. Г., Мишанькин Б. М., Водопьянов С. О., Олейников И. П.**  
*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Разработана онлайн ГИС «Единая система мониторинга внешних эпидемиологических угроз», содержащая данные об опасных инфекционных заболеваниях, в том числе требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории РФ, и информацию о ЧС природного и техногенного характера. ГИС расположена на сайте [epid.antiplague.ru](http://epid.antiplague.ru), при этом открытый раздел ГИС доступен для всех пользователей и позволяет проводить отображение данных на электронной карте за любой выбранный временной промежуток. Работа с ГИС возможна как на настольных компьютерах, так и на мобильных устройствах на базе Android и iOS и не требует установки дополнительного программного обеспечения.

### **ONLINE GIS «UNIFIED SYSTEM FOR MONITORING EXTERNAL EPIDEMIOLOGICAL THREATS»**

**Vodopianov A. S., Titova S. V., Pichurina N. L., Moskvitina E. A., Vodjanickaja S. Yu.,  
Volovikova S. V., Janovich E. G., Mishan'kin B. M., Vodopianov S. O., Olejnikov I. P.**  
*FSHA «Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute» of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The online GIS «Unified system for monitoring external epidemiological threats» was developed containing data on dangerous infectious diseases, including those requiring the implementation of measures for sanitary protection of the territory of the Russian Federation, as well as information on emergency situations of natural and man-made nature. GIS is available on [epid.antiplague.ru](http://epid.antiplague.ru). At the same time, the open GIS section is accessible to all users and allows displaying data on the web map for any selected time period. Working with GIS is possible both on desktop computers and on mobile devices based on Android and iOS and does not require installation of additional software.

**Введение.** Географические информационные системы (ГИС) являются удобным инструментом в работе эпидемиолога, позволяя визуализировать различную эпидемиологическую информацию на электронных картах. В последнее время, в связи с развитием и внедрением высокоскоростного доступа к сети Интернет, все большее распространение получают онлайн ГИС, позволяющие работать с ними широкому кругу заинтересованных лиц. Так, например, Центром по контролю за заболеваемостью США разработана интерактивная ГИС, содержащая оперативную информацию о целом ряде инфекционных и не инфекционных заболеваний на территории США [3]. В России примером такой системы может являться «Эпидемиологический атлас ПФО», предоставляющий автоматизированную систему хранения и анализа информации в масштабе Приволжского федерального округа [1].

Любая информация, внесенная в онлайн ГИС, сразу становится доступной всем пользователям, что позволяет использовать ГИС в качестве средства оперативного обеспечения заинтересованных лиц свежими эпидемиологическими данными. Это широко используется в ряде зарубежных ГИС, наиболее известной из которых является



HealthMap [4], содержащая данные о местах регистрации опасных инфекционных заболеваний по всему миру.

Одной из задач, стоящей перед учреждениями Роспотребнадзора, является недопущение заноса и распространения на территории страны опасных инфекционных болезней [2]. В связи с этим **цель** настоящего исследования состояла в разработке и внедрении в работу заинтересованных специалистов онлайн ГИС, обеспечивающей аккумулирование, поиск и отображение данных об эпидемиологических рисках на электронной масштабируемой карте мира.

**Материалы и методы.** Разработку онлайн ГИС проводили с использованием языков программирования php и JavaScript. В качестве системы управления базами данных использована MySQL 5.6. В качестве картографической основы использованы общедоступные тайловые сервисы OpenStreetMaps и Спутник.

**Результаты и обсуждение.** Разработанная ГИС «Единая система мониторинга внешних эпидемиологических угроз» (ГИС ЕСМВЭУ) располагается на сайте ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в сети интернет по адресу [epid.antiplague.ru](http://epid.antiplague.ru) и состоит из открытого и закрытого разделов. Открытый раздел, доступный всем пользователям, представляет собой интерактивную систему отображения эпидемиологической информации как на электронной карте, так и в табличном виде.

В начальном окне ГИС отображается карта мира с отображением данных об опасных инфекционных заболеваниях и ЧС природного и техногенного характера за последние три месяца. При этом обеспечена возможность получения подробной сводки по любой выбранной стране мира в текстовом и табличном вариантах в отдельном окне. В отдельном поле сохраняется ссылка на источник получения данных о событиях, внесенных в ГИС.

Важной особенностью разработанной ГИС является возможность отображения данных за любой временной интервал, что реализуется с помощью временной шкалы с указанием начального и конечного периода. Ввиду широкого внедрения мобильных устройств на базе Android и iOS нами реализована мобильная верстка системы, обеспечивающая стабильную работу на маленьких экранах с разрешением от 480x640 пикселей. Работа с ГИС возможна в любом интернет-браузере и не требует установки дополнительных программных модулей.

Закрытый раздел ГИС, доступ к которому осуществляется с использованием логина и пароля, предназначен для внесения новых данных сотрудниками учреждений Роспотребнадзора. Для обеспечения функционирования закрытого раздела нами разработана система ролей, с различным уровнем доступа и возможностей по внесению данных. Администратор системы имеет возможность добавлять и редактировать пользователей и имеет доступ ко всей внесенной в ГИС информации. Пользователи системы, могут вносить любую информацию, как о случаях заболеваний, так и о ЧС природного и техногенного характера, однако ограничены в редактировании информации, внесенной ранее. Так каждый пользователь способен вносить изменения только в ту информацию, которая была внесена им непосредственно и не может редактировать информацию, внесенную другими пользователями. Это позволяет обеспечивать сохранность внесенных данных даже при большом числе сотрудников, занятых пополнением ГИС. При этом для администратора системы предусмотрена возможность получения сводки по каждому из пользователей, включая перечень внесенных им данных.

Важной особенностью является возможность как одновременного, так и асинхронного внесения данных разными пользователями, при этом данные могут вноситься за любой период в любом порядке. Так информацию о некоторых инфекционных заболеваниях (например, холере) вносятся еженедельно, в то время как данные о ЧС вносятся по мере поступления информации.

Ядро разработанной ГИС составляет база данных на основе MySQL, содержащая различные типы информации. Справочные слои содержат данные об административном делении до уровня отдельных областей или провинций. Данные о возникновении опасных инфекционных заболеваниях, в том числе требующих проведения мероприятий по

санитарной охране территории РФ, хранятся в масштабах отдельных стран, в то время как данные о возникновении ЧС природного и техногенного характера сохраняются в виде точечных данных с указанием координат события. Это позволяет легко комбинировать эти типы информации на общей карте, избегая информационной перегрузки. Модуль анализа данных позволяет отображать информацию за выбранный период времени на электронной карте, при этом каждый тип информации отображается в виде отдельного слоя.

**Заключение.** Таким образом, в ходе проведенной работы создана ГИС «Единая система мониторинга внешних эпидемиологических угроз», обеспечивающая отображение оперативной и ретроспективной информации о регистрации опасных инфекционных заболеваний и ЧС природного и техногенного характера на масштабируемой электронной карте. Размещение ГИС на сайте института и возможность работы на мобильных устройствах повышают доступность информации для всех заинтересованных сотрудников Роспотребнадзора и других ведомств, что особенно важно на фоне активной циркуляции и угрозе заноса возбудителей заболеваний, вызывающих чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения.

Литература:

1. Солнцев Л.А., Зайцева Н.Н., Ефимов Е.И. Электронная система хранения, представления и анализа эпидемиологической информации в масштабе федерального округа // Современные технологии в медицине. 2017. Т. 9. № 4. С. 170–176.
2. Публичная декларация целей и задач Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на 2017 год (утв. Роспотребнадзором 28.09.2017).
3. CDC. URL: <https://www.cdc.gov/surveillancepractice/data.html>
4. HealthMap. URL: <https://www.healthmap.org>

УДК: 528.94:616–036.22

**О СТРУКТУРЕ БД ГИС «ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АТЛАС РОССИИ»**

**Вьюшков М. В., Побединский Г. Г.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В работе приведены краткие результаты анализа структуры баз данных ГИС «Эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа» и предложения по структуре БД ГИС «Эпидемиологический атлас России».

**ON THE STRUCTURE OF GIS DATABASE «EPIDEMIOLOGICAL ATLAS OF RUSSIA»**

**Vyushkov M. V., Pobedinsky G. G.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The paper presents a brief analysis of the structure of GIS databases «Epidemiological Atlas of the Volga Federal district» and proposals on the structure of GIS database «Epidemiological Atlas of Russia».

**Введение.** Разработка геоинформационного проекта «Эпидемиологический атлас ПФО» была начата в начале 2000-х годов ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора совместно с АО «Верхневолжское аэрогеодезическое предприятие». В работе принимали активное участие специалисты территориальных управлений Роспотребнадзора и ФГУЗ «Центры гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации Приволжского федерального округа (ПФО) [1, 2].

В ГИС «Эпидемиологический атлас ПФО» разработана и реализована структура баз данных для хранения информации, включающая:

- пространственные данные по границам административных единиц (округа, субъекта);
- справочники административных единиц (округа, субъекта);

- справочник инфекций;
- данные по числу случаев;
- данные по численности населения [3].

**В результате работ** 2016–2018 гг. были образованы 14 самостоятельных БД, соответствующих отдельным субъектам РФ в ПФО и содержащих данные по заболеваемости и численности, и отдельная БД «Эпидемиологический атлас ПФО», содержащая версии международного классификатора болезней и картографическую компоненту. Получены свидетельства Федеральной службы по интеллектуальной собственности о государственной регистрации 30 баз данных Электронного эпидемиологического атласа, в том числе 2015 г. – 1, 2017 г. – 14, 2018 г. – 15 [4, 5].

НИР Территориально распределенный геоинформационный программный комплекс «Электронный эпидемиологический атлас Российской Федерации» (ГИС «Эпидемиологический атлас России»).

В рамках новой НИР [6] был выполнен анализ структуры баз данных ГИС «Эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа» и выработаны предложения по структуре баз данных ГИС «Эпидемиологический атлас России».

Основным недостатком существующих баз данных было отсутствие данных формы федерального статистического наблюдения № 6 «Сведения о профилактических прививках», существенно ограничивающее возможности анализа и прогноза заболеваемости. Другими недостатками были использование нестандартных классификаторов территорий, отсутствие системы контроля введенной в БД информации, неполный состав программной документации на ГИС «Эпидемиологический атлас ПФО» и входящих в него БД.

ГИС «Эпидемиологический атлас России» предусматривает два уровня реализации:

- федерального округа;
- Российской Федерации.

На уровне федерального округа разрабатывается подсистема «Электронный эпидемиологический атлас федерального округа» – окружной уровень ГИС «Эпидемиологический атлас России».

На уровне Российской Федерации разрабатывается подсистема «Электронный эпидемиологический атлас Российской Федерации» – федеральный уровень ГИС «Эпидемиологический атлас России».

Программный комплекс ГИС «Эпидемиологический атлас России» должен обеспечивать выполнение следующих блоков функций:

- ввода информации, ее контроля и корректировки;
- формирования и хранения баз данных;
- обеспечения функционирования (инфраструктурного обеспечения);
- использования баз данных и аналитического аппарата;
- предоставления результатов в табличной и графической форме, а также в виде тематических и специальных карт;
- информационно-справочной поддержки.

Система согласованных по единым классификаторам и форматам хранения баз данных, содержащих административно-территориальную, геопространственную, статистическую и эпидемиологическую информацию должна предусматривать следующие самостоятельные структуры:

- БД уровня субъекта Российской Федерации;
- БД уровня федерального округа;
- БД уровня Российской Федерации.

Структура таблиц БД должна позволять получение БД следующего уровня с необходимым обобщением информации по территориям.

Структура таблиц БД должна позволять осуществление контроля, корректировки и резервного копирования.

### Предложения по структуре БД ГИС «Эпидемиологический атлас России»

БД уровня субъекта Российской Федерации должна содержать следующую основную информацию:

- наименования и коды субъекта Российской Федерации и муниципальных образований данного субъекта Российской Федерации, соответствующие ОКАТО и ОКТМО;
- координаты поворотных точек границ субъекта Российской Федерации и муниципальных образований данного субъекта Российской Федерации, соответствующие административному делению Российской Федерации, административному делению данного субъекта Российской Федерации, выбранной системе координат и картографической основе;
- наименования и коды нозологий, соответствующие форме статистического наблюдения 2, утвержденной приказом Росстата от 29.12.2018 № 792;
- данные о численности и возрастном составе населения в разрезе муниципальных образований данного субъекта Российской Федерации;
- данные о численности и возрастном составе заболевших по нозологиям, соответствующие форме статистического наблюдения 2, утвержденной приказом Росстата от 29.12.2018 № 792, в разрезе муниципальных образований данного субъекта Российской Федерации.

БД уровня субъекта Российской Федерации должна предоставлять возможность использования локально на уровне субъекта Российской Федерации и на уровне федерального округа совместно с БД других субъектов Российской Федерации.

БД уровня федерального округа должна содержать следующую основную информацию:

- наименования и коды федерального округа и субъектов Российской Федерации данного округа, соответствующие ОКАТО и ОКТМО;
- координаты поворотных точек границ федерального округа и субъектов Российской Федерации данного округа, соответствующие административному делению Российской Федерации, выбранной системе координат и картографической основе;
- наименования и коды нозологий, соответствующие форме статистического наблюдения 2, утвержденной приказом Росстата от 29.12.2018 № 792;
- данные о численности и возрастном составе населения в разрезе субъектов Российской Федерации данного округа;
- данные о численности и возрастном составе заболевших по нозологиям, соответствующие форме статистического наблюдения 2, утвержденной приказом Росстата от 29.12.2018 № 792, в разрезе субъектов Российской Федерации данного округа.

БД уровня федерального округа должна предоставлять возможность использования локально на уровне федерального округа и на уровне Российской Федерации совместно с БД других федеральных округов.

БД уровня Российской Федерации должна содержать следующую основную информацию:

- наименования и коды федеральных округов, соответствующие ОКАТО и ОКТМО;
- координаты поворотных точек границ федеральных округов, соответствующие административному делению Российской Федерации, выбранной системе координат и картографической основе;
- наименования и коды нозологий, соответствующие форме статистического наблюдения 2, утвержденной приказом Росстата от 29.12.2018 № 792;
- данные о численности и возрастном составе населения в разрезе федеральных округов;
- данные о численности и возрастном составе заболевших по нозологиям, соответствующие форме статистического наблюдения 2, утвержденной приказом Росстата от 29.12.2018 № 792, в разрезе федеральных округов.

БД уровня Российской Федерации должна предоставлять возможность использования локально на уровне Российской Федерации и совместно с БД федеральных округов.

Выходные данные программы в виде баз данных должны быть организованы в форматах СУБД MySQL 5.7.21 (Microsoft SQL Server).

Файлы указанного формата должны размещаться (храниться) на локальных или съемных носителях, отформатированных согласно требованиям операционной системы.

**Заключение.** Функциональным назначением ГИС «Эпидемиологический атлас России» является аналитическая обработка статистической информации об инфекционных и паразитарных болезнях и представления результатов в виде таблиц, графиков, прогнозно-аналитических материалов, тематических и специальных карт:

- на окружном уровне в разрезе муниципальных районов и субъектов Российской Федерации в пределах федерального округа;
- на федеральном уровне в разрезе субъектов Российской Федерации и федеральных округов.

Программный комплекс ГИС «Эпидемиологический атлас России» должен эксплуатироваться в Научно-методических центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности. Перечень научно-методических центров и Положение о научно-методическом центре утверждены приказом Роспотребнадзора от 1 декабря 2017 г. № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации».

На уровне федерального округа:

- пользователи ГИС «Эпидемиологический атлас России» – Органы государственного и муниципального управления, территориальные надзорные органы и учреждения Роспотребнадзора, медицинские организации субъектов Российской Федерации;
- обеспечение функционирования ГИС «Эпидемиологический атлас России» – Научно-методические центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности – ФБУН Росприроднадзора;
- источники информации – Управления Роспотребнадзора и Центры гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации;
- пространственная детализация информации – до уровня муниципального района;
- временная детализация информации о количестве заболевших по возрастным группам – 1 месяц;
- временная детализация информации о численности населения по возрастным группам – 1 год.

На уровне Российской Федерации:

- пользователи ГИС «Эпидемиологический атлас России» – Федеральные органы исполнительной власти, надзорные органы и учреждения Роспотребнадзора, медицинские организации Министерства здравоохранения Российской Федерации;
- обеспечение функционирования ГИС «Эпидемиологический атлас России» – базовый Научно-методический центр по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности (в части использования ГИС-технологий) – ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора;
- источники информации – подсистемы уровня федерального округа (Научно-методические центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности – ФБУН Росприроднадзора);
- пространственная детализация информации – до уровня субъектов Российской Федерации;
- временная детализация информации о количестве заболевших по возрастным группам – 1 месяц;
- временная детализация информации о численности населения по возрастным группам – 1 год.

Предлагаемая структура БД ГИС «Эпидемиологический атлас России» позволит осуществлять все перечисленные задачи разрабатываемой системы.

### Литература:

1. Ефимов Е. И. Разработка геоинформационного проекта «Эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа» / Е. И. Ефимов, Л. В. Корнилова, Т. Ф. Рябикова, П. Н. Никитин // Международный научно-промышленный форум «Великие реки' 2004». Генеральные доклады, тезисы докладов. Нижний Новгород, ННГАСУ, 2004, С. 512–514.
2. Ефимов Е. И. Методологические основы разработки и функционирования географической информационной системы для целей мониторинга за эпидемиологической ситуацией / Е. И. Ефимов, С. В. Еруков, В. И. Ершов // В сборнике: Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения. Материалы юбилейной Всероссийской научно-практической конференции посвященной 90-летию Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И. Н. Блохиной Роспотребнадзора и 20-летию Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД (Нижний Новгород, 15–17 июня 2009 г). Редколлегия: Е. И. Ефимов (ответственный редактор), Г. И. Григорьева, Н. Н. Глухов. Нижний Новгород.: ННИИЭМ. – 2009. С. 72–73.
3. Солнцев Л. А. Электронная система хранения, представления и анализа эпидемиологической информации масштаба федерального округа [Текст] / Л. А. Солнцев, Н. Н. Зайцева, Е. И. Ефимов // Современные технологии в медицине. 2017. № 4. С. 170-176.
4. Солнцев Л. А. Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа [Текст] / Л. А. Солнцев, Н. Н. Зайцева, В. И. Ершов, Е. И. Ефимов // Свидетельство о регистрации базы данных RUS 2015621143 от 05.06.2015.
5. Солнцев Л. А. Российская Федерация Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа (по материалам 2017 года) / Л. А. Солнцев, Н. Н. Зайцева, Е. И. Ефимов, Г. Г. Побединский; Правообладатель ФБУН ННИИЭМ им. академика И. Н. Блохиной Роспотребнадзора. – № 2018621618; заявл. 08.11.2018; опублик. 22.11.2018; Свидетельство № 2018621866.
6. Ефимов Е. И. О новой концепции Эпидемиологического атласа [Текст] / Е. И. Ефимов, Г. Г. Побединский // 20-й Международный научно-промышленный форум «Великие реки'2018». Труды научного конгресса. В 3 т. Т. 1. – Нижний Новгород: ННГАСУ, 2018. – С. 304–309.

УДК: 616–036.22

### **СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫЕ И ПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩИХ БОЛЕЗНИ В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ. АНАЛИЗ ЗА 2018 И ПРОГНОЗ НА 2019 ГОДЫ**

**Ершов В. И., Сарсков С. А.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Проведено изучение заболеваемости рядом инфекционных болезней на территориях Приволжского федерального округа (ПФО) в 2018 году с оценкой многолетней динамики заболеваемости для прогноза эпидемиологической ситуации в 2019 году.

### **SOCIALLY SIGNIFICANT AND DANGEROUS TO OTHERS DISEASES IN THE VOLGA FEDERAL DISTRICT. ANALYSIS FOR 2018 AND FORECAST FOR 2019**

**Ershov V. I., Sarscov S. A.**

*Academician I.N. Blohina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology» of Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The incidence of a number of infectious diseases in the Volga Federal District in 2018 with the assessment of the long-term dynamics for the prediction of the epidemiological situation in 2019 has been studied.

**Введение.** Постановлением Правительства Российской Федерации [1] утверждены перечни социально-значимых заболеваний и заболеваний, представляющих опасность для окружающих, которые включают 15 позиций инфекционных и паразитарных заболеваний.

В работе представлены результаты изучения эпидемиологической ситуации в ПФО в 2018 году для инфекционных и паразитарных заболеваний из перечней, наиболее актуальных для округа, в сравнении со среднемноголетним уровнем (СМУ) в 2014–2018 гг. [2].

С использованием возможностей аналитического раздела ГИС «Эпидемиологический атлас ПФО» представлен предварительный прогноз эпидемиологической ситуации в 2019 году.

**Анализ инфекционной и паразитарной заболеваемости в ПФО.** Анализ инфекционной заболеваемости в ПФО выполняется ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора на регулярной основе, с начала 2000-х годов. Начиная с 2007 г. использовался программный комплекс «Анализ популяционной заболеваемости» (АПЗ), а с 2016 г. применяются возможности аналитического раздела ГИС «Эпидемиологический атлас ПФО». Новая версия атласа и баз данных получила расширенный аналитический функционал для изучения особенностей эпидемического процесса, включенных в структуру атласа нозологических форм инфекционных и паразитарных заболеваний, с элементами прогнозирования характера развития эпидемического процесса выбранного для изучения заболевания.

По округу в 2018 г. не зарегистрировано случаев холеры, чумы, сибирской язвы, сапа и мелиоидоза, лепры и дифтерии (лишь 1 случай носительства токсигенного штамма – в Самарской области).

В 2018 г. в субъектах Приволжского федерального округа выявлен 20151 новый случай ВИЧ-инфекции, в том числе 175 – у детей. Среди выявленных ВИЧ-инфицированных 51,8% составили мужчины; 72,3% – являлись городскими жителями.

Средний по ПФО показатель заболеваемости составил 68,2 на 100 000 населения, что несколько ниже 2017 г. (70,5). Вместе с тем, семь территорий ПФО в 2018 г. имели уровень инцидентности, превышающий средний по округу: Пермский край (129,5), Оренбургская (109,5), Самарская (94,4), Ульяновская (86,2), Нижегородская (72,4) области и республики Башкортостан (68,5) и Удмуртская (85,2). В остальных субъектах показатель заболеваемости был ниже среднего по округу; и самый низкий, как и прежде, зарегистрирован в Кировской области (18,4 на 100 000 населения).

В 2018 г. темп прироста числа новых случаев ВИЧ-инфекции в округе имел отрицательное значение – -3,6%, в 2017 г. его значение составляло +2,6%. Отрицательные значения темпа прироста зарегистрированы в 11 субъектах округа, положительный темп прироста был в республиках Башкортостан, Татарстан и Саратовской области (+1,7%, +5,1% и +0,7% соответственно).

Возрастная структура ВИЧ-позитивных лиц в 2018 г. представлена следующим образом: дети до 14 лет составили 1%; лиц от 15 до 20 лет было 2%; 20,0% были лица в возрасте 21–30 лет; 44,7% пришлось на возрастную категорию 31–40 лет; 24,2% были возраста 41–50 лет и 8,7% старше 50 лет. Таким образом, около 77,6% лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), были старше 31 года

В социальной структуре инфицированных, по-прежнему, доминирующее положение занимают неработающие граждане (52,2%). Вместе с тем, следует отметить, что в последние годы возрастает доля социально-адаптированных лиц. Так, процент работающих ЛЖВ в 2010 г. составлял 27,0%, в 2018 году он возрос до 41,0%.

**Гельминтозы.** Из наблюдаемых гельминтозов (био- и гео-), описторхозы наиболее распространены: на РФ приходится две трети мирового ареала возбудителя. В ПФО в 2018 году зарегистрировано: 466 случаев описторхоза ( $1,58^{0/0000}$ ) (ниже уровня 2017 года на 13,0%), 276 случаев дифиллоботриоза ( $0,94^{0/0000}$ ) (на 18,0% ниже уровня предыдущего года).

**Вирусные лихорадки, передаваемые членистоногими, и вирусные геморрагические лихорадки.** В 2018 г. заболеваемость геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) в сравнении с уровнем прошлого года снизилась на 57,0%. Зарегистрировано 4539 случаев ГЛПС или 15,41<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (24,44<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> – 2017 г.), что в 3,7 раза выше российского уровня. В общероссийской заболеваемости ГЛПС на ПФО приходится 77,5%. Показатели заболеваемости ГЛПС значительно выше российских и окружных в республиках Удмуртской – 42,03<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (14,0% окружной заболеваемости), Башкортостан – 27,18<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (24,3%). Стабильно заболеваемость ГЛПС в этих регионах обусловлена вспышечной заболеваемостью.

В 2018 году из группы вирусных лихорадок в ПФО зарегистрирована заболеваемость лихорадкой Денге (26 случаев или 0,09<sup>0</sup>/<sub>00000</sub>, из них – 8 случаев в Республике Татарстан, 6 случаев в Пермском крае, 4 случая в Кировской области, 3 случая в Оренбургской области, по 2 случая в Республике Башкортостан и Нижегородской области и 1 случай в Республике Мордовия) и лихорадкой Западного Нила (6 случаев, из них 3 случая в Самарской области, 2 случая в Саратовской области, 1 случай в Республике Татарстан).

За 2018 г. зарегистрировано 159 случаев гепатита В (ГВ) или 0,54<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>, что ниже уровня 2017 г. на 30,0%. Показатель заболеваемости ГВ по округу за 2018 г. ниже российского в 1,25 раз. Удельный вес ГВ в структуре ОВГ составил 11,0%.

В 2018 г. зарегистрирован по округу 321 случай гепатита С (ГС) или 1,09<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>, что несколько ниже российских показателей – 1,11<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> и ниже уровня показателей округа 2017 года на 17,0% (1,27<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>). Доля ГС в структуре ОВГ составила в 2018 году 22,1%.

Уровень носительства HbsAg по округу снизился на 15,01% в сравнении с 2017 г. Показатель носительства HbsAg составил 8,45<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> – против 9,58<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> в 2017 г. Наибольшие показатели носительства HbsAg зарегистрированы в республиках Татарстан – 28,91<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> и Башкортостан – 14,71<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>. Низкие уровни заболеваемости ОВГ и уровня носительства HbsAg, очевидно, связаны с успешным проведением иммунопрофилактики против ГВ.

Заболеваемость впервые установленным туберкулезом по округу имеет в последние годы слабовыраженную тенденцию к снижению. В то же время, в отчетном году показатель составил 39,34<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (увеличение в сравнении с 2017 г. на 6,0%). Показатель заболеваемости по РФ составил 41,96<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>. Доля случаев туберкулеза органов дыхания составила 97,2% (в 2017 г. 96,4%).

Заболеваемость бациллярными формами туберкулеза выросла в отчетном году на 24,0%). Показатель заболеваемости равен 21,81<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (17,54<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> в 2017 г.). Доля бациллярных форм туберкулеза составила 55,4% (46,9% – в предшествующий год).

На 5 территориях округа показатель заболеваемости туберкулезом зарегистрирован на уровне окружного (и ниже его), в 9 остальных – в 1,1–1,5 раза выше (максимальный уровень – в Оренбургской области – 61,92<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>).

**Инфекции, передающиеся преимущественно половым путем.** Заболеваемость сифилисом в округе за 2018 г. снизилась на 21,0% в сравнении с 2017 г. (с темпом снижения в сравнении с СМУ 4,5%) Всего зарегистрировано 4 444 случая сифилиса или 15,09<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (17,92<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> – 2017 г.), по РФ показатель равен 15,94<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>. Показатель заболеваемости гонореей в округе составил 7,92<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> (по РФ – 8,54<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>) против 11,09<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> в 2017 г. (снижение на 41,0%). Темп снижения составил 14,2%.

За 2018 год на половине территорий округа зарегистрировано всего 17 случаев малярии. Увеличилась регистрация впервые выявленной малярии в РФ (146 случаев против 92 в 2017 г.).

В 2018 году количество случаев педикулеза выросло на 3,0% (в сравнении с 2017 годом). В регионах регистрируются высокие цифры поражения педикулезом. Всего выявлено 12 382 случая педикулеза (42,03<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>) против 12 102 случаев (40,62<sup>0</sup>/<sub>0000</sub>) в 2017 г. В сравнении с СМУ темп снижения 0,6%.

За 2018 год число случаев выявленной чесотки (относится к акариазам) снизилось на 4,0% (11,90<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> против 12,32<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> в 2017 г.).



**Прогноз эпидемиологической ситуации в ПФО в 2019 году.** Для прогноза проявлений эпидемического процесса в годовой динамике в аналитическом разделе атласа используется ретроспективный анализ инфекционной заболеваемости, а для наглядности получаемых результатов применяется метод графического моделирования. Оценка по количеству заболевших на каждый месяц планового года проводится на основе данных по количеству заболевших в этом месяце за предшествующие года. Для этого на основе выборки значений количества заболевших рассчитывается медиана, 75 и 25 процентиля и определяется максимальное и минимальное значение [3].

Достоверность такой методики можно рассмотреть с помощью сравнения фактического уровня заболеваемости с прогнозом динамики заболеваемости в 2018 г. на примере Республики Татарстан. Среди социально-значимых заболеваний и болезней, представляющих опасность для окружающих в Республике Татарстан, как и в ПФО в целом, наиболее важное значение имеют: туберкулез (впервые выявленный), ВИЧ, ОГВ и ГЛПС. Результаты прогноза с фактическим уровнем заболеваемости совпадают на 83% ВИЧ, 50% туберкулез, 66% ОГВ, 100% ГЛПС.

В настоящий момент существует прогноз динамики инфекционной заболеваемости на 2019 г. по всем 14 субъектам ПФО. Если рассматривать прогноз на примере Республики Татарстан, то можно сказать, что для ОГВ, туберкулеза (впервые выявленного) установлена тенденция к умеренному снижению, для ВИЧ к умеренному повышению или стабилизации на достаточно высоком уровне. В динамике заболеваемости ГЛПС также установлена тенденция к незначительному повышению, отдельно можно отметить у данной инфекции выраженную сезонность. Ожидаемое начало сезонного подъема приходится на июнь, окончание – на декабрь, с максимальной заболеваемостью в ноябре.

Получаемые результаты следует рассматривать в первую очередь как ориентировочный вариант прогноза, поскольку он базируется только на ретроспективных данных о количестве заболевших и не учитывает динамику изменения факторов среды, которые, во-первых, могут быть различными для различных инфекций, и, во-вторых, требуют отдельного изучения в плане влияния колебаний их значений на уровень заболеваемости. Поэтому наиболее точный и достоверный прогноз возможен лишь при использовании комплексной оценки факторов риска для каждой инфекции в отдельности, и является актуальным направлением в медицинской географии.

**Заключение.** Таким образом, для большинства заболеваний, входящих в перечни социально-значимых и представляющих опасность для окружающих, установлена тенденция к умеренному снижению заболеваемости или стабилизации на достаточно высоком уровне, а использование аналитического раздела ГИС «Эпидемиологический атлас ПФО» позволяет не только анализировать состояние заболеваемости выбранной инфекцией, но и прогнозировать динамику заболеваемости [3].

#### Литература:

1. Постановление Правительства РФ от 01.12.2004 № 715 (ред. от 13.07.2012) «Об утверждении перечня социально-значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих».
2. Основы ретроспективного анализа инфекционной заболеваемости [Текст]: учеб. пособие для студентов мед. вузов / Н. Н. Потехина, О. В. Ковалишена, Ю. Г. Пискарев, В. А. Никифоров, В. И. Ершов, Д. Б. Гришин, Д. К. Божатков; ред.: В. В. Шкарин, Р. С. Рахманов. - Н. Новгород.: Изд-во НижГМА, 2009. – 160 с. ISBN 978-5-7032-0754-3
3. Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа. [Электронный ресурс]. – Доступ: <http://epid-atlas.nniiem.ru/>

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕОИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГРИППОМ В МАСШТАБАХ КРУПНОГО ГОРОДА**

**Ковалев<sup>1</sup> Е. В., Слись<sup>1</sup> С. С., Ерганова<sup>1</sup> Е. Г., Ненадская<sup>1</sup> С. А., Мирошниченко<sup>1</sup> Г. А., Водопьянов<sup>2</sup> А. С., Литовко<sup>3</sup> А. Р., Лялина<sup>4</sup> Л. В.**

<sup>1</sup>*Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Россия*

<sup>2</sup>*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

<sup>3</sup>*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», Ростов-на-Дону, Россия*

<sup>4</sup>*ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия*

**Аннотация.** Создание геоинформационной системы ГИС «Грипп Ростов-на-Дону» позволило определить характер распределения мест регистрации различных субтипов вируса гриппа А и В на территории крупного города.

**USING GEOGRAPHIC INFORMATION TECHNOLOGIES TO ASSESS THE INCIDENCE OF INFLUENZA IN A LARGE CITY**

**Kovalev<sup>1</sup> E. V., Slis<sup>1</sup> S. S., Erganova<sup>1</sup> E. G., Nenadskaya<sup>1</sup> S. A., Miroshnichenko<sup>1</sup> G. A., Vodop'yanov<sup>2</sup> A. S., Litovko<sup>3</sup> A. R., Lyalina<sup>4</sup> L. V.**

<sup>1</sup>*Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>2</sup>*FSHA «Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute» of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>3</sup>*FSHA «Center of hygiene and epidemiology in Tyumen region Center of hygiene and epidemiology in Rostov Region» of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>4</sup>*FBSI «Pasteur St. Petersburg Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of Rosпотребнадзор, Saint-Petersburg, Russia*

**Abstract.** The creation of the GIS system «Influenza Rostov-on-Don» made it possible to determine the nature of the distribution of registration sites for various subtypes of influenza viruses A and B in the territory of a large city.

**Введение.** Актуальность гриппа как медико-социальной проблемы не вызывает сомнения, так по данным ВОЗ грипп до сих пор остается самым массовым инфекционным заболеванием [1]. В связи с этим большое значение приобретает оперативная оценка текущей эпидемиологической ситуации и прогнозирование развития эпидемий этого заболевания.

Первые попытки моделирования эпидемий гриппа в нашей стране были предприняты еще в 70 гг. прошлого века [2]. Использование математической модели Л.А. Рвачева позволило дать довольно точный прогноз ежедневной заболеваемости гриппом для крупных городов и предсказать время развития пика эпидемии [3].

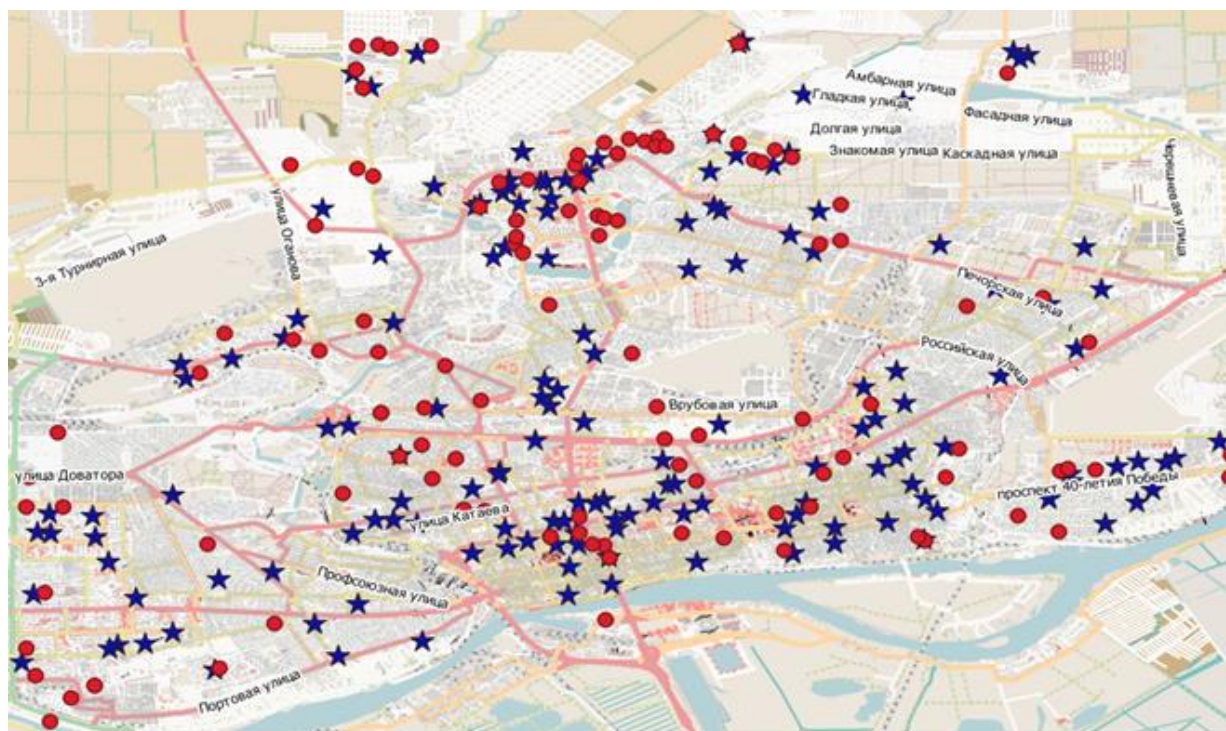
Развитие современных географических информационных систем (далее – ГИС) открывает новые возможности для пространственного анализа распространения различных заболеваний, в том числе и гриппа.

Известно, что характер развития эпидемий может быть разным для различных субтипов вируса. Так было показано, что эпидемия гриппа А(H1N1)pdm09 2015–16 гг. отличалась от смешанных эпидемий гриппа А(H3N2) и В 2014–15 и 2016–17 гг. быстрым темпом развития и высокой летальностью среди заболевших, в то время как эпидемии гриппа А(H3N2) и В начинались раньше и были более продолжительными [4]. Это делает актуальными работы по сравнительному изучению распространения различных субтипов вируса в пределах одного мегаполиса.

**Цель** исследования состояла в разработке геоинформационной системы, содержащей данные по заболеваемости гриппом, и оценке эпидемических осложнений по гриппу в г. Ростове-на-Дону в 2019 году.

**Материалы и методы.** В качестве первичного источника данных использованы не персонифицированные материалы по заболеваемости гриппом на основе ПЦР исследований, поступившие в Управление Роспотребнадзора по Ростовской области. Геокодирование адресов проводили с использованием сервисов Nominatum и Спутник. Для разработки ГИС применяли бесплатное программное обеспечение QGIS версии 3.2.2. В качестве картографической основы использовали карты сообщества OpenStreetmap.

**Результаты и обсуждение.** Первый этап работы состоял в геокодировании адресов, по которым проживали заболевшие гриппом. Это позволило нанести на карту места проживания 369 заболевших с 52 недели 2018 по 12 неделю 2019 года (рисунок). Как видно из рисунка, заболеваемость гриппом распределилась практически равномерно по всем основным районам города.



**Рисунок.** ГИС «Грипп Ростов-на-Дону» – места регистрации случаев гриппа с 52 недели 2018 г. по 12 неделю 2019 г.; кружки – A(H1N1)pdm09, звездочки – A(H3N2).

Важно отметить, что анализ мест проживания заболевших несет в себе определенные сложности, так как человек может быть инфицирован не по месту проживания, а по месту работы или учебы. Одним из решений этой проблемы может быть использование методов пространственной статистики, что позволяет выявлять общие закономерности и нивелировать влияние на анализ единичных случаев, выпадающих из общей тенденции. В этом плане перспективным представляется использование пространственного анализа с помощью расчета плотности распространения – «тепловой карты». Для этой цели нами были рассчитаны две вариограммы для гриппа H3N2 и H1N1pdm09. Это позволило установить, что грипп H3N2 сформировал две территории риска – в центральном (Кировском) районе города и в меньшей степени – в Ворошиловском районе (Северном жилом массиве). Для гриппа H1N1pdm09 основной очаг располагался в Северном жилом массиве и два менее выраженных – в Кировском районе и Пролетарском районе (п. Александровка).

Таким образом, в ходе проведенного исследования успешно апробирована методика геокодирования адресов с помощью бесплатных сервисов Nominatum и Спутник. Создана

ГИС «Грипп Ростов-на-Дону», отражающая пространственное распределение случаев регистрации гриппа в условиях крупного города. Показано, что при смешанном эпидемическом неблагополучии разные субтипы вируса гриппа имеют разное пространственное распространение, что может быть полезным при планировании противоэпидемических мероприятий.

Литература:

1. Бюллетень Всемирной организации здравоохранения. 2012. В. 90. № 4. С. 245–320.
2. Бароян О.В. Моделирование и прогнозирование эпидемий гриппа для территории СССР/ Бароян О.В., Рвачев Л.А., Иванников Ю.Г. – М.: 1977. – С. 546.
3. Иванников Ю.Г., Огарков П.И. Опыт математического компьютерного прогнозирования эпидемий гриппа для больших территорий // Журнал инфектологии. 2012. Т. 4. № 3. С. 101–106.
4. Карпова Л.С., Столярова Т.П., Поповцева Н.М., Столяров К.А., Даниленко Д.М. Различия характера эпидемий гриппа 2014–2017 годов в зависимости от их этиологии // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17. № 1 (98). С. 13–19.

УДК: 37.014; 338.46

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЗНАНИЙ ОСНОВНЫХ ПРИЦИПОВ  
ПРОФИЛАКТИКИ ЭНТЕРОБИОЗА У СОТРУДНИКОВ ДОШКОЛЬНЫХ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

**Летюшев<sup>1,2</sup> А. Н., Степанова<sup>1</sup> Т. Ф., Шарухо<sup>2</sup> Г. В., Фольмер<sup>3</sup> А. Я.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

<sup>2</sup>*Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Тюменской области, г. Тюмень, Россия*

<sup>3</sup>*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тюменской области» Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** По результатам проведенного анкетирования сотрудников дошкольных образовательных организаций Тюменской области проведена оценка уровней знаний санитарного законодательства в части профилактики энтеробиоза в дошкольных организациях. Установлена взаимосвязь между уровнем компетентности сотрудников дошкольной организации в вопросах профилактики энтеробиоза и качеством пройденного профессионального гигиенического образования, уровнем профессионального образования сотрудников, местом работы (сельское или городское учреждение) и занимаемой должностью.

**RESULTS OF THE ASSESSMENT OF THE LEVEL OF KNOWLEDGE OF THE MAIN  
TRAILERS OF THE PREVENTION OF ENTEROBIOSIS IN THE PRESCHOOL  
EDUCATIONAL ORGANIZATIONS EMPLOYEES**

**Letyushev<sup>1,2</sup> A. N., Stepanova<sup>1</sup> T. F., Sharukho<sup>2</sup> G. V., Folmer<sup>3</sup> A. Ya.**

<sup>1</sup>*Tyumen Scientific Research Institute of Regional Infectious Pathology, Tyumen, Russia*

<sup>2</sup>*Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in the Tyumen Region, Tyumen, Russia*

<sup>3</sup>*Center of hygiene and epidemiology in Tyumen region Center of hygiene and epidemiology in Tyumen Region of Rosпотребнадзор, Tyumen, Russia*

**Abstract.** According to the results of a survey of employees of preschool educational institutions of the Tyumen region, an assessment was made of the level of knowledge of sanitary legislation regarding the prevention of enterobiasis in preschool organizations. The relationship between the level of competence of preschool organizations in the prevention of enterobiasis and the quality of professional hygienic education, the level of professional education of employees, place of work (rural or urban institution) and their position has been established.

**Введение.** Энтеробиоз – самый распространенный гельминтоз, который определяет уровень детской заболеваемости паразитозами, он продолжает оставаться доминирующей инвазией в структуре паразитарных заболеваний [2]. О высокой активности эпидемического процесса паразитарных болезней (в том числе энтеробиоза) указывают результаты санитарно-паразитологических исследований объектов окружающей среды. В 2017 г. удельный вес выявления яиц гельминтов в смывах составил 0,02% (в 2016 г. – 0,19%, в 2012 г. – 0,04%) [2]. Обнаружение яиц гельминтов в смывах свидетельствует о нарушении санитарно-эпидемиологического режима в детских образовательных организациях, плавательных бассейнах, аквапарках и др. [3]. Одна из причин нарушения санитарно-эпидемиологического режима в детских учреждениях, по нашему мнению, является низкий уровень знаний санитарного законодательства, в том числе по профилактике энтеробиоза [4], что способствует осложнению эпидемиологической ситуации.

В связи с вышеизложенным, **целью** исследования является оценка уровня знаний санитарного законодательства в части организации профилактических и противоэпидемических мероприятий в очаге энтеробиоза, у сотрудников дошкольных образовательных организаций (далее ДОО) Тюменской области.

**Материалы и методы.** Материалами для настоящего исследования послужили результаты проведенного анкетирования сотрудников ДОО Тюменской области. Всего в анкетировании приняло участие 366 сотрудников из 15 ДОО Тюменской области, в том числе 171 сотрудник из городских ДОО и 195 сотрудников из сельских ДОО.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью лицензионного программного обеспечения SPSS 22.0, предназначенного для научных исследований. В исследовании использовались номинальные (качественные признаки) данные, которые анализировались с помощью непараметрических критериев. Использовались таблицы сопряженности, проводился расчет критерия Хи-квадрат. При малом количестве наблюдений и если ожидаемое число наблюдений в таблице сопряженности было менее 5, то нами использовался точный критерий Фишера [1].

**Результаты и их обсуждение.** При изучении общих сведений о сотрудниках ДОО Тюменской области, принявших участие в анкетировании, можно сказать что, средний возраст составил 42 года (70% в возрасте от 30 до 49 лет), из которых 98% были женщины, в должности воспитателей с высшим и средним профессиональным образованием (90,2%) и в должности помощников воспитателя со средним и начальным профессиональным образованием (84,5%), со средним стажем работы порядка 10 лет, на момент проведения настоящего исследования.

Одним из вопросов проведенного анкетирования был вопрос о наличии информации по профилактике энтеробиоза в пройденном гигиеническом обучении. Из 361 респондентов, давших ответ, 31% утверждали, что не помнят и 7,2% указывали на отсутствие информации по профилактике паразитозов в пройденном обучении, что свидетельствует о его низком качестве (таблица).

В ходе оценки уровня компетентности сотрудников ДОО в вопросах профилактики и организации противоэпидемических мероприятий в очаге энтеробиоза установлено, что 82% сотрудников (78,6% медицинских работников) считают необходимым изолировать источник (больной ребенок) паразитарного заболевания, от остальных детей ДОО. Выявлена связь, между уровнем профессионального образования сотрудников и мнением о необходимости отстранять заболевших детей от посещения ДОО ( $p < 0,05$ ).

Практически все сотрудники убеждены в необходимости проведения дополнительной обработки объектов окружающей среды в очаге энтеробиоза в ДОО, однако только 29% знают о необходимости использовать дезинфекционно-дезинвазионные средства, из которых в 64% были сотрудники городских ДОО ( $p < 0,05$ ). При этом доля лиц, знающих о дезинфекционно-дезинвазионных средствах, была выше среди сотрудников, указывающих на наличие в программе гигиенического обучения информации по профилактике энтеробиоза ( $p < 0,05$ ).

**Таблица. Результаты анкетирования сотрудников ДОО Тюменской области**

Варианты ответов	Ответы сотрудников 15 ДОО принявших участие в анкетировании (N=366)			
	Частота	Доля в %	95% ДИ	
			НДИ	ВДИ
<b>Наличие информации по профилактики паразитарных болезней при прохождении профессионального гигиенического обучения</b>				
Имелись	223	61,8	56,7	66,6
Отсутствовали	26	7,2	5	10,3
Не помню	112	31	26,5	36
Всего	361	100	88,1	113
<b>Дети больные энтеробиозом отстраняются от посещения ДОО?</b>				
Да	301	82,2	0,8	0,9
Нет	65	17,8	0,1	0,2
Всего	366	100	0,9	1,1
<b>Какими средствами (препаратами) проводится обработка объектов окружающей среды (поверхности, твердая мебель) в очаге энтеробиоза в ДОО?</b>				
Мыльно-содовым раствором и моющими средствами	100	29,2	0,2	0,3
Дезинфицирующими средствами	139	40,5	0,4	0,5
Дезинфекционно-дезинвазионными средствами	104	30,3	0,3	0,4
Всего	343	100	0,9	1,2
<b>Какими способами, проводится обработка постельных принадлежностей (одеяла, матрасы и подушки) в очаге энтеробиоза в ДОО?</b>				
В соответствии с СП (обработка пылесосом, камерная обработка)	305	86,6	0,8	0,9
Другие способы (стирка, глажка утюгом, холод, солнечные лучи)	47	13,4	0,1	0,2
Всего	352	100	0,9	1,1
<b>В очаге энтеробиоза в ДОО необходимо ли убирать в кладовые (подсобные помещения) мягкие игрушки, мягкую мебель, ковры?</b>				
Да	326	89,1	0,9	0,9
Нет	40	10,9	0,1	0,1
Всего	366	100	0,9	1,1
<b>Если да, то на какой срок необходимо убрать в кладовые мягкие игрушки, мягкую мебель, ковры в очаге энтеробиоза в ДОО?</b>				
В соответствии с СП (на 3 дня)	68	20,9	0,2	0,3
Другие сроки (от 5 до 21 дня)	258	79,1	0,7	0,8
Всего	326	100	0,9	1,1

Порядка 96% сотрудников убеждены в необходимости проведения обработки постельных принадлежностей (одеяло, подушки, матрасы) в очаге энтеробиоза в ДОО, из которых только 86% (352 сотрудника) знали о способах обработки в соответствии с требованиями санитарных правил, при этом самыми осведомленными были медицинские работники городских ДОО, а менее – воспитатели и их помощники в городских ДОО ( $p < 0,05$ ).

89% сотрудников считают необходимым убирать в кладовые (подсобные помещения) мягкие игрушки, мягкую мебель, ковры в очаге энтеробиоза в ДОО, при этом сроки их

уборки были указаны в соответствии с требованиями санитарных правил (на 3 дня) только 21% сотрудников, из которых самыми осведомленными были сельские воспитатели и их помощники ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Таким образом, результаты проведенного анкетирования указывают на существенные пробелы в знаниях о профилактических и противоэпидемических мероприятиях в очаге энтеробиоза у сотрудников ДОО.

Особую озабоченность вызывает низкое качество проводимого профессионального гигиенического обучения, а возможно и чисто формальное его прохождение сотрудниками ДОО, о чем свидетельствует незнание кратности прохождения гигиенического обучения (в 39%), а также отсутствие информации по профилактике паразитарных болезней в проводимом обучении, что, по нашему мнению, может являться одной из причин осложнения эпидемиологической ситуации по энтеробиозу.

#### Литература:

1. Гланц. С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. – М., Практика, 1998. – 459 с.
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 г.» Роспотребнадзора – 2018.
3. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 г.» Роспотребнадзора – 2017.
4. СП 3.2.3110-13 «Профилактика энтеробиоза» (утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 22.10.2013 № 57).

УДК: 517.958/616.981.51

### **ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НЕОБХОДИМОГО ЗАПАСА РЕСУРСОВ РЕГИОНОВ СИБИРСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА ДЛЯ ПРОТИВОДЕЙСТВИЯ ЭПИДЕМИЯМ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

**Низоленко Л. Ф., Бачинский А. Г.**

*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Роспотребнадзора, Кольцово, Новосибирская область*

**Аннотация.** В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» разработана и реализована в виде компьютерной программы Универсальная модель распространения эпидемий, доступная по адресу <http://epimod.vector.nsc.ru>. С помощью данной модели для регионов Сибирского Федерального Округа проведена оптимизация запасов ряда ресурсов, с учетом численности населения и урбанизации региона. Полученные данные можно рекомендовать регионам для поддержания их готовности к эпидемиям особо опасных заболеваний вирусной этиологии.

### **THEORETICAL ASSESSMENT OF THE NECESSARY RESERVES OF RESOURCES IN REGIONS OF THE SIBERIAN FEDERAL DISTRICT TO COMBAT ESPECIALLY DANGEROUS INFECTIONS**

**Nizolenko L. F., Bachinsky A. G.**

*State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Russia*

**Abstract.** In the FBSI SRC VB «Vector» a universal epidemic spread model, available at <http://epimod.vector.nsc.ru>, was developed and implemented as a computer program. Using this model for the regions of the Siberian Federal District, the reserves of a number of resources have been optimized taking into account the population size and the urbanization of the region. The data obtained can be recommended to the regions to maintain readiness for epidemics of especially dangerous diseases of viral etiology.

**Введение.** В связи с невозможностью проведения экспериментов в эпидемиологии инфекционных болезней человека, основными приемами здесь являются анализ данных о состоявшихся вспышках и математическое моделирование динамики эпидемий. Это позволяет изучить факторы, определяющие масштабы эпидемий, успех или неуспех интервенций, имеющих целью снизить потери.

**Материалы и методы.** Разработанная в ГНЦ ВБ «Вектор» и реализованная в виде компьютерной программы универсальная модель эпидемий доступна по адресу <http://epimod.vector.nsc.ru>. Она адаптирована к ряду особо опасных инфекций: натуральная оспа, сибирская язва, чума, лихорадки Эбола, Марбург, Ласса, Крымская-Конго. Подробное описание модели опубликовано в [1].

При расчетах используются показатели, характеризующие инфекцию, сроки и интенсивность реализации мер противодействия. Кроме того, ряд параметров задает характеристики региона, для которого моделируется эпидемия, и его обеспеченность ресурсами. Это позволяет оценивать готовность территориальной единицы к противодействию эпидемиям и давать рекомендации региональным органам здравоохранения по оптимизации ресурсов.

**Результаты и обсуждение.** Информация о ресурсах регионов, как правило, является закрытой. В моделировании часто, проведя расчеты для нескольких регионов, для прочих задают показатели пропорционально, с учетом сведений, доступных из открытых источников. Однако, рассмотрев имеющиеся данные четырех регионов Сибирского Федерального Округа (СФО), мы отказались от такого подхода, поскольку регионы обеспечены ресурсами крайне неравномерно. Например, по открытым данным, ресурсы Новосибирской и Кемеровской областей сходны [2], на деле же Кемеровская область обеспечена на порядок хуже Новосибирской и т. п.

Для решения этой проблемы можно предложить два подхода:

1) Сотрудникам органов Роспотребнадзора, имеющим доступ к соответствующей информации освоить процедуру оценки ресурсной готовности административных единиц и проводить ее самостоятельно.

2) Оценить и рекомендовать значения ресурсов, при которых регионы гарантированно справятся с эпидемией особо опасного вирусного заболевания без привлечения помощи извне, что и было сделано в данной работе для регионов СФО.

Как показал предварительный анализ ситуации, наибольших ресурсных затрат может потребовать эпидемия натуральной оспы. Поэтому расчеты проводились для этого заболевания. Оценка необходимого запаса ресурсов производилась путем оптимизации мер противодействия, подробно описанной в [3]. Рассматривались только наиболее затратные ресурсы, которые должны иметься в наличии всегда, чтобы считать регион готовым к эпидемии. Для них задавались очень широкие рамки: число медицинских работников, занятых в ликвидации эпидемии варьировало от 10 до 3000; число мест строгой изоляции – от 10 до 2000; число мест в изоляторах контактных – от 10 до 10000. То есть, подбирались действительно идеальные условия для борьбы с эпидемией.

Из полученных при оптимизации показателей выбирались минимальные предложенные значения для каждого из оптимизируемых параметров, и проводились расчеты динамики эпидемии с этими значениями. Результаты расчетов представлены в таблице.

Число инфицированных в предложенных условиях близко к сценариям без ресурсных ограничений. Однако, число умерших практически вдвое больше, поскольку при неограниченных ресурсах в полной мере проводилась массовая вакцинация, и имелось достаточное количество лекарств.

**Заключение.** Для регионов СФО проведена оптимизация ресурсов, с учетом численности населения и урбанизации региона. Полученные данные можно рекомендовать регионам для поддержания их готовности к эпидемии натуральной оспы, также как для противодействия эпидемиям других особо опасных заболеваний вирусной этиологии.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ГЗ-1/19.



**Таблица.** Минимальные оптимизированные значения запаса ресурсов для самостоятельной борьбы с эпидемией натуральной оспы в регионах СФО и последствия эпидемии в зависимости от числа инфицированных

Регион	Население	Городское население	Запас ресурсов			Последствия эпидемии			
			Мед. работников	мест строгой изоляции	мест в изоляторах контактных	В указанных условиях		Без огранич. ресурсов	
						Инфицированных	Умерших	Инфицированных	Умерших
<b>Исходно инфицированных 30</b>									
Респуб. Тыва	318550	0.54	541	109	121	190	28	185	18
Алтайский кр.	2365680	0.56	551	117	147	196	33	192	18
Респуб. Бурятия	984134	0.59	554	131	170	204	34	200	19
Забайкальский кр.	1078983	0.68	558	157	181	231	38	226	21
Респуб. Хакасия	537668	0.69	548	140	176	234	37	229	21
Томская обл.	1078891	0.72	567	160	197	244	40	237	22
Омская обл.	1972682	0.73	568	160	205	247	42	240	22
Красноярский кр.	2875301	0.77	568	162	215	261	44	252	23
Иркутская обл.	2408901	0.79	575	168	230	267	45	258	23
Новосибирск.обл.	2779555	0.79	573	163	247	267	45	258	23
Кемеровская обл.	2708844	0.86	584	186	276	289	49	282	25
<b>Исходно инфицированных 300</b>									
Респуб. Тыва	318550	0.54	790	827	1388	1465	242	1401	136
Алтайский кр.	2365680	0.56	850	921	1661	1510	284	1453	139
Респуб. Бурятия	984134	0.59	861	940	1656	1560	285	1508	143
Забайкальский кр.	1078983	0.68	947	1075	1909	1759	323	1695	155
Респуб. Хакасия	537668	0.69	931	1062	1927	1769	310	1713	156
Томская обл.	1078891	0.72	972	1159	2224	1847	339	1778	163
Омская обл.	1972682	0.73	977	1210	2148	1878	352	1800	163
Красноярский кр.	2875301	0.77	1036	1265	2336	1970	372	1884	168
Иркутская обл.	2408901	0.79	1127	1293	2422	2013	379	1925	171
Новосибирск.обл.	2779555	0.79	1023	1293	2357	2015	380	1925	171
Кемеровская обл.	2708844	0.86	1061	1381	2576	2171	410	2071	180

#### Литература:

1. Бачинский А.Г., Низоленко Л.Ф. Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций // Проблемы особо опасных инфекций. 2014. № 2. С. 44–47.
2. Основные показатели здоровья населения и здравоохранения Сибирского федерального округа в 2012 году. Сборник статистических и аналитических материалов. Выпуск 12 / под ред. О.В.Стрельченко. Новосибирск: ЗАО ИПП «Офсет», 2013. 332 с.
3. Bachinsky A. G., L. Ph. Nizolenko A Universal Model of Epidemic: Optimizing Interventions // Universal Journal of Public Health. 2014. V. 2. № 4. P. 111–117.

УДК: 002.5/6:614.4

#### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ «ZIKAMAP» ПРИ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ КОМАРОВ-ПЕРЕНОСЧИКОВ ОПАСНЫХ АРБОВИРУСОВ**

**Остапович В. В., Прислегина Д. А., Дубянский В. М., Малецкая О. В.**

*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** В работе представлены результаты использования ГИС-портала «ZikaMap» при проведении эпизоотологического мониторинга комаров *Aedes albopictus* и контроле выполнения инсектицидных мероприятий на территории г. Сочи в 2018 г. С помощью данной программы в режиме реального времени ежедневно проводился анализ численности, распространения комаров данного вида и проводимых дезинсекционных обработок. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего использования «ZikaMap» для контроля за распространением комаров-переносчиков опасных арбовирусов и проведением профилактических мероприятий.

#### **USING THE GIS PORTAL «ZIKAMAP» FOR EPIZOOTOLOGICAL MONITORING OF MOSQUITOES-CARRIERS OF DANGEROUS ARBOVIRUSES**

**Ostapovich V. V., Prislegina D. A., Dubyanskiy V. M., Maletskaya O. V.**

*FSHA «Stavropol antiplague scientific research institute» of Rosпотребнадзор, Stavropol, Russia*

**Abstract.** The paper presents the results of using the GIS-portal «ZikaMap» when conducting epizootological monitoring of *Aedes albopictus* mosquitoes and monitoring the implementation of insecticidal measures in the territory of the city of Sochi in 2018. With the help of this program, a real-time analysis of the number, distribution of mosquitoes of this species and the conducted disinfection treatments was carried out daily. The results indicate the prospects of further use of the GIS-portal «ZikaMap» to control the spread of mosquitoes carriers of dangerous arboviruses and preventive measures.

**Введение.** Электронный картографический ресурс «ZikaMap» был разработан специалистами ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора в 2016 г. в связи с объявлением ВОЗ чрезвычайной ситуации в области международного здравоохранения по лихорадке Зика [1]. В дальнейшем ресурс был усовершенствован и на протяжении последних двух лет используется для ежедневного контроля энтомологического мониторинга и противокомариных обработок на территории Причерноморского региона Российской Федерации. Уникальность данной программы состоит в том, что ввод информации и анализ проводимых мероприятий происходит в режиме реального времени, одновременно несколькими пользователями и возможен из любой точки при наличии доступа в сеть Интернет. Кроме того, приложение обладает инструментами для проведения пространственного анализа данных – определения радиуса разлета комаров или расстояния до эпидемически значимых объектов (ЭЗО), что позволяет экстренно вносить изменения в план дезинсекционных мероприятий и прогнозировать возможность осложнения эпидемиологической обстановки.

**Цель** – анализ результатов использования ГИС-портала «ZikaMap» при проведении энтомологического мониторинга комаров *Aedes albopictus* и эффективности выполнения инсектицидных мероприятий в г. Сочи в 2018 г.

**Материалы и методы.** Материалы пополняемой базы данных «ZikaMap» – результаты энтомологического мониторинга комаров и выполнения дезинсекционных мероприятий, проводимых специалистами территориальных отделов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в Краснодарском крае и ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» Роспотребнадзора.

**Результаты и обсуждение.** Информация по распространению и количеству отловленных комаров, а также проведённым инсектицидным обработкам вводилась в базу данных «ZikaMap» ежедневно и мгновенно отображалась на карте, что позволило проводить пространственный и временной анализ сведений в режиме реального времени.

В течение исследуемого периода в г. Сочи было отловлено 1576 имаго комаров, в том числе 1262 – *A. albopictus*. Начало вылета комаров зарегистрировано с первой декады мая при достижении среднесуточной температуры воздуха выше 20°C, среднесуточная влажность при этом была в диапазоне 59–49%. Появление первых особей было зарегистрировано на три недели раньше, чем в предыдущем году (в 2017 г. – с третьей декады мая), что было обусловлено благоприятными погодными-климатическими условиями – оптимальными значениями температуры воздуха и выпавших осадков. Максимальная относительная численность *A. albopictus* отмечалась в конце первой – начале второй декады июля (в Адлерском районе 36–58 экз./20 мин. наблюдения, Центральном – 92–101, Лазаревском – 8–19 и Хостинском – 32–34). Численность комаров данного вида продолжала увеличиваться до конца июля и в первой декаде августа достигла в Адлерском районе 89–168 экз./20 мин. наблюдения, в Хостинском – 112–114, в Центральном – 175–190 и в Лазаревском – 40–42 экз./20 мин. наблюдения. Снижение численности комаров отмечалось со второй декады августа. Предусмотренный программой инструмент пространственного анализа позволял автоматически определять наличие ЭЗО в зоне радиуса разлёта *A. albopictus* от точки их выявления на карте. Результаты проведенного анализа свидетельствуют, что комары *A. albopictus* были локализованы только на территории городских кладбищ и в лесопарковой зоне и вблизи ЭЗО обнаружены не были. Инсектицидные мероприятия были выполнены в соответствии с рекомендациями специалистов Роспотребнадзора с учётом возможности разлёта комаров от мест выплода. Результаты последующего энтомологического мониторинга в 692 точках свидетельствовали об их эффективности.

**Заключение.** Таким образом, использование ГИС-портала «ZikaMap» позволило в режиме реального времени контролировать обстановку по распространению и численности комаров *A. albopictus* на территории г. Сочи в 2018 г., а также проводимым инсектицидным обработкам.

Литература:

1. Мероприятия по регуляции численности комаров *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* в г. Сочи в 2016 г., результаты и пути совершенствования / А.Ю. Попова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 4. – С. 66–71.

**ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ  
ДЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В РЕАЛИЗАЦИИ ЗАДАЧ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ**

**Янович Е. Г., Москвитина Э. А.**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В тезисах отражено использование информационных технологий, проблемно-ориентированных баз данных по холере, для оперативного и ретроспективного эпидемиологического анализа холеры в мире, по континентам и странам с определением тенденций в динамике заболеваемости, темпов роста (снижения), прогноза.

**INFORMATION TECHNOLOGIES AS A TOOL FOR EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS  
IN IMPLEMENTATION OF EPIDEMIOLOGICAL PROBLEMS**

**Yanovich E. G., Moskvitina E. A.**

*Rostov-on-Don anti-plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The article is concerned with the use of information technologies and problem-oriented databases on cholera for operational and retrospective epidemiological analysis of cholera incidence in the world, on continents and countries with determination of trends in the dynamics of morbidity, growth rates (decline) and prognosis.

**Введение.** Эпидемиологическая ситуация по холере в мире продолжает оставаться неблагополучной в связи с регистрацией эпидемий и крупных вспышек.

**Материалы и методы.** Для пополнения информационного фонда использованы сведения Wkly Epidemiological Record of World Health Organization; ProMED-mailpost; UNICEF: Cholera outbreaks in Central and West Africa; Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies, WHO; Департамента Здравоохранения и Народонаселения Республики Гаити (Ministere Sante Publique et de la Population – MSPP).

**Результаты.** Для ретроспективного и оперативного анализа, оценки эпидемиологической обстановки по холере в мире во ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора создан информационный фонд с формированием проблемно-ориентированных баз данных (БД) «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире» («Холера Эль-Тор. Мир») и «Холера Бенгал», содержащих ретроспективные данные о заболеваемости в мире, по континентам, регионам и странам, завозах и летальных исходах с 1961 г. и с 1992 г. соответственно [3]. БД включают каталоги заболеваемости холерой по континентам, регионам и странам, предусмотрены запросы для оценки состояний, тенденций в динамике заболеваемости холерой, летальности, среднего ежегодного темпа (роста, снижения), плотности инфекции. На основании заложенных в БД сведений предусмотрено графическое представление данных о заболеваемости с определением тенденций по полиномиальной, степенной и экспоненциальной линиям трендов, для прогноза.

Рассматривая особенности холеры на современном этапе, необходимо отметить, что одним из ключевых внешних эпидемиологических рисков, способствующих активизации эпидемического процесса, является увеличение интенсивности международной миграции населения. Так, за последнее десятилетие (2008–2017 гг.) в мире зарегистрировано 11734 импортированных случаев холеры, в том числе в Азии – 11228 (70,8%), на Американском континенте – 249 (14,4%), в Европе – 188 (10,8%), Африке – 66 (3,8%) и Австралии с Океанией – 3 (0,2%) [5].

В 1989 г. создана фактографическая, проблемно-ориентированная база данных «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории» («Холера Эль-Тор. Мир. Адм. Тер.») [2]. Предназначена БД «Холера Эль-Тор. Мир. Адм. Тер.» для сбора, хранения и последующей статистической обработки данных о пораженных холерой континентах, регионах, странах и их административных территориях. С учетом использования заложенных в БД сведений,

предусмотрены запросы для определения числа пораженных и формирования эндемичных территорий на уровне регионов, стран и административных районов. Поступательное распространение холеры по континентам и странам привело к образованию, помимо исторически сложившихся (Азия), вторичных (Африка, страны Карибского бассейна) эндемичных очагов на уровне административных территорий стран мира [6].

Пополнение баз данных до 2000 г. осуществлялось еженедельно, на основании сведений полученных из Weekly Epidemiological Record of World Health Organization. С 2000 г. формирование БД осуществляется с использованием данных с сайтов A ProMED-mail post, PubMed, UNICEF, Панамериканского и Европейского бюро ВОЗ и других источников, что позволило расширить информационную базу о ЧС, способствующих активизации эпидемического процесса.

Для оценки эпидемиологической обстановки в странах СНГ и России формируется проблемно-ориентированная база данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России» («Холера Эль-Тор. СНГ. Россия») [4], содержащая ретроспективные (с 1965 г.) и оперативные сведения из документированных источников информации о больных холерой, вибрионосителях в странах СНГ, в том числе и России, заносах и летальных исходах.

Для оценки эпидемиологической обстановки также пополняется фактографическая проблемно-ориентированная база данных «Холерные вибрионы. Россия» [1], включающая сведения о штаммах холерных вибрионов O1 биовара Эль Тор и холерных вибрионов O139 серогруппы, выделенных в России по субъектам (республика, край, область) и муниципальным образованиям (город, административный район) с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры, федеральных округов и климато-географических зон. В БД содержатся данные о штаммах холерных вибрионов (паспортные), выделенных от больных холерой, из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды, глубина ретроспективы – с 1994 г. База данных «Холерные вибрионы. Россия» используется для накопления, хранения и статистической обработки сведений, эпидемиологического анализа.

**Заключение.** Таким образом, в современный период седьмой пандемии холеры формирование вторичных эндемичных территорий, нарастающая интенсивность международных миграционных процессов являются потенциальными эпидемиологическими рисками возникновения вспышек и эпидемий холеры. В связи со сложившейся обстановкой в мире мониторинг, эпидемиологический анализ и оценка эпидемиологической ситуации по холере с использованием информационных технологий остаются актуальными с целью выявления предпосылок активизации эпидемического процесса на глобальном, континентальных, региональных уровнях и прогноза.

#### Литература:

1. Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Подосинникова Л.С., Горобец А.В. Холерные вибрионы. Россия. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2006620206. 2006.
2. Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А. Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № №2003620049. 2003.
3. Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А. Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2003620046. 2003.
4. Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А. Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2003620048. 2003.
5. Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Водопьянов А.С., Куриленко М.Л., Иванова С.М., Анисимова Г.Б., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2008-2017 гг. Прогноз на 2018 г. // Пробл. особо опасн. инф. 2018 г. № 1. С. 36–43.
6. Назаретян А.А., Москвитина Э.А. Холера: эндемичные территории стран мира. 2007–2011 гг. // Холера и патогенные для человека вибрионы: Матер. пробл. комиссии. Ростов-на-Дону, 2013. С. 16–21.

**РАЗДЕЛ 3. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ И АЛГОРИТМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПОИСК ИНФОРМАТИВНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

УДК: 616-036.22

**ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЁРОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С У ПАЦИЕНТОВ КРУПНОГО СОМАТИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА**

**Быстрова Т. Н., Полянина А. В., Кашникова А. Д.**

*ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Авторами была рассмотрена и оценена выявляемость серологических и молекулярно-генетических маркёров вируса гепатита С (ВГС) у пациентов крупного соматического стационара. Дана характеристика структуры спектра антител к ВГС. В связи с высокой превалентностью анти-ВГС среди изучаемой группы обсуждается необходимость проведения молекулярно-генетических исследований для более точного отражения распространённости ВГС среди населения.

**DETECTION OF SEROLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC MARKERS OF THE HCV INFECTION IN HOSPITAL PATIENTS WITH NON-INFECTIOUS PATHOLOGY**

**Bystrova T. N., Polyanina A. V., Kashnikova A. D.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** This study reveals prevalence of immunologic and molecular-genetic markers of HCV infection in hospital patients with non-infectious pathology. The spectrum of antibodies to various viral proteins is shown in the article. The anti-HCV prevalence in the studied cohort was high and authors outline feasibility of larger scale screening of general population to reveal true prevalence of HCV infection.

**Введение.** Проблема парентеральных вирусных гепатитов занимает ведущее место в инфекционной патологии человека. По данным ВОЗ, в мире хронически инфицировано ВГС от 130–170 млн человек и ежегодно эта цифра увеличивается на 3–4 млн. В 2016 году было принято решение о глобальной ликвидации всех вирусных гепатитов как проблемы общественного здравоохранения к 2030 году и для определения эффективных мер по профилактике ВГС планируется объективно оценить распространённость инфекции среди различных групп населения. Актуальность вопроса диктуется скрытым течением, частотой хронизации, активным вовлечением в эпидемический процесс лиц репродуктивного и трудоспособного возраста, отсутствием на данный момент вакцинных препаратов для профилактики инфекции, а также экономико-социальным значением. Согласно нормативной документации Российской Федерации объем исследований достаточный для постановки диагноза «Гепатит С» (ГС) включает в себя серологические исследования по обнаружению антител в сыворотке крови к структурным и неструктурным белкам ВГС. Однако наличие анти-ВГС не позволяет сделать вывод о давности заражения, а свидетельствует только об инфицировании ВГС. Для точного понимания процессов, происходящих в организме больного ГС, необходимо измерение авидности антител и молекулярно-генетическое определение РНК ВГС. На данный момент обсуждается диагностическая значимость соге-антигена ВГС, который наравне с РНК ВГС, может свидетельствовать о репликативной активности вируса у больного [6]. Характеристика возбудителя также подразумевает определение генотипа, что имеет важное клиническое и эпидемиологическое значение. В настоящее время выделяют 6 различных генотипов ВГС, а так же более 100 подтипов.

**Целью** работы является оценка выявляемости серологических и молекулярно-генетических маркёров ВГС у пациентов крупного соматического стационара.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования послужили образцы сывороток крови (n=10398) пациентов крупного соматического стационара. После скрининга на наличие анти-ВГС классов иммуноглобулинов М и G среди данных образцов, были отобраны положительные сыворотки (n=603), дальнейшее исследование которых включало определение антител к структурному (core) и неструктурным (NS3, NS4, NS5) белкам ВГС. Часть сывороток (n=64) была исследована на наличие core-антигена ВГС и РНК ВГС. Для проведения иммуноферментного анализа использовались коммерческие тест-системы производства АО «Вектор-Бест» (р.п. Кольцово, Новосибирская обл.). Выделение РНК в образцах (n=153) для исследования методом ОТ-ПЦР в режиме «Real-Time» проводилось с помощью комплекта реагентов «МАГНО-сорб» (ООО «ИнтерЛабСервис» Москва), выявление РНК ВГС в пробах осуществлялось с помощью набора реагентов «АмплиСенс HCV-Мониторинг-FL» и прибора Rotor Gene-6000 (Германия). Для статистической обработки результатов (показатель средних величин – М, стандартная ошибка средних величин – m) применялась прикладная программа Microsoft Exel 5.0 и персональный компьютер.

**Результаты и обсуждение.** Превалентность анти-ВГС среди изучаемой группы в среднем составила  $5,8 \pm 1,0$  на 100 обследованных пациентов. Данный показатель варьировал от  $1,9 \pm 0,4\%$  до  $11,2 \pm 1,9\%$  в зависимости от отделения, группу высокого риска заражения составляли пациенты отделений хирургического профиля и отделения интенсивной терапии. Аналогичные данные были получены нами ранее [1]. Из числа сывороток обследованных на РНК ВГС (исключая образцы с неопределённым результатом) у  $73,4 \pm 4,4\%$  была выявлена репликативная активность, что говорит об интенсивности латентного компонента эпидемического процесса и наличии скрытых источников инфекции ГС. Характер проводимых операций, а так же экстренность оказания медицинской помощи увеличивают вероятность инфицирования сотрудников при возникновении аварийной ситуации.

При детальном анализе спектра антител выявлено, что распространённость антител к core-белку ВГС (core-АТ) составляла  $95,0 \pm 0,9\%$ , к неструктурным белкам: NS<sub>3</sub> –  $80,1 \pm 1,8\%$ , NS<sub>4</sub> –  $57,4 \pm 2,7\%$ , NS<sub>5</sub> –  $50,7 \pm 2,9\%$ . Анти-ВГС класса М были обнаружены в  $45,9 \pm 3,0\%$  случаев.

Наиболее часто встречаемый вариант спектра антител – одновременное наличие core-АТ и антител к нескольким неструктурным белкам, а именно  $60,2 \pm 2\%$  от исследуемых образцов. Из них  $68,0 \pm 2,4\%$  имели антитела класса М. В  $22,1 \pm 1,7\%$  образцах, помимо антител к структурному белку, определялись анти-ВГС к одному неструктурному белку. Среди них превалировал вариант с наличием анти-NS<sub>3</sub> –  $91,7 \pm 2,4\%$ , частота обнаружения анти-NS<sub>4</sub> и анти-NS<sub>5</sub> составила  $4,5 \pm 1,8\%$  и  $3,8 \pm 1,6\%$  соответственно. В  $39,8 \pm 4,2\%$  образцах этой группы определялись анти-ВГС IgM;  $13,8 \pm 1,4\%$  образцов содержали антитела только к core-белку,  $9,6 \pm 3,2\%$  из них имели анти-ВГС IgM, что достоверно ниже аналогичного показателя предыдущих двух групп. На основании спектра серологических маркёров анти-ВГС затруднительно сделать вывод об остроте и давности заболевания, более точную картину эта информация даёт в совокупности с дополнительными гистологическими исследованиями и анамнестическими данными [2, 3].

Из числа анти-ВГС IgM позитивных РНК ВГС диагностировалось в  $52,5 \pm 5,0\%$  случаев, а среди анти-ВГС IgM негативных –  $47,5 \pm 5,0\%$ . Таким образом, статистически достоверной разницы между этими двумя группами не обнаружено, диагностическая значимость данного маркёра остаётся дискуссионной.

На наличие core-антигена ВГС было проанализировано 64 РНК ВГС положительных и 29 РНК ВГС отрицательных образцов. Среди первой группы превалентность данного маркёра составила  $59,4 \pm 6,1\%$ , что говорит о том, что чувствительность данного теста уступает молекулярно-генетическому анализу [4]. Тем не менее, по ряду других исследований существует значительная корреляционная связь ( $r=0,8877-0,9065$ ,  $p>0,0001$ ) между обнаружением core-антигена ВГС и высокой вирусной нагрузкой [5, 6]. В группе образцов РНК ВГС отрицательных образцов core-антиген не определялся.

Из анти-ВГС положительных образцов  $3,3 \pm 0,7\%$  содержали антитела только к одному неструктурному белку ( $45 \pm 11,1\%$  к NS<sub>3</sub> и  $55 \pm 11,1\%$  к NS<sub>4</sub>) и данный результат был оценён как неопределённый. В  $0,7 \pm 0,3\%$  образцах присутствовали антитела сразу к нескольким неструктурным белкам. Сыворотки с неопределённым результатом ( $n=17$ ) были так же исследованы на наличие в них РНК ВГС. Ни в одном случае данный маркер инфицирования выявлен не был.

**Заключение.** Полученные данные демонстрируют высокую превалентность анти-ВГС среди пациентов соматического стационара, что определяет риск внутрибольничного распространения ГС и свидетельствует о необходимости дополнительного определения молекулярно-генетических маркеров для более полного выявления скрытых источников инфекции в популяции.

#### Литература:

1. Кашникова А.Д., Быстрова Т.Н. Распространённость маркеров инфицирования вирусом гепатита С пациентов соматических стационаров г. Нижнего Новгорода // Материалы X Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены». 2018. С. 44–45.
2. Овчинникова О.В., Сиротинская Е.К., Окунева Е.А. Анализ спектра антител к вирусу гепатита С у пациентов ФБУ «1477 ВМКГ флота» по опыту работы лаборатории инфекционной иммунологии // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2012. № 1-2 (47-48). С. 237–241.
3. Мироджов Г.К., Саттарова М.И. и др. Роль структурного и неструктурных белков вируса С в развитии хронического гепатита // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. 2007. Т. 50. № 3. С. 286–290.
4. Потапова А.А., Шульгина М.М., Туполева Т.А. и др. Выявляемость core-антигена ВГС в сыворотках крови с разной степенью позитивности антител к этому белку // Информационный лист ЗАО «Вектор-Бест». 2018. № 4 (90). С. 7–10.
5. Лейбман Е.А., Николаева Л.И., Сапронов Г.В. и др. Значение количественного определения core-антигена в сыворотке крови у детей с гепатитом С // Детские инфекции. 2014. № 2. С. 8–11.
6. Михайлов М.И., Кюрегян К.К., Малинникова Е.Ю. Возможности диагностики гепатита С с помощью выявления антигена вируса гепатита С // Инфекционные Болезни: новости, мнения, обучение. 2017. № 6. С. 42–52.

УДК: 579.6

### **СРАВНЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ ЭФФЕКТОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 405 НМ В ОТНОШЕНИИ УРОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Елагин<sup>1</sup> В. В., Игнатова<sup>2</sup> Н. И., Гребенкин<sup>3</sup> Е. В., Стрельцова<sup>3</sup> О. С., Каменский<sup>4</sup> В. А.**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, НИИ ЭО и БМТ, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Кафедра эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины, Нижний Новгород, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Кафедра урологии, Нижний Новгород, Россия

<sup>4</sup>ИПФ РАН, Лаборатория лазерной наномодификации материалов, Нижний Новгород, Россия

**Аннотация.** Проблема антибиотикорезистентности бактерий определяет поиск новых средств и способов обеззараживания, что, особенно актуально, в урологии при проведении хирургического вмешательства и в постоперационный период. На сегодняшний день в качестве альтернативы антибиотикам рассматривают фотодинамическую инактивацию и лазерное излучение с длиной волны 405 нм. В работе проведен сравнительный анализ эффективности данных методов в отношении уропатогенных штаммов бактерий сем. *Enterobacteriaceae*. Показано преимущество фотодинамической инактивации и выраженный бактерицидный эффект в отношении исследованных микроорганизмов, который имеет доза-зависимый характер.



# COMPARISON OF BACTERICIDAL EFFECTS OF PHOTODYNAMIC INACTIVATION AND 405 NM LASER RADIATION IN RELATION TO UROPATHOGENIC MICROORGANISMS

Elagin<sup>1</sup> V. V., Ignatova<sup>2</sup> N. I., Grebenkin<sup>3</sup> E. V., Streltsova<sup>3</sup> O. S., Kamensky<sup>4</sup> V. A.

<sup>1</sup>*Privolzhsky Research Medical University, Institute of experimental oncology and biomedical technologies, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>2</sup>*Privolzhsky Research Medical University, Department of epidemiology, microbiology and evidence-based medicine, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>3</sup>*Privolzhsky Research Medical University, Department of urology, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>4</sup>*Institute of Applied Physics Russian Academy of Sciences, Laboratory of laser nanomodification of materials, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The problem of antibiotic resistance of bacteria necessitates the search for new means and methods of disinfection, which is especially important in urology during surgery and postoperative period. To date, photodynamic inactivation and laser treatment at wavelength of 405 nm are considered as an alternative to antibiotics. The paper presents a comparative analysis of the effectiveness of these methods in relation to uropathogenic strains of bacteria of the family *Enterobacteriaceae*. The advantage of photodynamic inactivation and a pronounced bactericidal effect in relation to the studied microorganisms, which has a dose-dependent character, are shown.

**Введение.** В последние годы быстро увеличивается количество антибиотико-резистентных бактерий [1]. В первую очередь, это связано с возникновением мутаций, способствующих выживанию микроорганизмов, неадекватными схемами лечения, некачественными медикаментами. Особенно остро данная проблема стоит в урологии при лечении инфекционной мочекаменной болезни, что обуславливает необходимость поиска новых способов уничтожения резистентных бактериальных штаммов. На сегодняшний день в качестве альтернативы антибиотикам рассматривают фотодинамическую инактивацию (ФДИ) и воздействие света с длиной волны 405 нм. Вследствие того, что облучение светом при ФДИ происходит в высшей степени локально, то ФДИ можно применять при локализованных инфекционных заболеваниях. Исследования по санации инфицированных ран, обработанных хлорином Е6, монохроматическим светом приводило к снижению количества живых бактерий более чем на 75% [2, 3]. Бактерицидный эффект лазерного излучения с длиной волны 405 нм также был показан в отношении музейных штаммов *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. При облучении культуральных чашек с данными микроорганизмами, удавалось добиться уменьшения количества бактерий на 6 порядков [4]. Также был показан бактерицидный эффект лазера 405 нм в отношении метициллин-устойчивого стафилококка [5] и отсутствие формирования резистентности к действию 405 лазера даже после 15 последовательных воздействий сублетальной дозой. На наш взгляд, еще одним возможным направлением использования ФДИ является ее применение для санации почечных камней пред их дроблением. В связи с этим целью данной работы являлось сравнение эффектов воздействия ФДИ и монохроматического света с длиной волны 405 нм на микроорганизмы, выделенные с поверхности камней мочевыводящей системы человека.

**Материалы и методы.** Микроорганизмы выделяли с поверхности нераздробленных камней, извлеченных и почек 3-х пациентов. Камни в условиях операционной помещались в пробирку с 5 мл стерильного фосфатно-солевого буфера и выдерживались на орбитальной качалке в течение 1 часа при 37°C и постоянном помешивании 130 об/мин. Затем буфер стерильно переносили в пробирки с питательным бульоном и оставляли на 24 часа в орбитальной качалке. Суспензию микроорганизмов разводили в фосфатно-солевом буфере согласно стандарту мутности ( $2.5 \times 10^8$  кл/мл). К 1 мл готовой взвеси добавляли Фотодитазин (ООО Вета-Гранд) до конечной концентрации 50 мкМоль и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 15 минут. Облучение проводили в 96-луночном планшете

диодным лазером с длиной волны 659 нм и выходной мощностью 50 мВт, 100 мВт и 150 мВт. Суммарная доза составляла 133 Дж/см<sup>2</sup>, 266 Дж/см<sup>2</sup> и 400 Дж/см<sup>2</sup>. Затем подвергшиеся воздействию бактерии инокулировали на твердую питательную среду и выдерживали в течение ночи при 37°C. После чего проводили подсчет количества колониеобразующих единиц (КОЕ)

Воздействие лазером с длиной волны 405 нм осуществляли на эти же бактериальные культуры. Для этого 100 мкм разведенной по стандарту мутности бактериальной суспензии помещали в лунки 96-луночного планшета и облучали каждую лунку отдельно. Выходная мощность лазерного излучения составляла 10 мВт, 100 мВт и 280 мВт, время воздействия 10 и 15 минут. После воздействия бактерий инокулировали на питательный агар и выдерживали при 37°C в течение ночи после чего проводили подсчет КОЕ.

В качестве контроля использовали бактериальные культуры, выдержанные в тех же условиях, но не подвергавшиеся воздействию. Проводили также определение видов микроорганизмов с помощью тест систем (НПО Диагностические системы).

**Результаты и обсуждение.** Идентификация бактерий, выделенных с почечных камней, показала присутствие представителей семейства *Enterobacteriaceae*, таких как *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* и *Enterobacter aerogenes*. Бактерицидный эффект ФДИ был отмечен в отношении *E. coli* и *P. mirabilis*. Так при максимальной мощности воздействия (150 мВт) количество КОЕ снижалось в 8.5 и 11 раз соответственно. В отношении *E. aerogenes* продемонстрировано незначительное снижение на 29% по сравнению с контролем при воздействии 100 мВт.

При воздействии лазерного излучения с длиной волны 405 нм и выходной мощностью 10 и 100 мВт на эти же штаммы снижения количества КОЕ не было отмечено ни для одной из культур. Увеличение мощности до 280 мВт приводило к снижению КОЕ для *E. coli* в 2 и 7 раз при воздействии в течение 10 и 15 минут соответственно. При максимальной дозе воздействия снижение КОЕ составляло 45% для *P. mirabilis* и 22% для *E. aerogenes* по сравнению с контролем.

**Заключение.** В результате проведенных исследований показано, что фотодинамическая инактивация обладает выраженным бактерицидным эффектом в отношении исследованных микроорганизмов. Также важно отметить, что данный эффект носит доза-зависимый характер. Воздействие лазерного излучения с длиной волны 405 нм, также обладает бактерицидным эффектом в отношении микроорганизмов, выделенных с почечных камней. Однако, ингибирующий эффект лазерного излучения менее выражен по сравнению с фотодинамическим воздействием.

#### Литература:

1. Chokshi A, Sifri Z, Cennimo D, Horng H. Global Contributors to Antibiotic Resistance // J Glob Infect Dis. – 2019;11(1):36–42.
2. Vecchio D, Dai T, Huang L, Fantetti L, Roncucci G, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy with RLP068 kills methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and improves wound healing in a mouse model of infected skin abrasion PDT with RLP068/CI in infected mouse skin abrasion // J Biophotonics. – 2013;6(9):733–42.
3. Fila G, Kasimova K, Arenas Y, Nakonieczna J, Grinholz M, Bielawski KP, Lilge L. Murine Model Imitating Chronic Wound Infections for Evaluation of Antimicrobial Photodynamic Therapy Efficacy// Front Microbiol. – 2016;7:1258.
4. Barneck MD, Rhodes NLR, de la Presa M, Allen JP, Poursaid AE, Nourian MM, Firpo MA, Langell JT. Violet 405-nm light: a novel therapeutic agent against common pathogenic bacteria // J Surg Res. – 2016;206(2):316–324.
5. Tomb RM, Maclean M, Coia JE, MacGregor SJ, Anderson JG. Assessment of the potential for resistance to antimicrobial violet-blue light in *Staphylococcus aureus* // Antimicrob Resist Infect Control. – 2017;6:100.

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТА ВСПЫШКИ  
ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ В ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ  
УЧРЕЖДЕНИИ НИЖНЕГО НОВГОРОДА**

**Епифанова<sup>1</sup> Н. В., Калашникова<sup>2</sup> Н. А., Погодина<sup>3</sup> Л. В., Хохлова<sup>1</sup> Н. М., Зверев<sup>1</sup> В. В.,  
Кашников<sup>1</sup> А. Ю., Шарабакина<sup>3</sup> М. А., Садыкова<sup>3</sup> Н. А., Новикова<sup>1</sup> Н. А.**

<sup>1</sup>ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Нижегородской области»,  
Нижний Новгород, Россия

<sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора по Нижегородской области, Нижний Новгород, Россия

**Аннотация.** Проведено эпидемиологическое расследование групповой заболеваемости острой кишечной инфекцией в общеобразовательном учреждении Нижнего Новгорода, зарегистрированной в октябре 2018 года. На основании тестирования образцов клинического материала от госпитализированных детей, пострадавших в ходе вспышки, на спектр кишечных патогенов, установлено, что этиологическим агентом заболевания явился норовирус. Молекулярно-генетические исследования позволили определить генотип норовируса – GII.P17\_GII.17 (вариант D). Норовирус данного генотипа выявлялся на территории Нижнего Новгорода с 2015 года при спорадической и групповой заболеваемости. Проведенные молекулярно-генетические исследования этиологического агента использованы в комплексном анализе причин возникновения вспышки.

**IDENTIFICATION OF AN ETIOLOGICAL AGENT OF ACUTE ENTERIC INFECTION  
OUTBREAK IN GENERAL EDUCATIONAL INSTITUTION OF NIZHNY NOVGOROD**

**Epifanova<sup>1</sup> N. V., Kalashnikova<sup>2</sup> N. A., Pogodina<sup>3</sup> L. V., Khokhlova<sup>1</sup> N. M., Zverev<sup>1</sup> V. V.,  
Kashnikov<sup>1</sup> A. Yu., Sharabakina<sup>3</sup> M. A., Sadykova<sup>3</sup> N. A., Novikova<sup>1</sup> N. A.**

<sup>1</sup>Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>Center for Hygiene and Epidemiology in the Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>3</sup>Department of the Federal Service of Surveillance for Protection of Consumers Rights and Human  
Welfare for Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Russia

**Abstract.** An epidemiological investigation of the group incidence of acute enteric infection in a general education institution of Nizhny Novgorod, registered in October 2018, was conducted. Based on the testing of samples of clinical material from hospitalized children affected by the outbreak on the spectrum of enteric pathogens, it was found that the etiological agent of the disease was norovirus. The molecular genetic studies have identified the genotype of norovirus – GII.P17\_GII.17 (variant D). Norovirus of this genotype has been detected in the territory of Nizhny Novgorod since 2015 in case of sporadic and group morbidity. The molecular genetic studies of the etiological agent were used in a comprehensive analysis of the causes of the outbreak.

**Введение.** Норовирус является основным этиологическим агентом вспышек и групповых заболеваний острой кишечной инфекцией (ОКИ) во всех возрастных группах. По результатам исследований, проведенных в Европе, установлено, что в 88% вспышек распространение вируса происходило контактно-бытовым путем, 10% вспышек имели пищевой характер и 2% – водный [4]. Источником инфекции при пищевых вспышках во многих случаях становятся работники общественного питания [10].

**Целью** данной работы явилась идентификация и молекулярно-генетическая характеристика этиологического агента вспышки ОКИ в общеобразовательном учреждении Нижнего Новгорода, зарегистрированной в октябре 2018 года.

**Материалы и методы.** На наличие инфекционных агентов были исследованы образцы фекалий троих детей, вовлеченных во вспышку и госпитализированных в детскую

инфекционную больницу, а также образцы фекалий пяти работников пищеблока предприятия, обеспечивавшего приготовление и доставку питания в данное учебное заведение. Исследования проводили с использованием набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК (РНК) бактериальных и вирусных кишечных патогенов методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «АмплиСенс ОКИ скрин-FL» (ЦНИИЭ, Москва).

Генотипирование выявленных норовирусов осуществляли путем секвенирования кДНК участка вирусного генома размером 570 нуклеотидных оснований, включающего место соединения открытых рамок считывания для неструктурных и структурных белков и кодирующего С-терминальный участок РНК-зависимой РНК-полимеразы и N-терминальный участок S-домена капсидного белка VP1 [8]. Ампликоны очищали с помощью набора для выделения ДНК из геля (ООО «Фрактал Био», Санкт-Петербург). Первичную структуру фрагментов кДНК генома норовирусов определяли в автоматическом режиме с использованием генетического анализатора Beckman Coulter CEQ8000 и набора реагентов DTCS Quick Start Kit («Beckman Coulter», США).

Нуклеотидные последовательности фрагментов кДНК анализировали с помощью веб-сервиса для автоматического генотипирования норовирусов Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 [11] и пакета программ BLAST [5]. Выравнивание нуклеотидных последовательностей, построение филогенетических деревьев осуществляли с помощью программного обеспечения MEGA 5.2 [9]. Для сравнения использовали нуклеотидные последовательности генома норовирусов, имеющиеся в международной базе данных GenBank [7]. Филогенетический анализ проводили путем построения Байесовых филогенетических деревьев на основе алгоритма Markov chain Monte Carlo и модели замен SRD06, реализованных в программах BEAUti v1.8.1. и BEAST v1.8.1.

**Результаты и обсуждение.** В конце октября 2018 года в одной из общеобразовательных школ Нижнего Новгорода одновременно почувствовали себя плохо несколько детей из начальных классов, трое были госпитализированы с признаками острой кишечной инфекции (слабость, тошнота и рвота).

В ходе эпидемиологического расследования выявлен ряд нарушений санитарного законодательства на пищеблоке предприятия, обеспечивающего питание, введён карантин путем приостановления учебного процесса в школе, проведен необходимый комплекс противоэпидемических мероприятий.

У троих госпитализированных детей, а также у троих работников пищеблока при обследовании на спектр бактериальных и вирусных кишечных патогенов была выявлена РНК норовирусов второй геногруппы (GII). Амплификация со специфическими для геногруппы GII праймерами позволила получить пригодные для секвенирования ампликоны из образцов материала от больных детей и от двух работников пищеблока. В результате секвенирования установлены нуклеотидные последовательности участка генома норовирусов, проведено двойное генотипирование (по гену полимеразы и по гену капсидного белка). Все нуклеотидные последовательности оказались идентичными и показали принадлежность к генотипу GIIP17\_GII.17. Полученные результаты идентификации этиологического агента вспышки свидетельствуют о вероятной роли работников пищеблока в качестве источника инфекции для заболевших детей.

С использованием пакета программ BLAST выявлены родственные к исследуемым изолятам норовирусы, циркулировавшие в Китае, Японии, Европе, России (Новосибирск) в 2016–2017 гг.

Проведен филогенетический анализ на основе полученных в данном исследовании последовательностей и последовательностей генома норовирусов, обнаруженных нами при sporadic заболелваемости на территории Нижнего Новгорода, а также представленных в базе данных GenBank. Показано, что нижегородские изоляты формируют кластер, относящийся к генетическому варианту D. У вируса, вызвавшего вспышку, не выявлено

каких-либо особенностей в исследуемом участке генома по сравнению с норовирусами, циркулирующими при спорадической заболеваемости.

Норовирус генотипа GII.P17\_GII.17 привлек к себе внимание в конце 2014 года как возможный новый пандемический вариант, способный вытеснить доминирующий в мире в течение двух последних десятилетий норовирус генотипа GII.4 [6]. В настоящее время норовирусы генотипа GII.17 разделяют на четыре варианта – А, В, С и D [11]. К вариантам А и В относятся норовирусы, выявляемые в разных странах мира в единичных случаях, начиная с 70-х годов прошлого века. С возникновением в 2013 году варианта С и его распространением связан рост вспышечной заболеваемости норовирусной инфекцией в Юго-Восточной Азии в 2014–2015 годах. В 2014 году появился вариант D, который кроме азиатских стран, обнаружен в США, Канаде и Европе. В России этот генотип доминировал среди норовирусов, изолированных в очагах групповой заболеваемости в 2015 и в 2016 годах; в 2017 году наблюдалось снижение активности его циркуляции [1].

В Нижнем Новгороде норовирус генотипа GII.17 был впервые обнаружен нами в июне 2015 года и по итогам года занял четвертое место в спектре генотипов после GII.6, GII.4 и GII.2 [2]. В 2016 году норовирус генотипа GII.17 составил 20,0% от числа типированных изолятов и занял второе место после генотипа GII.4, а также был идентифицирован у лиц, пострадавших в ходе вспышки ОКИ в оздоровительном лагере [3]. В 2017 году его доля составила 13,5%. В 2018 году, как показано в данном исследовании, норовирус GII.17 стал причиной вспышки ОКИ в учебном заведении Нижнего Новгорода, при этом его доля при спорадической заболеваемости снизилась до 11,1%.

**Заключение.** В ходе проведенного расследования вспышки ОКИ в общеобразовательной школе Нижнего Новгорода в октябре 2018 года установлено, что ее этиологическим агентом явился норовирус генотипа GII.P17\_GII.17 (вариант D). По всей вероятности, источником инфекции были сотрудники пищеблока предприятия, организующего питание в школе, у которых был выявлен норовирус, идентичный по результатам определения нуклеотидной последовательности участка генома вирусу, выделенному от больных детей. Распространению вируса способствовали нарушения санитарно-эпидемического режима на предприятии. Проведенные молекулярно-генетические исследования этиологического агента использованы в комплексном анализе причин возникновения вспышки.

#### Литература:

1. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году». [Электронный ресурс]. – Режим доступа [http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/d9d/gd\\_2017\\_seb.pdf](http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/d9d/gd_2017_seb.pdf), свободный. – (дата обращения: 06.03.2019).
2. Епифанова Н.В. Зверев В.В., Новикова Н.А. Появление нового варианта норовируса генотипа GII.17 в Нижнем Новгороде в 2015 году. // Инфекционные болезни. 2016. Т. 14. № S1. С. 96.
3. Особенности циркуляции норовируса генотипа GII.P17\_GII.17 в Нижегородской области в 2016 году / Н.В. Епифанова [и др.] // В сборнике: Молекулярная диагностика 2017. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2017. С. 264–265.
4. Analysis of integrated virological and epidemiological reports of norovirus outbreaks collected within the Foodborne Viruses in Europe Network from 1 July 2001 to 30 June 2006 / A. Kroneman [et al.] // J. Clin. Microbiol. 2008. V. 46. N 9. P. 2959–2965.
5. BLAST Basic Local Alignment Search Tool <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> [Электронный ресурс]. – Режим доступа <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> свободный – (дата обращения: 06.03.2019).
6. Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era? / M. de Graaf [et al.] // Euro Surveill. 2015. V. 20. N 26. pii: 21178.
7. GenBank [Электронный ресурс]. – Режим доступа <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank> свободный – (дата обращения: 06.03.2019).

8. Genetic and epidemiologic trends of norovirus outbreaks in the United States from 2013 to 2016 demonstrated emergence of novel GII.4 recombinant viruses / J.L. Cannon [et al.] // J. Clin. Microbiol. 2017. V. 55. N7. P. 2208–2221.
9. MEGA Molecular Evolutionary Genetics Analysis [Электронный ресурс] – Режим доступа <https://www.megasoftware.net> свободный – (дата обращения: 06.03.2019).
10. Molecular epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated outbreaks of gastroenteritis in Japan / Shinkawa N. [et al.] // Intervirology. 2008. V. 51. № 6. P. 422–426.
11. Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 [Электронный ресурс]. – Режим доступа <http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool> свободный – (дата обращения: 06.03.2019).
12. Static and evolving norovirus genotypes: implications for epidemiology and immunity / G.I. Parra [et al.] // PLoS Pathog. 2017. 13(1):e1006136.

УДК: 616.9

## **РАЗРАБОТКА ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ТЕСТА ДЛЯ ПЕРВИЧНОГО СКРИНИНГА И СЕРОМОНИТОРИНГА ОРТОПОКСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

**Ерш А. В., Филатов П. В., Полтавченко А. Г.**

*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия*

**Аннотация.** Обсуждаются проблемы разработки иммунохимического теста для первичного скрининга и серомониторинга ортопоксвирусных инфекций в клинических образцах. Приведены экспериментальные данные по конструированию тест-системы на основе белковых матриц с низкой плотностью нанесения реагентов захвата и хромогенной системой детекции иммунологического сигнала.

## **DEVELOPMENT OF IMMUNOCHEMICAL TEST FOR THE PRIMARY SCREENING AND SEROMONITORING ORTHOPOXVIRUS INFECTIONS**

**Ersh A. V., Filatov P. V., Poltavchenko A. G.**

*Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology  
«Vector», Novosibirsk, Russia*

**Abstract.** The problems of creation an immunochemical test for primary screening and monitoring of orthopoxvirus infections in clinical samples has been studied. Experimental data for designing a test system based on use of protein microarray with a low density of capture immunoreagents and chromogenic system for detection of immunological signal are presented.

**Введение.** Оспа натуральная (лат. Variola vera), особо опасное инфекционное заболевание, унесшее больше человеческих жизней, чем другие инфекции или даже мировые войны. Даже в XX веке, когда ещё осуществлялась массовая вакцинация и велась интенсивная противоэпидемическая борьба с натуральной оспой, от нее погибло не менее 300 млн человек [1].

На 33-й сессии ВОЗ было официально объявлено, что оспа на планете ликвидирована, после чего массовая иммунизация прекратилась. Это привело к тому, что в настоящее время доля населения, чувствительного к ортопоксвирусам, постоянно растёт. В то же время, наличие природных резервуаров близкородственных ортопоксвирусов и многочисленные массовые случаи вызванных ими вспышек заболеваний у людей [2] свидетельствуют о потенциальной угрозе возникновения и распространения этих инфекций, что обуславливает высокую актуальность проблемы специфической профилактики и своевременной диагностики ортопоксвирусных инфекций.

Введённые в 2011 году МУ 1.3.2970-11, определяют правила организации и выполнения исследований при лабораторной диагностике натуральной оспы. К традиционным методам диагностики ортопоксвирусных инфекций относятся электронная микроскопия содержимого кожных поражений и мазков глотки; обнаружение

ортопоксвирусного антигена в обработанных пробах, выявление антител в сыворотке крови с помощью соответствующей тест-системы иммуноферментного анализа (ИФА) и ПЦР [3]. Большинство из данных подходов позволяют получить точную информацию, однако требуют строгих лабораторных условий и использования дорогостоящего оборудования, что не даёт возможности проведения диагностики в полевых условиях.

Ранее мы сообщали о разработке универсальной платформы иммунохимического теста на основе белковых матриц [4].

**Целью** нашей работы является создание чувствительного, быстрого, простого в применении и недорогого теста для первичного скрининга и серомониторинга ортопоксвирусных инфекций в формате «у постели больного».

**Материалы и методы.** В работе использовали IgG из гипериммунной по вирусу осповакцины сыворотки кролика (как реагент захвата), вакцину оспенную инактивированную (как контроль работоспособности системы) и нормальную кроличью сыворотку (как отрицательный контроль).

В качестве тестируемого образца использовали вирус осповакцины штамм ABCNJ, (предоставлен ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора), биологическая активность  $2,2 \times 10^8$  БОЕ/мл.

Применяли конъюгат на основе коллоидного золота (15-20 нм), связанного с антителами IgG к вирусу осповакцины. Получение зольей золота и процедуру нагрузки проводили по известной методике [5].

**Дот-иммуноанализ.** Основой для разработки теста является методология дот-иммуноанализа на белковых матрицах с низкой плотностью нанесения реагентов захвата, с применением конъюгатов на основе коллоидного золота, серебряного проявления и дополнительного усиления и стабилизации оптического сигнала [6]. Анализ выполняли в ячейках аналитической ванны с объёмами рабочих растворов 0,3–0,4 мл и исследуемых образцов 15 мкл в течение 60 мин при комнатной температуре. Схема анализа и описание методики приведены ранее [7].

**Результаты и обсуждение.** При конструировании теста на подложку из ПВХ сорбировали отдельными каплями по 2,5 мкл IgG из гипериммунной по вирусу осповакцины сыворотки кролика (как реагент захвата), вакцину оспенную инактивированную (как контроль работоспособности системы) и нормальную кроличью сыворотку (как отрицательный контроль).

Из тестируемого вирусного препарата готовили серии двукратных разведений и вносили их в раствор для разведения образцов в соотношении 1/20. Каждую подложку инкубировали с отдельным разведением вирусного материала и конъюгировали с использованием иммунозоля в разведении 1/100. Результатом анализа являются отчетливо различимые невооруженным глазом темные пятна в местах нанесения соответствующих реагентов захвата на белковых матрицах. В рутинной постановке анализа чувствительность выявления вирусного препарата в расчете по биологической активности составляла  $3,2 \times 10^6$  БОЕ/мл. Повышение чувствительности может быть достигнуто путем уменьшения факторов разведения иммунозоля и образца, однако оба эти приема могут негативно сказаться на специфичности метода. Так иммунозоль в высоких концентрациях может напрямую связываться с антителами захвата, формируя ложноположительный сигнал. По результатам эксперимента, определили что, двукратное увеличение концентрации иммунозоля позволяет вдвое увеличить чувствительность выявления без ущерба специфичности. Для оценки влияния фактора разведения образца на чувствительность выявления, такие же матрицы инкубировали с сериями двукратных разведений вирусного препарата. Такой прием, дает прирост чувствительности в 4 раза и не провоцирует ложноположительные сигналы на местах сорбции нормальной кроличьей сыворотки. Дополнительное улучшение чувствительности метода возможно за счет использования более чистых и функционально активных иммуноглобулинов, как в качестве реагентов захвата на подложке, так и в качестве

реагента детекции в составе иммунозоля. Перспективным развитием данной методики является уменьшение времени постановки анализа до 40 минут.

**Заключение.** Таким образом, разрабатываемые тесты, полностью укомплектованы, не требуют энергообеспечения, снабжены встроенными контролями, просты в применении, выполняются оперативно и обладают высокой чувствительностью и специфичностью. Такая тест-система может стать эффективным инструментом для первичного скрининга и серомониторинга ортопоксвирусных инфекций.

Работа сделана в рамках выполнения ГЗ-9/19 «Разработка передовых методов экспресс-диагностики ортопоксвирусных инфекций (формат «у постели больного») п. 2.4.1 отраслевой программы Роспотребнадзора.

Литература:

1. Fenner F., Henderson D.A., Arita I., Jezek Z., Ladnyi I.D. Smallpox and Its Eradication. Geneva: World Health Organization, 1988. 1460 p.
2. Shchelkunov S.N. // PLoS Path. 2013. V. 9. № 12. e1003756.
3. Методические указания МУ 1.3.2970-11 «1.3. Эпидемиология. Лабораторная диагностика натуральной оспы».
4. Ersh A.V., Poltavchenko A.G., Nikonov A.M. Multiplex malattie infettive immunodiagnostiche. Italian Science Review. 2014; 9(18). PP. 12–17. Available at URL: <http://www.ias-journal.org/archive/2014/september/Ersh.pdf>
5. Ru-Qiang L., Cui-Yan T., Kang-Cheng R. Colorimetric detection of protein microarrays based on nanogold probe coupled with silver enhancement// J. Immunol. Meth. – 2004. – V. 285. – P. 157–163.
6. Poltavchenko A.G., Zaitsev B.N., Ersh A.V., Korneev D.V., Taranov O.S., Filatov P.V., Nechitaylo O.V. The selection and optimization of the detection system for self-contained multiplexed dot-immunoassay. J. Immunoassay Immunochem., 2016, V. 37, P. 540–554.
7. Poltavchenko A.G., Nechitaylo O.V., Filatov P.V., Ersh A.V., Gureyev V.N. Multiplex method for initial complex testing of antibodies to blood transmitted diseases agents. J. Virol. Meth., 2016, V. 236, P. 231–236. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.08.003>.

УДК: 579.61

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ  
УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МИКОПЛАЗМ СРЕДИ ЖЕНЩИН  
РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА**

**Колесникова<sup>1</sup> Е. А., Бруснигина<sup>1</sup> Н. Ф., Кишоян<sup>2</sup> К. Г.**

<sup>1</sup>ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» МЗ РФ,  
Нижний Новгород, Россия

**Аннотация.** С целью оценки распространенности урогенитальных микоплазм у женщин репродуктивного возраста г. Нижнего Новгорода было обследовано 358 человек (235 – с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и 123 женщины, не имеющих жалоб и признаков урогенитальных инфекций). Частота выявления уреаплазм у женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта составила 54%, микоплазм – 14,9%, а у здоровых женщин – 28,5% и 7,3% соответственно. Определены спектры и уровни резистентности к 11 антибиотикам клинических изолятов уреаплазм и микоплазм. 84,5% уреаплазм и 63,8% микоплазм оказались устойчивыми к действию 1 и более антибактериальных препаратов. Полирезистентные культуры составили 31,5% среди уреаплазм и 30,4% среди микоплазм. Отмечена высокая доля урогенитальных микоплазм, устойчивых к джозамицину: 77,2% *Ureaplasma spp* и 62,9% *Mycoplasma hominis*. Зарегистрировано появление культур *Mycoplasma hominis*, устойчивых к гентамицину (13,0%).

**Ключевые слова:** урогенитальные микоплазмы, женщины фертильного возраста, распространенность, антибиотикорезистентность



## PREVALENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF UROGENITAL MYCOPLASMAS AMONG WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE

Kolesnikova<sup>1</sup> E. A., Brusnigina<sup>1</sup> N. F., Kishoyan<sup>2</sup> K. G.

<sup>1</sup>Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Privolzhsky Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

**Abstract.** In order to assess the prevalence of urogenital mycoplasmas in women of reproductive age in Nizhny Novgorod, 358 people were examined (235 with inflammatory diseases of the urogenital tract and 123 women without complaints). The incidence of ureaplasmas in women with inflammatory diseases of the urogenital tract was 54%, mycoplasmas – 14.9%, and in healthy women 28.5% and 7.3%, respectively. The spectrum and levels of antibiotic resistance to 11 drugs of ureaplasmas and mycoplasmas clinical isolates were determined. 84.5% of ureaplasmas and 63.8% of mycoplasmas were resistant to the action of 1 or more antibacterial drugs. 31.5% ureaplasmas and 30.4% mycoplasmas were polyresistant cultures. A high proportion of ureaplasmas and mycoplasmas resistant to josamycin was noted: 77.2% of *Ureaplasma spp* and 62.9% of *Mycoplasma hominis*. Gentamicin-resistant *Mycoplasma hominis* cultures (13.0%) have been reported.

**Key words:** urogenital mycoplasmas, women of fertile age, prevalence, antibiotic resistance

**Введение.** Современной особенностью этиологии инфекционно-воспалительных процессов органов репродукции является возрастающая роль условно-патогенных микроорганизмов, треть из которых составляют бактерии родов *Mycoplasma* и *Ureaplasma*. Особый интерес для исследователей представляют уrogenитальные микоплазмы, которые, по данным эпидемиологических исследований, часто обнаруживаются у женщин репродуктивного возраста: *Ureaplasma spp.* – 40–80%, *M. hominis* – 5–49%, *M. genitalium* – 0,7–7% [1, 2, 3, 4]. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что уrogenитальные микоплазмы могут быть причиной бесплодия у женщин и мужчин, влиять на течение и исход беременности, а также вызывать инфекционно-воспалительные заболевания у новорожденных [5, 6, 7, 8]. Длительная персистенция микоплазм и уреаплазм в организме, полиморфизм клинических проявлений и отсутствие специфических симптомов значительно осложняют клиническую диагностику инфекций, ассоциированных с уrogenитальными микоплазмами. Серьезной проблемой является возрастающие темпы роста резистентности уrogenитальных микоплазм к лекарственным препаратам, широко применяемым при лечении воспалительных заболеваний органов уrogenитального тракта [3, 9].

**Целью** исследования являлась оценка распространенности *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* и *Mycoplasma hominis* у женщин репродуктивного возраста г. Нижнего Новгорода и характеристика их резистентности к антибактериальным препаратам.

**Материалы и методы.** Обследовано 235 женщин в возрасте от 17 до 45 лет с воспалительными заболеваниями органов уrogenитального тракта (кольпит, вагинит, аднексит, цервицит, сальпингит, эндометрит), наблюдающихся в ГБУЗ НО «Женская консультация № 1» г. Нижнего Новгорода. Группой сравнения являлись женщины (123) – здоровые и бессимптомные носители, не имеющие жалоб, обратившиеся в женскую консультацию с профилактической целью. Материалом для исследования служили соскобы эпителия цервикального канала и вагины. Индикацию, идентификацию, определение этиологически значимых титров ( $\geq 10^4$  КОЕ/мл), антибиотикограммы *Mycoplasma hominis* и уреаплазм (*Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*) осуществляли микробиологическим методом с использованием коммерческих жидких дифференциально-диагностических сред производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03366). Изучали чувствительность клинических изолятов уrogenитальных микоплазм к 11 антибиотикам: доксицилину, эритромицину, рокситромицину, офлоксацину, ципрофлоксацину, клиндамицину, джозамицину, кларитромицину, гентамицину, азитромицину, медакамицину.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования показали широкое распространение у женщин репродуктивного возраста *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* и *Mycoplasma hominis* в этиологически значимом титре, что согласуется с данными литературы [2, 4, 9, 10]. Частота выявления уреаплазм у женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта составила 54,0%, микоплазм – 14,9%, а у здоровых женщин 28,5% и 7,3% соответственно. Следует отметить, что показатели частоты выявления урогенитальных микоплазм у женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта были достоверно выше, чем в группе сравнения. Наиболее ярко это выражено при вагините, кольпите, аднексите, сальпингите. Преобладало моноинфицирование, обусловленное *Ureaplasma urealyticum* или *Ureaplasma parvum* (74,8% из общего числа инфицированных). Смешанная инфекция, обусловленная одновременным присутствием *Ureaplasma urealyticum* или *Ureaplasma parvum* и *Mycoplasma hominis*, обнаружена у 6,3% женщин. Концентрации уреаплазм и микоплазм, содержащихся в исследуемом материале, были высокими и варьировали от  $10^4$  до  $10^6$  КОЕ/мл, что в соответствии с клиническими рекомендациями Российского общества дерматовенерологов и косметологов по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем [11] требует назначения этиотропного лечения.

С целью выбора эффективных антибактериальных препаратов были изучены спектры и уровни резистентности к антибиотикам, выделенных культур уреаплазм и микоплазм. 84,5% уреаплазм и 63,8% микоплазм оказались устойчивыми к действию 1 и более антибактериальных препаратов. Полирезистентные культуры составили 31,5% среди уреаплазм и 30,4% среди микоплазм. Отмечена высокая доля уреаплазм, устойчивых к джозамицину (77,2%), ципрофлоксацину (63,8%), офлоксацину (22,8%), эритромицину (14,2%). Доля *Mycoplasma hominis*, устойчивых к джозамицину, составила 62,9%, к доксициклину – 17,4%, к макропену – 21,7%, офлоксацину – 13,0%. Зарегистрировано появление культур микоплазм, устойчивых к гентамицину (13,0%).

Анализ спектров резистентности уреаплазм показал, что наибольшее количество антибиотикорезистентных культур (49%) характеризовалось устойчивостью к двум препаратам, из которых 39,6% были одновременно устойчивы к ципрофлоксацину и джозамицину. Спектры антибиотикорезистентности *Mycoplasma hominis* были менее разнообразными, чем уреаплазм. Выявлено 10 вариантов комбинаций устойчивости у уреаплазм и 5 – у микоплазм. При определении уровней резистентности уреаплазм к антибиотикам установлено, что минимальные подавляющие концентрации (МПК) доксициклина, мидекамицина, азитромицина составили 2–4 мкг/мл, ципрофлоксацина – 2–16 мкг/мл, офлоксацина – 1–4 мкг/мл, рокситромицина – 4 мкг/мл, джозамицина – 1–2 мкг/мл, эритромицина – 4–8 мкг/мл, кларитромицина – 1–2 мкг/мл. У микоплазм минимальные подавляющие концентрации доксициклина варьировали от 0,5 до 4, 0 мкг/мл, джозамицина от 0,5 до 1,0 мкг/мл, клиндамицина от 0,2 до 0,5 мкг/мл, ципрофлоксацина и офлоксацина от 1,0 до 2, 0 мкг/мл, гентамицина и мидекамицина от 2 до 4 мкг/мл.

**Заключение.** Таким образом, показана широкая распространенность урогенитальных микоплазм у женщин фертильного возраста г. Нижнего Новгорода, что подтверждает целесообразность скрининговых исследований женщин репродуктивного возраста на инфицированность бактериями родов *Ureaplasma* и *Mycoplasma*. Регулярный мониторинг антибиотикорезистентности урогенитальных микоплазм необходим для выбора рациональной антимикробной терапии воспалительных заболеваний органов урогенитального тракта и способствует сохранению репродуктивного здоровья населения.

#### Литература:

1. Прилепская В.Н. К вопросу о роли микоплазм в урогенитальной патологии / В.Н. Прилепская, В.И. Кисина, Е.В. Соколовский, В.А. Гомберг // Ж. Гинекология. – 2007. – Т. 9. – № 1. – С. 20–27.
2. Фофанова И.Ю. Современные представления об урогенитальной микоплазменной инфекции / И.Ю. Фофанова, В.Н. Прилепская // Гинекология. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 4–8.

3. Lee M.Y. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in Pregnant Women / M.Y. Lee, M.H. Kim, W. In Lee, So Y. Kang, Y. La Jeon // *Yonsei Med J.* – 2016. – Vol. 5, № 57. – P. 1271–1275.
4. Зотова М.А. Выявление генитальных микоплазм у женщин репродуктивного возраста / М.А. Зотова, С.С. Тихонова, А.И. Лебедева, К.В. Багаев // *Вестник Челябинского государственного университета. Биология.* – 2013. – № 7. – С. 298–298.
5. Герасимова Н.А. К вопросу о дискордантных результатах выявления *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma spp.* молекулярно-биологическим и культуральным методами у пациентов с урогенитальными заболеваниями / Н.А. Герасимова, Н.П. Евстигнеева, Н.В. Зильберберг, А.Е. Гущин // *Фундаментальные исследования.* – 2014. – № 10. – С. 487–496.
6. Савичева А.М. Современные представления о генитальных микоплазмах / А.М. Савичева // *Мать и дитя.* – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 183–186.
7. Савичева А.М. Инфекции матери, плода и новорожденного / А.М. Савичева // *Педиатр.* – 2014. – Т. 5, № 3. – С. 1–8.
8. Белова А.В. Генитальные микоплазмы (*Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*) в развитии осложнений беременности, родов и послеродового периода / А.В. Белова, О.Р. Асцатурова, Л.С. Александров, А.П. Никонов, Т.А. Иванова, А.Е. Гущин // *Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева.* – 2014. – Т. 2. № 1. – С. 26–31.
9. Херувимова Е.С. Изучение уровня чувствительности урогенитальных микоплазм к действию антибактериальных препаратов различной природы / Е.С. Херувимова, В.Г. Артюхов, С.Г. Резван // *Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация.* – 2010. – № 2. – С. 115–119.
10. Лысенко О.В. Распространенность воспалительных заболеваний мочеполовых органов, ассоциированных с генитальными микоплазмами. Эффективность лечения / О.В. Лысенко, Т.В. Кузнеченкова, В.А. Игликов, В.П. Дерябина // *Вестник дерматологии и венерологии.* – 2010. – № 2. – С. 83–88.
11. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Деловой экспресс, 2016. – 768 с.

УДК: 579.841.95:579.253:577.21.08

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ  
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ И ДРУГИМИ МЕТОДАМИ.  
ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ТУЛЯРЕМИИ**

**Кудрявцева Т. Ю., Мокриевич А. Н.**

*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»,  
Оболенск, Россия*

**Аннотация.** Клиническая диагностика туляремии является трудной задачей из-за наличия неспецифических симптомов, характерных для других инфекционных заболеваний, особенно в ранний период процесса болезни, из-за некультивируемого состояния микроба в воде, членистоногих и других объектах окружающей среды, а также из-за малой обсемененности возбудителем органов и биологических жидкостей при заболевании. В данной работе мы анализировали особенности, преимущества, недостатки существующих в настоящее время отечественных методов индикации и идентификации возбудителя туляремии. Показаны возможности оптимизации молекулярно-генетических методов для типирования изолятов возбудителя туляремии, которые обладают максимальной достигнутой к настоящему времени аналитической и диагностической чувствительностью и специфичностью. Перечислены наборы для выявления возбудителя туляремии методом ПЦР с использованием специфических маркеров вида, групповых маркеров эпидемически значимых подвидов и методы внутривидового анализа штаммов.

# IDENTIFICATION OF THE CAUSATIVE AGENT OF TULAREMIA BY MOLECULAR GENETIC AND OTHER METHODS. FEATURES OF TULAREMIA DIAGNOSIS

Kudryavtseva T. Yu., Mokrievich A. N.

*State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia*

**Abstract.** Clinical diagnosis of tularemia is a difficult task due to the presence of nonspecific symptoms characteristic of other infectious diseases, especially in the early period of the disease, due to the non-cultivated state of the microbe in water, arthropods and other environmental objects, as well as due to low contamination by the pathogen organs and bodily fluids in case of illness. In this paper, we analyzed the features, advantages, and disadvantages of the currently existing domestic methods for indicating and identifying the causative agent of tularemia. The possibilities of optimizing molecular genetic methods for the typing of isolates of the causative agent of tularemia, which have the highest analytical and diagnostic sensitivity and specificity achieved so far, are shown. Lists kits for identifying the causative agent of tularemia by PCR using specific markers of the species, group markers of epidemically-significant subspecies and methods of intraspecific analysis of strains.

**Введение.** Для обнаружения возбудителя туляремии в образцах клинического, биологического материала и пробах из окружающей среды используют в данное время иммуно-серологические, бактериологический, биологический и молекулярно-генетические методы. В основном, в настоящее время диагноз «туляремия» у больных устанавливают на основе клинико-эпидемиологических данных, подтвержденных лабораторными иммуно-серологическими методами, так как серологические исследования являются в настоящее время наиболее доступными для клинических лабораторий.

Однако до сих пор клиническая диагностика туляремии является трудной задачей из-за наличия неспецифических симптомов, характерных для других инфекционных заболеваний, особенно в ранний период заболевания. Человек элементарно заражается при нарушении санитарно-гигиенических правил или невозможности их соблюдения – от инфицированной мышевидными грызунами воды и продуктов, укуса кровососущего членистоногого или контакта с зайцами. Диагноз «туляремия» устанавливается в первые дни обращения за медицинской помощью не более чем у 40% больных [1].

Так как туляремия является природно-очаговым зоонозом, данные эпизоотологического обследования ближайшего природного очага, а именно, выявленные заболевшие дикие животные, собранные с них клещи и комары или пробы воды, контаминированные возбудителем, существенно помогли бы установлению диагноза. Однако чаще всего, наоборот, именно заболевшие люди являются индикаторами эпизоотической активности природного очага туляремии.

При подозрении на заболевание туляремией людей и домашних животных исследуют содержимое бубона, материал из зева, конъюнктивы глаза, отделяемое язвы, мокроту, кровь и сыворотку крови; от умерших животных и людей – биоптаты легких, трахеи, содержимое увеличенных лимфатических узлов.

При эпизоотологических обследованиях очагов исследуют: материал от диких млекопитающих или их трупов; эктопаразитов (вшей, иксодовых, гамазовых и краснотелковых клещей, блох), собранных с мелких млекопитающих; при трансмиссивных вспышках туляремии исследуют кровососущих двукрылых (комаров, москитов, слепней и др.); продукты жизнедеятельности млекопитающих, погадки птиц, помет хищных млекопитающих, подснежные гнезда грызунов; пробы воды из различных водоемов – рек, ручьев, прудов, озер, болот, колодцев и т. п.; объекты, загрязненные выделениями грызунов – солому, мякину, зерно, продукты.

Выдача окончательного положительного диагноза проводится на основании выделения чистой культуры туляремийного микроба из посевов нативного материала, его идентификации по морфологическим, культуральным свойствам, положительных

результатов иммуно-серологических реакций, наличие специфической ДНК возбудителя, а также на основании выделения идентичных культур от павших или эвтаназированных лабораторных животных [2].

В данной работе мы анализировали особенности, преимущества, недостатки и возможную оптимизацию существующих в настоящее время отечественных методов индикации и идентификации возбудителя туляремии.

**Материалы и методы.** В работе использованы штаммы туляремийного микроба различного географического происхождения, находящиеся в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk». Штаммы были получены из ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Почетного академика Н.Ф. Гамалеи», ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт», ФКУЗ «Иркутский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», 40 изолятов выделено на территории Алтайского края с 2011 года и поступили из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае» и ФКУЗ «Алтайская противочумная станция».

Все штаммы выращивали на питательной среде для культивирования и выделения туляремийного микроба («FT-агар» ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk) с добавлением полимиксина В (100 мкг/мл) и инкубировали в течение 48 ч при температуре 37°C. Из каждой культуры выделяли ДНК с использованием коммерческого набора «Рибо-сорб» (Интерлабсервис, Россия) согласно инструкции производителя.

Описание метода и последовательность используемых праймеров и параметры проведения ПЦР приведены в работах [3-7, 25, 26, 27]. Амплификацию проводили в термоциклере «Applied Biosystem 2700» и амплификаторе «CFX96» BIO-RAD (США). Для электрофореза ДНК в 3% агарозном геле при градиенте напряжения 9,0 В/см в течение 5 часов использовали горизонтальную камеру MultiSUB Screen (Clever Scientific) и источник тока Эльф-4 («ДНК-Технология»). Размер ампликонов вычисляли с помощью программы PhotoCaptMw (Vilber Lourmat) по положению полос в геле относительно молекулярных маркеров (BIO-RAD, 170-53810). Размер ампликонов с локусами Ft-M1 и Ft-M25 определяли секвенированием. Кластерный анализ проводили методом UPGMA [10].

**Результаты и обсуждение.** Все используемые в настоящее время методы диагностики туляремии имеют свои особенности для данного возбудителя, преимущества и недостатки.

#### Особенности методов, основанных на принципе антиген-антитело.

В иммунодиагностике туляремии используют ряд методов: реакцию лейкоцитоллиза, реакцию агглютинации, реакцию непрямой гемагглютинации, реакцию торможения непрямой гемагглютинации, иммунофлуоресцентный метод, реакцию нейтрализации антител, реакцию нейтрализации антигена, магноиммосорбенты, реакцию латекс-агглютинации, иммунохроматографический тест, иммуноферментный анализ и внутрикожную пробу с тулярином. В ранние сроки заболевания можно использовать иммуноферментный анализ и реакцию лейкоцитоллиза (положительна к 3–4 дню).

Заболевают, в основном, не иммунизированные туляремийной вакциной люди. Серологическая диагностика, подтверждающая случай заболевания, основана на выявлении увеличения титра специфических антител у больных, которые начинают вырабатываться в организме не ранее 10–15 суток от начала заболевания. Парные сыворотки крови больного крайне важны для ретроспективной диагностики туляремии. Нарастание титров антител выше диагностических подтверждает свежий случай туляремии.

Однако в условиях вакцинации части населения, проживающего на территории природного очага, и индивидуального иммунного статуса каждого человека, иногда крайне сложно выявить туляремию серологическими методами.

Серологическая диагностика туляремии у человека и животных основана на выявлении специфических туляремийных антител против эпитопов ЛПС. При этом показано, что структура и антигенная специфичность ЛПС всех трех основных эпидемически значимых подвигов *F. tularensis – tularensis, holarctica, mediasiatica* – идентична [8].

Туляремийный микроб имеет близкие по строению олигосахаридные цепи ЛПС с рядом других граммотрицательных бактерий, таких как *Y. enterocolitica* 0:9, *E. coli* 0:157, *V. cholerae*, *Brucella* [9].

Чувствительность иммуно-серологических тестов, в большинстве случаев, не превышает  $10^6$  кл/мл.

#### Особенности бактериологического и биологического методов.

Бактериологический и биологический методы применяют для выделения культуры возбудителя. Из-за малой обсемененности возбудителем органов и биологических жидкостей при заболевании туляремией редко удаётся выделить культуру *F. tularensis* из крови, пунктата воспалившегося лимфатического узла, отделяемого кожной язвы, конъюнктивы глаза или носоглотки больного [10, 11]. Однако этот шанс никогда нельзя упускать. Изолированные колонии на специальных питательных средах для культивирования и выделения туляремийного микроба образуются только через двое-трое суток инкубации посевов. Туляремийный микроб обладает устойчивостью ко многим видам антибиотиков. Значительная часть культур *F. tularensis* subsp. *holarctica*, выделяемых на территории Российской Федерации, представлена эритромицин устойчивыми штаммами. Микроб обладает бета-лактамазной активностью, а бета-лактаманное кольцо содержат антибиотики из групп пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и монобактамов. Для подавления роста посторонней микрофлоры в среду выращивания добавляют антибиотики, к которым возбудитель туляремии устойчив: пенициллин (100 ед./мл), ампициллин (100 ед./мл), полимиксин В (50–100 мкг/мл), кефзол (или цефалексин), амфотерицин В (или амфоглюкамин), ристомицина сульфат и некоторые другие антибактериальные препараты [2].

Выделить культуру из клещей, комаров и других насекомых, из погадок птиц и помета грызунов, а также из воды и других объектов окружающей среды, высеваем на любые питательные среды не удастся. Клетки возбудителя туляремии могут длительное время находиться в окружающей среде в неактивном состоянии практически без репликации, и переходить в инфекционное, жизнеспособное, но не культивируемое состояние. Многие исследователи регулярно обнаруживали ДНК или клетки штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* в пробах воды и ила с помощью ПЦР или путем заражения чувствительного лабораторного животного инфицированной водой, но не смогли культивировать на искусственных питательных средах эти пробы, в отличие от штаммов *F. tularensis* subsp. *novicida* и *F. philomiragia* [12-15].

#### Особенности молекулярно-генетических методов.

Полимеразно-цепная реакция (ПЦР) является молекулярно-генетическим методом прямого обнаружения ДНК туляремийного микроба. Генетическая вариабельность подвидов, субпопуляций и отдельных штаммов микроорганизмов связана с утратой или приобретением новых генов, наличием крупных хромосомных перестроек (перемещений или инверсий), существованием мелких вставок или делеций, а также различий в структуре элементов вставок (IS element), наличием в геноме полиморфизма единичных нуклеотидных замен (SNP), изменения числа копий повторяющихся последовательностей ДНК и т. д.

Для анализа ПЦР подходят как чистые культуры, так и смеси, убитая культура, различные клинические образцы и биологические жидкости, останки животных, суспензии тканей и органов животных, выделенная ДНК, клещи, насекомые, вода естественных водоёмов и колодезев, ил, солома, погадки птиц, помет и другие зараженные объекты окружающей среды. При этом содержание неспецифичной ДНК может превышать содержание искомой последовательности в десятки тысяч раз.

Для исследования методами ПЦР подходят также клинические образцы на фоне антибиотикотерапии.

ПЦР обладает высокой специфичностью, так как реакция идет только в случае гибридизации последовательности праймера с комплементарной матричной ДНК возбудителя туляремии. Специфичность ПЦР можно повысить, используя вторую, третью...

пару праймеров к той же последовательности ДНК или проводя аналогичную ПЦР с праймерами к другим последовательностям ДНК возбудителя.

Использование методологии мультиплексной ПЦР позволяет за счет одновременной амплификации нескольких ДНК-мишеней одновременно охарактеризовать возбудитель по ряду признаков (вирулентность, эпидемическая значимость, таксономическое положение).

Методы, основанные на традиционной ПЦР, включают последующий электрофорез, окрашивание и визуализацию. Чувствительность ПЦР, в данном случае, ограничена объемом матричной ДНК (обычно 5 мкл), количеством окрашенного ампликона и его визуальной регистрацией.

При использовании ПЦР в реальном времени специфичность повышается за счет гибридизации с матричной ДНК возбудителя, кроме внешних праймеров, внутреннего комплементарного флуоресцентного зонда. Метод позволяет количественно оценивать содержание возбудителя в образцах и проводить анализ в режиме закрытой пробирки, что значительно снижает риск контаминации, а отсутствие постаmplификационных манипуляций существенно сокращает трудоемкость исследований.

Разработан вариант полимеразно-цепной реакции, которая осуществляется при постоянной температуре, так называемая петлевая изотермическая амплификация (*LAMP – loop-mediated isothermal amplification*), которая не требует наличия дорогостоящего амплификатора [16].

Чувствительность молекулярно-генетических методов, как минимум, на три порядка выше иммуно-серологических.

Недостатками метода является возможность нарушения детектируемой олигонуклеотидной последовательности или её отсутствие в отдельных штаммах вида, а также наличие подобной последовательности в тканях животного или в других видах микроорганизмов. Часто метод требует выделения ДНК и всегда есть возможность контаминации проб фрагментами ДНК из внешней среды.

Ограничением метода является объем образца, как правило, не превышающий 5–10 микролитров, в котором должен содержаться хотя бы один геномный эквивалент возбудителя инфекции в качестве матрицы, что означает минимальное содержание 100–200 клеток в миллилитре образца.

Если другие возбудители особо опасных инфекций имеют внутри рода генетических предков (род *Yersinia*) или близкородственные виды (род *Bacillus*) для сравнения и поиска уникальных последовательностей вида, то для возбудителя туляремии приходится сравнивать геном с другими внутриклеточными паразитами весьма генетически отдаленных родов и семейств (*Brucella*, *Legionella*...), которые, тем не менее, показывают генетическую идентичность отдельных последовательностей и похожи друг на друга медленным ростом на искусственных питательных средах с антибиотиками [17].

Для повышения чувствительности метода можно выбрать нуклеотидную последовательность, содержащуюся в геноме во множестве копий. Для туляремиального микроба это может быть последовательность повторяющегося элемента вставки *ISFtu1* и *ISFtu2*, содержание которых составляет до 66 и 57 копий в геноме *F. tularensis* subsp. *holarctica*, или *iglC* гена, содержащегося в геноме в двух копиях [18]. Чувствительность метода можно также повысить, используя последовательные амплификации генов.

Диагностика возбудителя туляремии молекулярно-генетическими методами ведется по нескольким направлениям:

1. Выявление ДНК возбудителя туляремии в клинических образцах и пробах окружающей среды.
2. Определение подвижной принадлежности туляремиального микроба.
3. Определение внутривидовых особенностей и клональности происхождения штаммов возбудителя туляремии, выделенных во время одного эпидемического процесса или при эпизоотологическом обследовании очага туляремии.

4. Изучение разнообразия и определение филогеографических характеристик штаммов *F. tularensis*.

Выявление ДНК возбудителя туляремии.

Для выявления ДНК возбудителя туляремии в клинических образцах и пробах окружающей среды используют специфическую ПЦР, при которой амплифицируются видо-, группо- или штаммо-специфичные фрагменты ДНК. В настоящее время используют амплификацию генов *iglABCD*, *fopA*, *tul4*, *ISFtu2* или ряд других родо- и видоспецифичных генов туляремийного микроба [19].

С целью обнаружения ДНК туляремийного микроба в клинических образцах и пробах окружающей среды в ФБУН ГНЦ ПМБ был разработан набор реагентов для выявления ДНК возбудителей чумы, сибирской язвы и туляремии методом ПЦР в режиме реального времени «MULTI-FLU» – ТУ 9398-157-78095326-2012, Рег. № РЗН 2013/1359, дата регистрации 23.01.2014 [6]. Маркеры *Y. pestis*, *B. anthracis* и *F. tularensis*, были собраны в один набор, так как данные возбудители особо опасных инфекций имеют общие клинические признаки острого респираторного заболевания на начальном этапе, что обуславливает необходимость различать заболевания и как можно быстрее диагностировать патогены для применения эффективных методов лечения и предотвращения эпидемических вспышек. Данный набор выявляет эпидемически значимые подвиды возбудителя туляремии (*F. tularensis* subsp. *tularensis*, *F. tularensis* subsp. *holarctica* и *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*), так как выбран ген элемента вставки *ISFtu5*, имеющийся только у данных подвидов и отсутствующий у подвида *F. tularensis* subsp. *novicida* [18].

К настоящему времени существует ещё четыре коммерческих набора реагентов для выявления ДНК *F. tularensis* методом ПЦР как с электрофоретическим, так и с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов [20]:

- набор реагентов для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов (Ген *Francisella tularensis* – РЭФ) ФСР 2011/12108, ТУ 9398-036-01898109-2011. ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»;

- набор реагентов для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени (Ген *Francisella tularensis* – РФФ). ФСР № 2011/12107, ТУ 9398-035-01898109-2011. ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»;

- набор реагентов для выявления ДНК возбудителя туляремии (*F. tularensis*) позволяет дифференцировать подвид *F. tularensis* subsp. *holarctica* от остальных 3 подвидов: кат. № ООМ-126 «ОМ-Скрин-туляремия-РВ» («Синтол», Москва, Россия);

- комплект реагентов для проведения ПЦР амплификации ДНК возбудителя туляремии. Формат «Flash» по конечной точке на 50 определений на ПЦР-детекторе «Джин» («ДНК-технология», Москва, Россия).

В экспериментах «*ex vivo*» было показано, что вирулентный штамм *F. tularensis* может быть обнаружен в плазме, лейкоцитах и эритроцитах крови человека [21, 22]. Сообщается о возможности выявить низкие концентрации туляремийной ДНК в сыворотках крови больных как в ранний период, когда не выявляются специфические антитела, так и через 3–4 недели от начала заболевания, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием оригинальных праймеров к генам *ISFtu2* и *tul4* [23]. Также ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени позволяет определять специфическую ДНК *F. tularensis* в общей суспензии органов серопозитивных и серонегативных мышей, в присутствии превосходящей во много раз мышинной ДНК [24].

Использование метода ПЦР в режиме «реального времени» для ранней диагностики туляремии позволит расширить диагностические возможности клинической практики.

Определение подвида туляремийного микроба.

Все четыре подвида туляремийного микроба различаются по вирулентности, а следовательно, и по эпидемической значимости и инициируют в реакции амплификации продукцию специфических для каждого подвида ампликонов, ограниченных



повторяющимися chi-последовательностями [3, 5]. Chi 1f праймер содержит последовательность chi-сайта *Escherichia coli* – 5'GCTGGTGG 3' и фланкирующие нуклеотиды: 5'CTAGG-GCTGGTGG-G 3'. Подвид исследуемого штамма *F. tularensis* выявляется сравнительным анализом индивидуальных электрофоретических профилей ампликонов, полученных в реакции ПЦР с Chi 1f праймером. Для дифференцирования исследуемых штаммов *F. tularensis* на подвиды используют данные о наличии ампликонов: (190 п.н., 500 п.н. и 950 п.н.) – у подвида *tularensis*, (190 п.н. и 570 п.н.) – у подвида *holarctica*, (190 п.н. и 950 п.н.) – у подвида *mediasiatica* и отсутствию всех данных ампликонов у подвида *novicida*.

С помощью данного метода было показано, что на территории Алтая циркулируют штаммы ещё одного вирулентного для человека и животных подвида – *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* [25]. На протяжении длительного времени на территории России выделяли только один вирулентный для человека подвид возбудителя туляремии – *F. tularensis* subsp. *holarctica*. С 2011 по 2018 годы на территории Алтайского края и Республики Алтай выделено и идентифицировано в референс-центре по мониторингу за туляремией ФБУН ГНЦ ПМБ уже 40 изолятов среднеазиатского подвида [26].

Для определения подвида туляремийного микроба могут быть применены данные о количестве tandemных повторов в MLVA локусах (Ft-M1, Ft-M9, Ft-M10, Ft-M16, Ft-M19, Ft-M20) (таблица) [7, 4].

**Таблица.** Дифференциация подвидов штаммов возбудителя туляремии по данным 6 локусов мультилокусного анализа вариабельных tandemных повторов (MLVA)

Подвид <i>F. tularensis</i>	Количество повторов локусов					
	Ft-M1	Ft-M9	Ft-M10	Ft-M16	Ft-M19	Ft-M20
<i>subsp. tularensis</i>	3	<b>3–4</b>	7–18	<b>2</b>	2	0–3
<i>subsp. holarctica</i>	3	2	1	1	<b>0</b>	3
<i>subsp. holarctica</i> var. <i>japonica</i>	3	2	<b>6–9</b>	1	<b>0</b>	<b>9–11</b>
<i>subsp. mediasiatica</i>	<b>4</b>	2	1	1	2	6–12
<i>subsp. novicida</i>	3	<b>0</b>	1	1	1–2	<b>30</b>

#### Определение клоальности происхождения штаммов возбудителя туляремии.

Способностью различать близкие генотипы внутри штаммов одного подвида туляремийного микроба обладает метод мультилокусного анализа вариабельных tandemных повторов (MLVA) по 25 локусам [4, 7].

Во время трансмиссивной эпидемической вспышки туляремии в 2013 году в Ханты-Мансийском автономном округе было зарегистрировано 1005 заболевших. Высевы содержимого пустиль пяти тяжелобольных на FT-агаре с полимиксином, дали типичный рост туляремийного микроба (X-3, X-4, X-7, X-8 и X-10). Также в первые дни эпидемии на разных территориях очага были выделены 4 культуры *F. tularensis* из трёх красных полёвок X-23/1, X-23/3, X-25/1 и бурозубки X-26/2 [4, 11].

Анализ выделенных штаммов методом MLVA показал, что все девять выделенных штаммов были генетически идентичны по 24 VNTR локусам, отличаясь между собой лишь по гипервариабельному локусу FtM-3. Различия в длине данного локуса показало циркуляцию в очаге, как минимум, четырёх индивидуальных генотипов с разным количеством повторов в локусе – 9 (X-3), 10 (X-10), 15 (X-4, X-7, X-8, X-26/2) и 17 (X-23/1, X-23/3, X-25/1). Это может говорить о том, что заражение людей происходило от нескольких независимых локальных источников инфекции, каждый из которых имеет свой путь

распространения. Среди красных полёвок, отловленных в различных регионах очага, циркулировал свой штамм с максимальным количеством повторов. Большая часть людей заражена штаммом, идентичным изолированному от бурозубки в окрестностях протоки Щучья, а также индивидуальными штаммами со сниженным количеством повторов. Из проб воды, комаров и клещей во время данной вспышки выявить ДНК возбудителя туляремии не удалось, хотя возможно, что каждый данный источник эпидемической опасности мог иметь свойственные ему генетические особенности.

#### Определение разнообразия и филогеографических характеристик штаммов.

***F. tularensis.*** Для определения генетического родства выделенных изолятов возбудителя туляремии со штаммами из других регионов на основании данных, полученных методом MLVA по 25 локусам строится филогенетическое дерево, которое наглядно сравнивает штаммы, показывает однородность или разнообразие внутри популяции штаммов, выделенных на конкретной территории, объединяет штаммы в кластеры, и в отдельных случаях показывает идентичность генотипов.

В настоящее время Государственная коллекция патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» ФБУН ГНЦ ПМБ, содержит более 300 штаммов *F. tularensis* из разных регионов.

MLVA-типирование 160 штаммов *F. tularensis* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» ФБУН ГНЦ ПМБ выявило 127 индивидуальных генотипов [4, 27]. Из 140 штаммов *F. tularensis* голарктического подвида было выделено 108 индивидуальных генотипов. Внутри данного подвида четко обособлены в отдельный кластер пять штаммов японского биоара. Это говорит о высокой разрешающей способности метода.

Выделенные во время эпидемии в Ханты-Мансийском автономном округе штаммы туляремийного микроба формируют отдельный кластер и имеют, по данным MLVA-типирования, наибольшее эволюционное сродство к штаммам, циркулирующим на территории Казахстана и Челябинской области, а также отличаются от штаммов, типичных для сибирских очагов туляремии.

При анализе многочисленных штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* разрешающая способность данного метода сохраняется при использовании минимального набора из 17 локусов (Ft-M2 – Ft-M8, Ft-M10, Ft-M12, Ft-M13, Ft-M17, Ft-M18, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22, Ft-M24, Ft-M25) [4, 27].

Впервые выделенные на территории Алтайского края три штамма подвида *mediasiatica* показали близкие генотипы у двух штаммов (№ 554 и № 678), выделенных из разных видов клещей на различных территориях края, и отличный по трём локусам штамм (№ 823), выделенный из сибирской красной полёвки. Причём штамм из полёвки отличался заметным ростом количества повторов в локусе FtM-3 с 46–47 до 63 повторов. В настоящее время коллекция патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» ФБУН ГНЦ ПМБ насчитывает уже около 40 штаммов подвида *mediasiatica*, причём штаммы из Средней Азии и алтайские штаммы формируют разные группы, что может говорить о появлении или исходном существовании в регионе Алтая генетически обособленной популяции *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* [25, 26, 27].

Проведено полногеномное секвенирование восьми штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica*, выделенных во время эпидемии туляремии в Ханты-Мансийске в 2013 году, и штаммов *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, выделенных в Алтайском крае в 2011 г. [28].

**Заключение.** Таким образом, к настоящему времени для диагностики туляремии найдены специфические маркеры вида, подвигов, групповые маркеры эпидемически значимых подвигов и разработаны на их основе наборы для выявления возбудителя методом ПЦР, в том числе ПЦР в реальном времени.

Применяется метод MLVA и праймеры для дискриминации близких генотипов внутри штаммов одного подвида туляремийного микроба. Для проведения эпидемиологического расследования иногда достаточно одного VNTR (variable-number tandem repeat) маркера,

гипервариабельного локуса FtM-3, количество повторов в котором – это единственное отличие, выделенных штаммов при расследовании эпидемической вспышки.

Использование метода MLVA позволяет с высокой точностью генотипировать изоляты, так как секвенирование генома штамма остаётся пока ещё дорогостоящей процедурой.

Методы амплификации нуклеиновых кислот обладают максимальной достигнутой к настоящему времени аналитической и диагностической чувствительностью и специфичностью. Однако доступность их в клиниках недостаточная. Кроме того, одними молекулярно-генетическими методами нельзя ограничить диагностику туляремии, так как ложно-положительные и ложно-отрицательные результаты исключить невозможно хотя бы потому, что большое количество опубликованных данных оценивает очень ограниченное число изолятов возбудителя особо опасной инфекции, что недостаточно для объективности анализа.

#### Литература:

1. Демидова Т.Н., Попов В.П., Полухина А.Н., Орлов Д.С., Мещерякова И.С., Михайлова Т.В. Эпизоотическое и эпидемическое проявление природных очагов туляремии на территории Московской области (1965–2013 гг.). ЖМЭИ 2015: № 2: 24–31.
2. Методические указания. МУК 4.2.2939-11 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней». М.: Роспотребнадзор. – 2011. – 49 с.
3. Вахрамеева Г.М., Лапин А.А., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Миронова Р.И., Дятлов И.А. ПЦР дифференциация подвидов *Francisella tularensis* с помощью одного праймера // Проблемы особо опасных инфекций. – 2011. – № 107. – С. 46.
4. Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н., Павлов В.М., Дятлов И.А.. Молекулярное типирование штаммов *Francisella tularensis* методом мультилокусного анализа вариабельности числа тандемных повторов // Мол. генет., микробиол. и вирусол. – 2014. – № 1. – С. 8–15.
5. Пат. 2478717 Российская Федерация, С12Q1/68, С12N15/31. Способ дифференцирования подвидов туляремийного микроба / Вахрамеева Г.М., Лапин А.А., Тимофеев В.С., Мокриевич А.Н., Кудрявцева Т.Ю., Павлов В.М.; опубл. 10.04.2013.
6. Мокриевич А.Н., Кудрявцева Т.Ю., Варламов Д.А., Сочивко Д.Г., Дятлов И.А. Патент. RU № 2542395. Опубликовано 20.02.2015 – Бюл № 5. Набор реагентов и способ выявления ДНК возбудителей чумы, сибирской язвы и туляремии методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов «MULTI-FLU». № РЗН.
7. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Bystrom M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., and P. Keim. Worldwide genetic relationships among *Francisella tularensis* isolates determined by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. // J. Bacteriol. – 2004. – V. 186 – P. 5808–5818.
8. Vinogradov, E. Structural analysis of *Francisella tularensis* lipopolysaccharide/ E. Vinogradov, M.V. Perry, J.W. Conlan // Eur. J. Biochem. – 2002. – V. 269 – P. 6112–6118.
9. Ляпина Е.П и др. Хронический бруцеллёз: этиология, патогенез, клиника, лечение. – Саратов, 2011, – 160 с.
10. Maurin M, Gyuranecz M. Tularaemia: clinical aspects in Europe. Lancet Infect Dis 2016; 16: 113–24.
11. Павлов В.М., И.И. Козлова, А.Н. Мокриевич, О.Д. Шутко, В.С. Тимофеев, Р.И. Миронова, Т.С. Кузнецова, Н.М. Файзулина, Т.Ю. Кудрявцева, Т.И. Комбарова, И.А. Дятлов. Характеристика штаммов туляремийного микроба, выделенных от больных людей и мелких грызунов во время эпидемии туляремии в г. Ханты-Мансийске в 2013 году. Пробл. Особо Опасн. Инф. – 2015. – № 2. – В. 124. – С. 58–62.
12. Broman, T., J. Thelaus, A.-C. Andersson, S. Bäckman, P. Wikstrom, E. Larsson, M. Granberg, L. Karlsson, E. Bäck, H. Eliasson, R.Mattsson, A. Sjöstedt, M. Forsman. Molecular detection of persistent *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in natural waters. Int. J. Microbiol. – 2011. – V. 2011. – P. 1–26.

13. Thelaus, J., A. Andersson, P. Mathisen, A. Forslund, L. Noppa, M. Forsman. Influence of nutrient status and grazing pressure on the fate of *Francisella tularensis* in lake water. FEMS Microbiol Ecol. – 2009. – V. 67. – P. 69–80.
14. Forsman, M., Henningson E.W., Larsson E., Johansson T., Sandström G.. *Francisella tularensis* does not manifest virulence in viable but non-culturable state. FEMS Microbiol Ecol. – 2000. – V. 31. – P. 217–224.
15. Mironchuk, I., Mazepa A.V.. Viability and virulence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in water ecosystems (experimental study). Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. – 2002. – V. 2. – P. 9–13.
16. Куликалова Е.С., Балахонов С.В., Сынгеева А.К., Адельшин Р.В., Бикетов С.Ф., Щит И.Ю., Мазепа А.В., Миронова Л.В. Использование реакции петлевой изотермической амплификации (LAMP) для выявления ДНК вирулентных штаммов *F. tularensis*. Материалы II Национального конгресса бактериологов. Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 3. С. 264–265.
17. Rydzewski K., Schulz T., Brzuszkiewicz E., Holland G., Lück C., Fleischer J., Grunow R., Heuner K. Genome sequence and phenotypic analysis of a first German *Francisella* sp. isolate (W12-1067) not belonging to the species *Francisella tularensis*. BMC Microbiol. 2014; 14:169. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-169>.
18. Champion, M.D. Comparative genomic characterization of *Francisella tularensis* strains belonging to low and high virulence subspecies / M.D Champion, Q. Zeng, E.B. Nix *et al.* // PLoSPathog. - 2009. – V. 5(5) – e1000459.
19. Versage J. L., Severin D. D. M., Chu M. C., and J. M. Petersen. Development of a multitarget real-time TaqMan PCR assay for enhanced detection of *Francisella tularensis* in complex specimens. // J. Clin. Microbiol. – 2003. – V. 41. – P. 5492–5499.
20. Сеничкина А.М., Осина Н.А., Абдрашитова А.С., Германчук В.Г. Определение диагностической эффективности ПЦР с использованием наборов реагентов «Ген *Francisella tularensis* – РЭФ» и «Ген *Francisella tularensis* – РФФ» при исследовании биологического материала от животных. Пробл. особо опасных инф. 2016; 4:79–84.
21. Forestal CA, Malik M, Catlett SV, Savitt AG, Benach JL, Sellati TJ, Furie MB. *Francisella tularensis* has a significant extracellular phase in infected mice. J.Infect.Diseases. 2007;196(1):134–137.
22. Horzempa J, O'Dee DM, Stolz DB, Franks J, Clay D, Nau GJ. Invasion of erythrocytes by *Francisella tularensis*. J Infect Dis 2011;204:51–59.
23. Кормилицына, М. И., Мещерякова, И. С.; Михайлова, Т. В. Добровольский А.А, Полимеразная цепная реакция в реальном времени в лабораторной диагностике туляремии. ЖМЭИ 2015: № 3: 59–63.
24. Кудрявцева Т.Ю., Щит И.Ю. Выявление ДНК туляремийного микроба в суспензиях органов мышей. Материалы IV национального конгресса бактериологов и международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера MICROBIOS-2018», г. Омск, 12–13 сентября 2018 г., С. 39.
25. Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Уланова Г.И., Карбышева С.Б., Миронова Р.И., Вахрамеева Г.М., Губарева Т.И., Павлов В.М., Дятлов И.А. Выделение среднеазиатского подвида туляремийного микроба на территории Алтайского края. Пробл. особо опасных инфекций. 2013; 1:66–69.
26. Timofeev V., Bakhteeva I., Titareva G., Kopylov P., Christiany D., Mokrievich A., Dyatlov I., Vergnaud G. Russian isolates enlarge the known geographic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*. PLoSONE. 2017;12(9): e0183714. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183714>.
27. Тимофеев В.С. Генетическое разнообразие *Francisella tularensis* из природных очагов России: дис. канд. биол. наук: 03.02.03, 03.01.06 / Тимофеев В. С. – Оболенск, 2015. – 170 с.
28. Кисличкина А.А., Кадникова Л.А., Майская Н.В., Соломенцев В.И., Мухина Т.Н., Благодатских С.А., Богун А.Г., Кудрявцева Т.Ю., Миронова Р.И., Тимофеев В.С., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Шемякин И.Г. Полногеномное секвенирование штаммов *F. tularensis*, выделенных во время эпидемии туляремии в Ханты-Мансийске в 2013 году // Материалы II Национального конгресса бактериологов. Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 3. С. 260.

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ *H. PYLORI*  
У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ И ПОВТОРНО ВЫЯВЛЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**  
**Неумоина Н. В., Перфилова К. М., Шутова И. В., Неумоина М. В., Трошина Т. А.,  
Бутина Т. Ю., Кузнецова И. В.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В статье освещается одна из актуальных проблем гастроэнтерологии – генотипирование бактерии *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) по генам *vacA*, *cagA*, *iceA*, *babA* у больных с впервые выявленным хеликобактериозом и пациентов, получавших ранее курс эрадикации. В 1 клинической группе преобладающим генотипом *H. pylori* по *vacA* гену был *vacAs1m1*. Большинство *vacAs1* штаммов являлось *cagA* позитивными. В 14,3% случаев выявлено инфицирование более чем одним типом *H. pylori*. В группе больных с повторно выявленным хеликобактериозом доминирования определенного генетического варианта *H. pylori* не установлено, микст – инфекция двумя или более геновариантами обнаружена в единичных случаях.

**CHARACTERISTIC OF THE *H. PYLORI* GENETIC PROFILE IN PATIENTS  
WITH FIRST AND REPEATED REVEALED INFECTION**

**Neumoina N. V., Perfilova K. M., Shutova I. V., Neumoina M. V., Troshina T. A.,  
Butina T. Yu., Kuznetsova I. V.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The content of the article is one of the urgent problems of gastroenterology. This problem is genotyping of the bacterium *Helicobacter pylori* (*H. pylori*): the genes *vacA*, *cagA*, *iceA*, *babA* of patients with first diagnosed *H. pylori*-infection and patients who received the course of eradication earlier. In the clinical group 1, the predominant genotype of *H. pylori* from *vacA* gene was *vacAs1m1*. Most of the *vacAs1* strains were *cagA* – positive. *H. pylori*-infection with more than one type of *H. pylori* was detected in 14,3% of cases. In the group of patients with redetected *Helicobacter pylori* domination of a certain genetic variant of *H. pylori* was not established, mixed infection with two or more genovariants was found in isolated cases.

**Введение.** Многочисленные эпидемиологические исследования выявили широкое распространение *H. pylori*-инфекции – ей подвержено около 60% населения планеты. D.Y. Graham называл *H. pylori*-инфекцию одной из наиболее часто встречающихся инфекций человека [1, 2, 3]. Несмотря на высокий процент инфицирования населения *H. pylori* подавляющее большинство инфицированных лиц не имеют клинических проявлений на момент диагностики, но представляют собой группу риска, в которой с течением времени развивается хронический гастрит, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки, В-клеточная MALT-лимфома или аденокарцинома желудка. Развитие, особенности течения и частота рецидивов хронической *H. pylori*-ассоциированной гастроудоденальной патологии у взрослых могут быть связаны с наличием у индивидов определенных генотипов хеликобактера [4, 5, 6].

К настоящему времени у двух штаммов *H. pylori* (J99 и 26695) определены полные последовательности генома. Геном *H. pylori* содержит 1600 генов [7, 8]. Ряд генов, кодирующих – белки *CagA*, *VacA*, *IceA*, *BabA*, считаются факторами патогенности.

Ген *cagA* (cytotoxin-associated gene) – маркер островка патогенности – *cag* (*cag*-PAI) кодирует белки IV секреторной системы *H. pylori*. Эти белки интегрируются непосредственно в эпителиоциты желудка, модулируя экспрессию генов интерлейкина-8, вызывающих выраженные воспалительные изменения в слизистой оболочке желудка [9,10].

Другой фактор патогенности *H. pylori* – ген *vacA* (vacuolating-associated cytotoxin). Вакуолизирующий токсин *vacA* *in vitro* вызывает формирование вакуолей в клетках. *In vivo*

он вызывает образование эрозий и язв [11]. Этот цитотоксин увеличивает проницаемость мембран, достоверно уменьшает скорость реэпителизации экспериментальных язв и пролиферацию эпителиоцитов, влияет на выживание *H. pylori* в клетках хозяина, стимулирует апоптоз клеток [12].

Ген *iceA* (induced by contact with epithelium) существует в двух аллельных формах – *iceA1* и *iceA2*. У больных, инфицированных *H. pylori* с генотипом *iceA1*, инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки желудка полиморфно-ядерными нейтрофилами выше, чем у инфицированных *H. pylori* с другим генотипом. В ряде работ было показано, что адгезия к эпителиальным клеткам желудка *in vitro* индуцируется экспрессией *IceA1* белка. Однако *in vivo* детектируются как *iceA1*, так и *iceA2* транскрипты [13].

Вклад в специфический тропизм штаммов *H. pylori* к эпителию желудка также вносят факторы бактериальной адгезии, такие, как ген *babA* (blood group antigen-binding adhesin). Этот ген является медиатором адгезии *H. pylori* с системой антигенов Lewis на эпителиальных клетках желудка. *In vitro* показано, что *H. pylori* специфически связывается с поверхностью клеток слизистой желудка и этот процесс регулируется антигенами этой группы [14].

Всевозможные сочетания цитотоксического *cagA* гена и *vacA* гена с разными аллельными вариантами, а также с генами *iceA* и *babA* формируют субтипы микроорганизма с разными свойствами.

**Цель работы:** оценить частоту выявления основных генов патогенности *H. pylori* у больных с впервые и повторно выявленным хеликобактериозом.

**Материалы и методы.** Обследовано 65 больных с гастроэнтерологической патологией: обострение хронического *H. pylori*-ассоциированного гастрита и дуоденита (29 мужчин и 36 женщин в возрасте от 22 до 60 лет – в среднем 46,4±6,8 года). У 35 больных *H. pylori* выявлен впервые (1 группа), 30 пациентов ранее (1–5 лет назад) получали курс эрадикационной терапии в связи с разными клиническими вариантами хеликобактериоза (2 группа). Всем больным проведена ЭГДС с взятием материала из антрального отдела желудка на *H. pylori*. ДНК *H. pylori* и гены *cagA*, *vacA*, *babA*, *iceA* определяли методом ПЦР. В работе использованы коммерческие и экспериментальные тест-системы производства «ЛИТЕХ» (г. Москва). В структуре *vac A* гена определяли аллельные типы s1 и s2, m1 и m2, в структуре *ice A* гена – аллельные типы A1 и A2.

Статистическая обработка проводилась с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10. Достоверность различий оценивали непараметрическими методами Пирсона ( $\chi^2$ ), Фишера. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** При эндоскопическом обследовании у 50 больных (27 человек – 77,1% в 1 группе и 23 человека – 76,7% во 2 группе) выявлен активный гастрит без нарушения целостности слизистой оболочки желудка, у 15 больных (8 человек – 22,8% – в 1 группе и 7 человек – 22,5% во 2 группе) – с наличием одиночных или множественных эрозий слизистой желудка и/или двенадцатиперстной кишки. Исследование генов патогенности выявило определенные различия генетического профиля *H. pylori* в группах. Так в 1 группе различные аллельные варианты *vac A* гена обнаружены у подавляющего числа больных (88,6%). При этом преобладали варианты s1 (51,4%) и m1 (45,7%). Ген *cagA* был обнаружен в 68,8% случаев.

Характеристика генетического профиля *H. pylori* в изолятах, полученных от больных, ранее получавших курс противохеликобактерной терапии, показала меньшую распространенность микроорганизма с выраженными цитопатическими свойствами. Ген *vac A* выявлен у 63,3% пациентов с преобладанием аллеля s2 (43,3%). Ген *vac A* s1 в этой группе обнаружен в 2 раза реже (26,7%), чем в 1 группе.

Инфицирование несколькими генотипическими вариантами *H. pylori* (содержащими гены *vac A* s1+ s2 и *vac A* m1+ m2) констатировано у 14,3% больных 1 группы и лишь у 3,3% больных 2 группы.

Распространенность *iceA1* и *iceA2* в обеих группах была низкой, а ген *babA* встречался в единичных случаях. Не отмечено значимой связи между этими факторами патогенности, клинической формой патологии и индивидуальными особенностями пациентов.

**Заключение.** Таким образом, у больных с впервые выявленным хеликобактериозом преобладал генотип *cagA+* *vacAs1m1*, реже был обнаружен генотип *cagA-* *vacAs2m2*. В группе больных, получавших в отдаленные сроки курс эрадикационной терапии, *cagA* ген был выявлен у половины обследованных и доминирования какого-либо варианта *vacA* гена не установлено. В 1 группе больных смешанные генотипы *vacA* гена, т. е. инфицирование более чем одним типом *H. pylori*, выявлены в 4 раза чаще, чем во 2 группе. Скорее всего, эрадикационная терапия у больных 2 группы привела к элиминации *H. pylori* с более выраженными патогенными свойствами. Выявление *H. pylori* после проведения терапии, направленной на эрадикацию патогена, может быть связано с реинфекцией (повторным инфицированием) или рецидивом (активацией имеющейся) инфекции. Эрадикация *H. pylori* до настоящего времени остается единственным видом лечения, которое может прервать патологический каскад прогрессирования хронического гастрита и устранить риск дальнейшего развития атрофии, кишечной метаплазии и аденокарциномы. Причинами неуспешной эрадикации у обследованных пациентов могли быть инфицирование штаммами, резистентными к примененным препаратам, использование дженерических препаратов, высокая плотность обсеменения слизистой желудка, низкая комплаентность (несоблюдение доз, кратности приема, длительности курса терапии).

#### Литература:

1. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых // РЖГГК. – 2018. – № 28 (1). – С. 55–77.
2. Леонов, С.А. Заболеваемость населения: региональные особенности и проблемы / С.А. Леонов, И.М. Сон, С.А. Моравская. – М.: ФГБУ ЦНИИОИЗ. – 2013. – 160 с.
3. Лазебник Л.Б. Диагностика и лечение инфекции *Helicobacter pylori* в России: результаты проспективной наблюдательной программы «КАЙДЗЕН» / Л.Б. Лазебник, Д.С. Бордин // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. – 2016. – № 1 (15). С. 3–9.
4. Mentis A. Epidemiology and Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection / A. Mentis, P. Lehours, F. Mégraud // *Helicobacter*. – 2015. – V. 20 (1). – P. 1–7.
5. Hunt R.H. Рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации. *Helicobacter pylori* в развивающихся странах / R.H. Hunt, S.D. Xiao, F. Megraud, R. Leon-Barua, F. Bazzoli, S. van der Merwe, L.G. Vaz Coelho, M. Fock, S. Fedail, H. Cohen, P. Malfertheiner, N. Vakil, S. Hamid // WGO. – 2010. – 17 с.
6. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors / Y.Yamaoka // *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. – 2010. – V. 7 (11). – P. 629–41.
7. Alm R.A. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori* / R.A.Alm, L.-S.L.Ling, D.T. Moir // *Nature*. – 1999. – V. 397 (6715). – P. 176–180.
8. Tomb J.F. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori* / J.F. Tomb, O. White, A.R. Kerlavage // *Nature*. – 1997. – V. 388 (6642). – P. 539–547.
9. Голубкина Е.В. Роль *cagA* гена в диагностике ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки / Е.В. Голубкина, Н.В. Камнева, А.Р. Умерова // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – № 1. – С. 5–8.
10. Jang S., Su H., Blum F.C., et al. Dynamic expansion and contraction of *CagA* copy number in *Helicobacter* impact development of gastric disease. / S. Jang, H.Su, F.C. Blum // *M. Bio*. – 2017. – V. 8 (1). – P. 1779–16.
11. Shirasaka D. *Helicobacter pylori* *VacA* and gastric ulcer. / D. Shirasaka // *Int J Hematol*. – 2006. – V. 84. – P. 316–318.

12. Исаева Г.Ш. Биологические свойства и вирулентность *Helicobacter pylori* / Г.Ш. Исаева, Р.И. Валиева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Том 20. – № 1. – С. 14–23.
13. Wang M.Y. Distribution of *Helicobacter pylori* virulence markers in patients with gastroduodenal diseases in a region at high risk of gastric cancer / M.Y. Wang, C. Chen, X.Z. Gao // Microb Pathog. – 2013. – V. 3. – P. 59–60.
14. Skoog E.C. BabA dependet binding of *Helicobacter pylori* to human gastric mucins cause aggregation that inhibits proliferation and isregulated via ArsS. / E.C. Skoog, M. Padra, A. Aberg // Sci Rep. – 2017. – V. 7. – P. 40656–62.

УДК: 615.3

**ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СЕРИЙ ПРЕПАРАТА  
«КИП НАЗАЛЬНЫЙ» ПРИ ХРАНЕНИИ**

**Новикова Л. И., Волков А. В., Зуева М. М., Матвеевская Н. С.,  
Синчугова Т. В., Кострова О. М.**

*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

**Аннотация.** Изучены физико-химические и иммунохимические свойства иммуноглобулинового препарата «КИП назальный», приготовленного с применением различных буферных систем и вспомогательных соединений, при хранении в течение 1 года. Выявлено, что в слабокислых и нейтральных буферных растворах гарантированно сохраняются все изученные свойства препарата, а при хранении в щелочных условиях наблюдается расщепление иммуноглобулинов, что негативно сказывается на активности в отношении респираторных патогенов. На основании полученных результатов предложена коррекция состава препарата «КИП назальный».

**STABILITY EVALUATION OF EXPERIMENTAL BATCHES OF THE DRUG  
«KIP NASAL» DURING STORAGE**

**Novikova L. I., Volkov A. V., Zueva M. M., Matveevskaya N. S.,  
Sinchugova T. V., Kostrova O. M.**

*G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Abstract.** Physico-chemical and immunochemical properties of immunoglobulin preparation «KIP nasal» prepared with the use of various buffer systems and supporting compounds during storage for 1 year were studied. It was found that in weakly acidic and neutral buffer solutions all the drug properties studied are guaranteed to remain, and when stored in alkaline conditions, there is a cleavage of immunoglobulins, which negatively affects the activity against respiratory pathogens. Based on the results, the correction of the preparation «nasal KIP» composition is proposed.

**Введение.** Комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИП) местного – назального – применения («КИП назальный») представляет собой комбинацию иммуноглобулинов трех основных изотипов (IgG, IgA, IgM), обладает специфической активностью в отношении респираторных патогенов вирусной и бактериальной природы и будет предназначен для профилактики и терапии инфекций верхних дыхательных путей.

Имуноглобулиновые препараты уже многие десятилетия применяются в инфекционной клинике, однако спектр препаратов местного применения невелик, в то время как использование иммуноглобулинов непосредственно в зоне входных ворот инфекции (слизистые оболочки) может оказаться более эффективным и удобным для пациента, чем парентеральное введение [3, 5]. МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского с 40-х годов XX века занимается проблемой разработки, исследования механизмов действия и использования в



клинике препаратов иммуноглобулинов, уделяя помимо специфической активности отдельное внимание комплексным иммуноглобулинам и способам их использования, и является пионером в области разработки иммуноглобулиновых препаратов местного применения.

Препарат «КИП назальный» является жидкой лекарственной формой и при его разработке возникла проблема сохранения свойств при хранении в течение предполагаемого срока годности (1 год). Проведены исследования по коррекции состава препарата с помощью различных буферных систем и вспомогательных веществ.

**Материалы и методы.** По усовершенствованной технологии приготовлено 48 экспериментальных серий препарата «КИП назальный» на основе восьми вариантов буферных систем (раствор хлористого натрия, фосфатный буфер, карбонатный буфер, трис-НСI- и трис-глициновый буферы) с диапазоном рН 4,64–8,77 и молярностью 0,1–0,15 М и шести вариантов вспомогательных и стабилизирующих соединений (глицин, мальтоза, глицерин и их сочетания). Препараты хранили в надлежащих условиях (при температуре  $+(8\pm 2)^\circ\text{C}$ ) в течение предполагаемого срока годности (1 год). В процессе хранения оценивали физико-химические и иммунохимические показатели – рН, содержание общего белка по биурету, содержание отдельных изотипов иммуноглобулинов, IgG- и IgA-антител к вирусам гриппа А+В, респираторно-синцитиальному вирусу, *M.pneumoniae* методами иммуноферментного анализа, а также молекулярные параметры методом гель-фильтрации на TSK Toyoupearl HW-55.

**Результаты и обсуждение.** При выборе буферной системы (вида соли и рН) принимали во внимание два обстоятельства – сохранность молекул иммуноглобулинов в растворе и дальнейшее взаимодействие раствора со слизистой оболочкой носовой полости. В имеющихся на рынке назальных препаратах используются различные варианты буферных систем – фосфатный (чаще всего), ацетатный, цитратный и другие буферные растворы. Зачастую в раствор добавляется также и хлористый натрий. Считается, что наиболее благоприятны препараты с осмолярностью, соответствующей 0,5–4%-ным растворам хлористого натрия (0,085–0,68 М), с рН 6,5–8 [2]. Однако, максимальная активность реснитчатого эпителия слизистой оболочки носа наблюдается при рН 5,5–6,5 [1]. В норме значение рН слизистой носовой полости колеблется в пределах 5,5–7,2, хотя может достигать и 8,4 [4]. В работе применили буферные растворы на основе фосфатов калия и натрия, карбоната натрия, хлористого натрия, трис-НСI и трис-глицина. В качестве стабилизирующих соединений использовали углевод мальтозу и аминокислоту глицин. Наряду со стабилизирующими добавками некоторые экспериментальные серии препарата содержали инертное соединение глицерин, введение которого в готовую лекарственную форму, предназначенную для назального применения, обусловлено необходимостью создания достаточно вязкого раствора.

Проведенный анализ физико-химических и иммунохимических свойств экспериментальных серий препарата непосредственно после приготовления и при хранении в течение года не выявил значимых изменений органолептических качеств, рН и содержания общего белка при всех исследованных составах препарата. В то же время влияние выбранных буферных систем на значения других параметров – общее содержание IgG, IgA, IgM, концентрацию IgG- и IgA-антител к респираторным патогенам – было зафиксировано уже к 6-ти месяцам хранения. Обнаружено снижение как общего IgG так и активности IgG-антител в отношении респираторных патогенов в экспериментальных сериях препарата «КИП назальный», приготовленных на основе буферных систем со щелочным значением рН (8,5–8,77), в то время как препараты с нейтральным и слабокислым рН (4,64–6,58) сохранили исходные значения показателей. Профили элюции препаратов при гель-фильтрации на TSK Toyoupearl HW-55 подтвердили сохранность молекул иммуноглобулинов, содержащихся в слабокислых и нейтральных растворах, и появление низкомолекулярных фрагментов иммуноглобулинов при хранении в щелочных условиях.

Таким образом, все буферные системы со слабокислым или нейтральным значением pH (за исключением 0,1М трис-HCl буфера с pH 6,52) – физиологический раствор (pH 4,95), 0,1 М фосфатный буфер (pH 6,58) и 0,1М трис-HCl-буфер (pH 4,64) – способствовали сохранению всех изученных свойств препарата, причем лучше всего показал себя 0,1 М K<sub>2</sub>Na-фосфатный буфер (pH 6,58).

При анализе влияния использованных вариантов стабилизирующих соединений на исследуемые параметры было выявлено, что наилучшая динамика содержания как общего IgG так и IgG-антител наблюдалась в растворах, стабилизированных мальтозой, для стабилизации IgA и IgM подходили как мальтоза, так и глицин, а присутствие глицерина в готовой форме не оказывало существенного влияния на основные иммунохимические характеристики препарата и их динамику при хранении.

Кроме этого, в некоторых опытах было обнаружено увеличение более чем на 30% концентрации иммуноглобулинов изотипов А и особенно М (уже после 6 мес. хранения в щелочных растворах и к 12 мес. хранения также и в слабокислых и нейтральных растворах), что превышало статистически допустимый размах значений, полученных при выполнении иммуноферментного анализа. Этот феномен, возможно, объяснялся расщеплением при длительном хранении димерных и пентамерных молекул иммуноглобулинов этих изотипов на мономеры IgA и IgM, что, тем не менее, в случае с IgA, не сказалось на соответствующей специфической активности.

**Заключение.** С использованием восьми вариантов буферных систем и шести вариантов стабилизаторов и вспомогательных соединений было получено 48 экспериментальных серий препарата «КИП назальный». Серии препарата были положены на хранение в течение 1 года (срок годности) с регулярным контролем физико-химических и иммунохимических свойств в процессе хранения. Выявлено, что слабокислые и нейтральные буферные системы подходят для формирования жидкой лекарственной формы иммуноглобулинового препарата «КИП назальный», в то время как в щелочных условиях уже через 6 месяцев хранения в препарате начинается расщепление иммуноглобулинов (особенно IgG). На основании полученных результатов была выбрана оптимальная буферная система и состав препарата с включением в качестве стабилизаторов и вспомогательных соединений мальтозы, глицина и глицерина.

#### Литература:

1. Бойкова Н.Э. Нормализация слизистой оболочки полости носа как медико-социальная проблема / Бойкова Н.Э. // Лечащий врач. – 2011. – № 8. – С. 103–106.
2. Коллектив авторов. Биофармация: учеб. для студ. фармац. вузов и фак. / Тихонов А.И., Ярных Т.Г., Зупанец И.А., Данькевич О.С., Богуцкая Е.Е., Бездетно Н.В., Азаренко Ю.Н.; Под ред. Тихонова А.И. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы. – 2003.
3. Новикова Л.И. Интраназальная форма иммуноглобулиновых препаратов – перспективы использования в медицинской практике / Новикова Л.И., Алешкин В.А., Борисова И.В., Зуева М.М. // ЖМЭИ. – 2008, № 5. – С. 29–35.
4. Субботина М.В. Показатели pH глотки и носа у пациентов с нарушением носового дыхания воспалительного и невоспалительного генеза / Субботина М.В., Темникова И.В., Онучина Е.В. // Вестник отоларингологии. – 2005. – № 3. – С. 35–39.
5. Weltzin R. Intranasal antibody prophylaxis for protection against viral disease / Weltzin R., Monath T.P. // Clin. Microbiol. Rev. – 1999. – V. 12, № 3. – P. 383–393.

**БЕССИМПТОМНОЕ НОСИТЕЛЬСТВО ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ  
И ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ  
У ПАЦИЕНТОВ НЕЙРОРЕАНИМАЦИИ**

**Новикова<sup>1</sup> Т. С., Асташкин<sup>1</sup> Е. И., Карцев<sup>1</sup> Н. Н., Ершова<sup>2</sup> О. Н.,  
Курдюмова<sup>2</sup> Н. В., Фурсова<sup>1</sup> Н. К.**

<sup>1</sup>ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»,  
Оболensk, Россия

<sup>2</sup>ФГАУ «Национальный научно-практический центр нейрохирургии имени академика  
Н.Н. Бурденко» МЗ РФ, Москва, Россия

**Аннотация.** Цель исследования – выявление бессимптомного носительства грамотрицательных бактерий (ГОб) и генов антибиотикорезистентности в ходе шести одномоментных обследований пациентов нейрореанимации г. Москвы в 2015 и в 2017 гг. От 117 пациентов выделено 388 изолятов ГОб из трахеальных мазков, ректальных мазков и мочи, в том числе 145 (37%) изолятов от пациентов без признаков инфекций дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы. Идентифицированы 22 вида ГОб, в том числе *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Proteus* spp., *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Citrobacter* spp., *Providencia stuartii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella variicola*, *Raoultella ornithinolytica* и *Elizabethkingia meningoseptica*. Большинство (n=252, 65%) изолятов отнесены к категории множественно лекарственно устойчивых, при этом 94 изолята выделены от пациентов без инфекций. В 123, 111, 98, 38 и 4 штаммах ГОб идентифицированы гены бета-лактамаз CTX-M-, TEM-, SHV-, OXA-48- и NDM-типов, соответственно; в 112 и 40 изолятах – интегроны классов 1 и 2. При этом изоляты, полученные от пациентов без инфекций, несли гены перечисленных выше бета-лактамаз в 40, 43, 35, 18 и 1 случаях, а интегроны классов 1 и 2 – в 44 и 12 случаях, соответственно. Таким образом, у ~1/3 пациентов нейрореанимации выявлено бессимптомное носительство ГОб, несущих генетические детерминанты антибиотикорезистентности.

**Ключевые слова:** бессимптомное носительство; грамотрицательные бактерии; антибиотикорезистентность; гены бета-лактамаз; интегроны.

**ASYMPTOMATIC CARRIAGE OF GRAM NEGATIVE BACTERIA  
AND ANTIBACTERIAL RESISTANCE GENES IN PATIENTS  
OF NEUROLOGICAL INTENSIVE CARE UNIT**

**Novikova<sup>1</sup> T. S., Astashkin<sup>1</sup> E. I., Kartsev<sup>1</sup> N. N., Ershova<sup>2</sup> O. N., Kurdyumova<sup>2</sup> N. V.,  
Fursova<sup>1</sup> N. K.**

<sup>1</sup>State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор, Obolensk,  
Moscow region, Russia

<sup>2</sup>Scientific Center of Neurosurgery named after academician N.N. Burdenko, Ministry of Health  
of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Abstract.** The purpose of the study is to identify asymptomatic carriage of gram-negative bacteria (GNB) and antibiotic resistance genes in six point prevalence studies of the neuro-ICU patients in Moscow in 2015 and 2017. Three hundred and eighty eight GNB isolates were collected from 117 patients from tracheal swabs, rectal swabs and urine, including 145 (37%) isolates from the patients without symptoms of respiratory system, gastrointestinal and urinary system infections. Twenty two GNB species were identified including *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Proteus* spp., *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Citrobacter* spp., *Providencia stuartii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella variicola*, *Raoultella ornithinolytica*, and *Elizabethkingia meningoseptica*. Major (n=252, 65%) isolates were attributed

to MDR category, at the same time 94 isolates were isolated from patients without infections. The CTX-M, TEM, SHV, OXA-48, and NDM-types of beta-lactamase genes were identified in 123, 111, 98, 38 and 4 GNB isolates, class 1 and 2 integrons – in 112 and 40 isolates, respectively. At the same time, the isolates obtained from patients without infections carried the listed above beta-lactamase genes in 40, 43, 35, 18 and 1 cases, respectively, and class 1 and 2 integrons – in 44 and 12 cases, respectively. Thus, asymptomatic carriage of GNBs carrying antibiotic resistance genetic determinants was found in ~1/3 of the neuro-ICU patients.

**Key words:** asymptomatic carriage; gram-negative bacteria; antibacterial resistance; beta-lactamase genes; integrons

**Введение.** Одной из ведущих проблем здравоохранения в мире является распространение устойчивости патогенных бактерий к антибактериальным препаратам. Особое внимание привлекают возбудители инфекций человека, проявляющие множественную лекарственную резистентность (MDR), экстремальную лекарственную резистентность (XDR) и полную лекарственную резистентность (PDR) [4]. В научной литературе опубликовано большое число работ, посвященных изучению молекулярных механизмов антибиотикорезистентности, которые связаны с накоплением и горизонтальным переносом генетических детерминант.

Регулярное проведение мониторингов по выявлению антибиотикорезистентности в популяциях клинически значимых бактерий на сегодняшний день является чрезвычайно важным для медицины, поскольку позволяет отслеживать циркуляцию возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в медицинских учреждениях, выявить изменения в этиологической структуре заболеваемости и прогнозировать развитие антибиотикорезистентности у этих возбудителей [6]. В последние годы появились сообщения о фактах бессимптомного носительства бактерий и генов антибиотикорезистентности как у пациентов медицинских учреждений, так и у здоровых людей [3, 5].

Оценка уровня скрытого бессимптомного носительства возбудителей актуальных госпитальных и внегоспитальных инфекций у пациентов, поступающих в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), представляет большой интерес для клиницистов, а также для молекулярных микробиологов, изучающих эволюционные процессы у патогенных бактерий.

**Цель исследования.** Оценить наличие бессимптомного носительства грамтрицательных бактерий и генов антибиотикорезистентности в ходе шести одномоментных обследований пациентов нейрореанимации г. Москвы в 2015 и в 2017 гг.

**Материалы и методы.** Обследование пациентов нейрореанимации проводили в январе, июне и ноябре 2015 г. и в апреле, июле и сентябре 2017 г. (таблица).

Бактериальные культуры выделяли из клинических образцов (трахеальный мазок, ректальный мазок и моча) и культивировали в течение 18–20 ч при температуре 37°C на питательных средах ГРМ-1, Плоскирева, Эндо и Левина (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), идентифицировали на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия), определяли чувствительность к антимикробным препаратам (АП) на приборе VITEK 2 (bioMérieux, Франция) и методом микроразведений в бульоне планшетным методом. Интерпретацию осуществляли согласно рекомендациям EUCAST ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)) и критериям, предложенным в работе German et al. (2018). Гены бета-лактамаз *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> и *bla*<sub>NDM</sub> и интегроны классов 1 и 2 определяли методом ПЦР, как описано ранее [1].

**Результаты и обсуждение.** В шести одномоментных обследованиях пациентов нейрореанимации получены образцы клинического материала от 117 пациентов. В результате исследования всего выделено 380 культур грамтрицательных бактерий (ГОб), в том числе в 2015 г. – 202 культуры, а в 2017 г. – 186 культур. При этом наличие инфекционных процессов было зафиксировано только у части пациентов: в 2015 г. кишечная

дисфункция у 20 пациентов, инфекции дыхательной системы у 16 пациентов, инфекции мочевыводящих путей – у 14 пациентов; в 2017 г. кишечная дисфункция у 9 пациентов, инфекции дыхательной системы у 11 пациентов, инфекции мочевыводящих путей – у 16 пациентов. Таким образом, не имели зафиксированных инфекций в 2015 г. 111 (55%) пациентов, а в 2017 г. – 34 (18%) пациентов.

**Таблица.** Изоляты грамотрицательных бактерий и генов антибиотикорезистентности, выявленные в ходе одномоментных обследований пациентов нейрореанимации

Дата исследования / количество пациентов	Количество изолятов ГОБ	Изоляты категорий MDR и XDR		Количество генетических детерминант антибиотикорезистентности	
		Всего	Без ИСМП	Всего	Без ИСМП
29.01.2015 г. / n=24	80	MDR – 26 XDR – 14	17 8	128	84
03.06.2015 г. / n=16	43	MDR – 9 XDR – 10	6 7	60	33
13.11.2015 г. / n=22	79	MDR – 16 XDR – 15	5 7	87	36
18.04.2017 г. / n=16	49	MDR – 5 XDR – 18	2 2	63	12
03.07.2017 г. / n=21	80	MDR – 27 XDR – 15	5 3	115	30
05.07.2015 г. / n=18	57	MDR – 17 XDR – 9	ND	66	ND
Итого:	388	MDR – 100 XDR – 81	35 27	536	193

**Примечание:** ГОБ – грамотрицательные бактерии; MDR – множественно лекарственно устойчивые; XDR – экстремально лекарственно устойчивые.

В ходе исследования в 2015 г. из ректальных мазков выделено 98 культур, из дыхательной системы – 87 культур, из мочи – 16 культур (из них 59, 45 и 7 культур, соответственно – от пациентов без инфекций). В 2017 г. из ректальных мазков выделено 89 культур, из дыхательной системы – 58 культур, из мочи – 32 культуры (из них 19, 10 и 4 культуры, соответственно – от пациентов без инфекций).

Среди выделенных культур идентифицированы 22 видов ГОБ, в том числе *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter absuriae*, *Enterobacter ludwigii*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella variicola*, *Raoultella ornithinolytica* и *Elizabethkingia meningoseptica* (таблица).

Большинство (n=252, 65%) выделенных штаммов отнесены к категории множественно лекарственно устойчивых (МЛУ), при этом 94 штамма выделены от пациентов без инфекций. В соответствии с опубликованными рекомендациями канадских ученых [2] среди МЛУ штаммов выделены группы MDR штаммов (n=97), из которых 33 штамма – от пациентов без инфекций, и группа XDR штаммов (n=85), из которых 28 штаммов – от пациентов без инфекций. Интересно, что в 2015 и 2017 гг. соотношение количества MDR/XDR штаммов было приблизительно одинаковым: 48/43 и 49/42, но отличалось число MDR/XDR штаммов, выделенных от пациентов без инфекций: 26/23 в 2015 г. и 7/5 – в 2017 г. Это позволяет сделать вывод о результативности внедренной в последние годы в отделении нейрореанимации системы надзора за возбудителями ИСМП.

Анализ представленности генетических детерминант антибиотикорезистентности в геномах штаммов, выделенных от пациентов нейрореанимации, показал, что гены бета-

лактамаз CTX-M-, TEM-, SHV-, OXA-48- и NDM-типов идентифицированы в 123, 111, 98, 38 и 4 штаммах, соответственно. Кроме того, идентифицированы интегроны классов 1 и 2 в 112 и 40 штаммах, соответственно. При этом штаммы, полученные от пациентов без инфекций, несли гены перечисленных выше бета-лактамаз в 40, 43, 35, 18 и 1 случаях, соответственно, а также интегроны классов 1 и 2 – в 44 и 12 случаях, соответственно. В 2017 г., по сравнению с 2015 г., отмечен факт расширения спектра эпидемически значимых генов бета-лактамаз, а именно – идентификация гена металло-бета-лактамазы NDM-1 при бессимптомном носительстве XDR штамма у пациента нейрореанимации (таблица).

**Заключение.** В ходе исследования, направленного на выявление бессимптомного носительства у пациентов нейрореанимации г. Москвы потенциальных возбудителей нозокомиальных инфекций, а также генетических детерминант антибиотикорезистентности, установлено, что около трети пациентов данного отделения являлись носителями ГОБ с генами бета-лактамаз, в том числе карбапенемазы OXA-48 и металло-бета-лактамазы NDM-1, а также интегронами классов 1 и 2. Полученные сведения важны для оценки эпидемиологической ситуации в лечебных учреждениях, в которых в ходе лечения часть пациентов попадает в ОРИТ; для организации эффективного надзора за возбудителями ИСМП; для выбора оптимальных схем антибиотикотерапии.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

#### Литература:

1. Fursova N.K., Astashkin E.I., Knyazeva A.I., Kartsev N.N., Leonova E.S., Ershova O.N., Alexandrova I.A., Kurdyumova N.V., Sazikina S.Y., Volozhantsev N.V., Svetoch E.A., Dyatlov I.A. The spread of *bla*<sub>OXA-48</sub> and *bla*<sub>OXA-244</sub> carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter* spp. isolated in Moscow, Russia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015; 14:46
2. German G.J., Gilmour M., Tipples G., Adam H.J., Almohri H., Bullard J., Dingle T., Farrell D., Girouard G., Haldane D., Hoang L., Levett P.N., Melano R., Minion J., Needle R., Patel S.N., Rennie R., Reyes R.C., Longtin J., Mulvey M.R. Canadian recommendations for laboratory interpretation of multiple or extensive drug resistance in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Can Commun Dis Rep.* 2018; 44(1):29–34.
3. Gorrie C.L., Mirceta M., Wick R.R., Judd L.M., Wyres K.L., Thomson N.R., Strugnell R.A., Pratt N.F., Garlick J.S., Watson K.M., Hunter P.C., McGloughlin S.A., Spelman D.W., Jenney A.W.J., Holt K.E. Antimicrobial-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Carriage and Infection in Specialized Geriatric Care Wards Linked to Acquisition in the Referring Hospital. *Clin Infect Dis.* 2018; 67(2):161–170.
4. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatopoulos A., Weber J.T., Monnet D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(3):268–81.
5. Royden A., Ormandy E., Pinchbeck G., Pascoe B., Hitchings M.D., Sheppard S.K., Williams N.J. Prevalence of faecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in veterinary hospital staff and students. *Vet Rec Open.* 2019; 6(1): e000307.
6. Wang L., Zhou K.H., Chen W., Yu Y., Feng S.F. Epidemiology and risk factors for nosocomial infection in the respiratory intensive care unit of a teaching hospital in China: A prospective surveillance during 2013 and 2015. *BMC Infect Dis.* 2019; 19(1):145.

## ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *CAMPYLOBACTER* ОТ КУР В ЛИЧНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ В РЕСПУБЛИКЕ ГВИНЕЯ

Порин<sup>1</sup> А. А., Балдэ Раматулай<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Институт биологических исследований Гвинеи, Киндия, Республика Гвинея

**Аннотация.** При исследовании 39 проб помета кур, из личных хозяйств в провинции Киндия Республики Гвинея термотолерантные кампилобактеры были выявлены в 24 (61,54%). В 4 пробах кампилобактер был обнаружен только при помощи ПЦР, а из 20 проб кампилобактеры были выделены культуральным методом. Для этого был использован метод фильтров и коммерческие угольные селективные среды. Идентификация проводилась с использованием традиционных фенотипических методов, а также MALDI TOF масс-спектрометрии и PCR с видоспецифическими праймерами. *C. jejuni* был выделен из 5 проб, а *C. coli* – из 15, что составило 25% и 75% соответственно.

## ISOLATION OF *CAMPYLOBACTER SPP.* FROM CHICKENS IN FARMS IN THE REPUBLIC OF GUINEA

Porin<sup>1</sup> A. A., Balde Ramatoulaye<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and microbiology named after Pasteur of Rosпотребнадзор, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Institut de Recherche en Biologie Appliquee de Guinee, Kindi, Guinee

**Abstract.** In the study, 39 samples of feces of chickens, from farms in the province of Kindia in the Republic of Guinea thermotolerant *Campylobacter spp.* was identified in 24 (61,54%). In 4 samples *Campylobacter spp.* was detected only by PCR, and from 20 samples of *Campylobacter spp.* were isolated by cultural method. The method of filters and commercial coal selective media was used for this purpose. Identification was carried out using traditional phenotypic methods, as well as MALDITOF spectrometry and PCR with species-specific primers. *C. jejuni* was isolated from 5 samples, and *C. coli* – from 15, which was 25% and 75%, respectively.

**Введение.** Термотолерантные представители рода *Campylobacter* являются лидирующими возбудителями бактериальных диарей у людей в европейских странах с 2005 года. В 2017 году количество подтвержденных случаев кампилобактериоза в странах Евросоюза почти достигло 250 000. Заболеваемость составила 64,8 на 100000 человек [4]. Основным резервуаром *Campylobacter jejuni*, который в течение многих лет остается доминирующим возбудителем, являются куры. Однако, имеются данные, что в различных регионах от кур нередко выделяются и другие представители этого рода. [3]. **Целью** настоящей работы было проведение комплексного обследования кур в личных хозяйствах жителей Республики Гвинея с целью определения уровня инфицированности домашней птицы кампилобактерами.

**Материалы и методы.** Работа проводилась в провинции Киндия Республики Гвинея. Исследованию на наличие кампилобактеров были подвергнуты 39 проб куриного помета.

**Молекулярно-генетические исследования.** Для обнаружения ДНК термотолерантных кампилобактеров были использованы тест-системы «Амплисенс ОКИ-скрин» (Интерлабсервис, Россия). Пробоподготовка с использованием набора «РибоСорб» (Интерлабсервис) и последующая амплификация с детекцией в реальном времени осуществлялась в соответствии с инструкцией фирмы, изготовителя тест-системы на амплификаторе RotorGene.

**Бактериологическое исследование.** Прямой посев суспензии пробы в стерильном физрастворе в соотношении 1:10 производили на три среды:

1. Селективный угольный агар с дезоксихололатом и цефоперазоном – *Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base*, CM0739, Oxoid + *CCDA Selective Supplement*, SR0155E, Oxoid [2].

2. Селективный угольный агар С.А.Т., в состав которого входит та же питательная основа, что и в предыдущей среде, а в составе селективной добавки (С.А.Т. Selective Supplement, SR0174, Oxoid) в два раза уменьшена концентрация цефоперазона и введен дополнительно тейкопланин (8 мг/л), что должно улучшать выделение *C. upsaliensis* [1].

3. Неселективный кровяной агар – Muller-Hinton Agar (CM0337, Oxoid), 5% дефибрированной крови лошади (Defibrinated Horse Blood, E&O Laboratories Limited), лизированной путем замораживания-оттаивания, ростовая добавка (Campylobacter Growth Supplement, SR0232E, Oxoid) для повышения аэротолерантности кампилобактеров. Посев на кровяной агар производился с использованием фильтров из ацетата целлюлозы (Cellulose Acetate Filter, 13506-47-ACN, Sartorius Stedim Biotech) с диаметром пор 0,45 мкм.

Посевы инкубировались в микроаэробной атмосфере при 37°C 48 часов (с просмотром через 24 часа).

Колонии, которые по морфологии могли быть образованы бактериями рода *Campylobacter*, отсеивали на сектора агара Мюллера-Хинтона с 5% лизированной лошадиной крови и ростовой добавкой для накопления биомассы и последующей идентификации и изучения.

Для первичной идентификации использовали традиционные рутинные тесты, основанные на определении ключевых фенотипических признаков: морфология клеток и отношение к окраске по Граму, продукция цитохромоксидазы и каталазы, гидролиз гиппурата натрия и индоксил-ацетата.

Второй уровень идентификации осуществляли с использованием MALDI TOF масс-спектрометрии (Bruker Daltonik MALDI Biotyper). Исследование повторяли дважды с суточными и двухсуточными культурами с агара Мюллера-Хинтона с 5% лизированной лошадиной крови и ростовой добавкой.

На заключительном этапе был использован модифицированный мультиплексный вариант PCR с праймерами, предложенными Wang G. и соавторами [5].

**Результаты.** Термотолерантные кампилобактеры были обнаружены в 24 из 39 исследованных проб, что составляет 61,54%. В 16 пробах кампилобактеры были выявлены как культуральным, так и молекулярно-генетическим методом. В 4 случаях была выявлена только ДНК возбудителя при исследовании материала с помощью тест-системы «ОКИ-скрин». В 4 пробах культура была выделена на одной из использованных питательных сред, в том время, как в ПЦР был получен отрицательный результат.

Для выделения кампилобактеров были использованы две угольные среды, незначительно отличающиеся составом селективной добавки и фильтрационный посев на неселективную среду с кровью. В двадцати исследованных пробах были обнаружены термотолерантные кампилобактеры. В семи пробах эти микроорганизмы были обнаружены на всех использованных средах. Метод мембранной фильтрации позволил обнаружить кампилобактер в 11 образцах, при этом во всех случаях микроорганизм рос в чистой культуре. На CCDA и С.А.Т. агаре было выделено по 12 штаммов. На всех чашках с селективными средами отмечался рост сопутствующей микрофлоры. Визуально более интенсивно сопутствующая флора росла на CCDA, однако, никаких количественных исследований на данном этапе работы не проводилось. В двух случаях рост контаминантов на среде CCDA был настолько интенсивным, что не позволил продолжить работу с чашками (сплошной рост), в то время, как методом фильтров и на среде С.А.Т. в этих пробах был обнаружен кампилобактер.

Таким образом, из двадцати положительных проб было выделено 35 штаммов кампилобактеров, идентификацию которых проводили комплексно, основываясь на результатах классических тестов, MALDI TOF масс-спектрометрии и PCR с видовыми праймерами. Все выделенные штаммы имели характерную морфологию, продуцировали цитохромоксидазу и каталазу. Способность к гидролизу гиппурата была выявлена у 6 штаммов, выделенных из 5 изученных проб. Эти штаммы были идентифицированы как *Campylobacter jejuni*. Остальные штаммы расщепляли индоксил-ацетат и были идентифицированы как *Campylobacter coli*. Результаты фенотипической идентификации полностью совпали с данными, полученными в PCR с видоспецифическими праймерами и методом MALDI TOF масс-спектрометрии.



Чувствительность выделенных кампилобактеров к антимикробным препаратам определялась диско-диффузионным методом в соответствии с требованиями EUCAST 2019. Все культуры были чувствительны к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину.

**Обсуждение.** Проведенная ограниченная серия исследований в Республике Гвинея позволила выявить термотолерантные кампилобактеры у кур, содержащихся в личных хозяйствах в 24 из 39 исследованных проб, что составляет 61,54% и вполне соответствует данным других авторов, полученным в различных странах [3]. При использовании бактериологического метода целесообразно использовать параллельно альтернативные схемы выделения этих микроорганизмов. Метод мембранных фильтров обладает очень высокой селективностью, и рост посторонней микрофлоры не отмечался ни в одной из исследованных проб. Использование селективных сред позволяет нивелировать снижение чувствительности метода фильтров за счет сорбции значительного количества кампилобактеров материалом фильтра, однако селективные добавки нуждаются в постоянном совершенствовании в связи с меняющимся уровнем и спектром резистентности контаминантов к антимикробным препаратам.

Из 20 проб, в которых термотолерантные кампилобактеры были обнаружены культуральным методом, только в 5 пробах был выделен *C. jejuni*, что составляет 25,0%. *C. coli* был выделен в 15 из 20 положительных проб, что составляет 75%. Такое видовое соотношение нуждается в дальнейшем изучении.

#### Литература:

1. Aspinall S.T., Wareing D.R.A., Hayward P.G. and Hutchinson D.N. / J. Clin. Pathol. 1993. V. 46. P. 829–831.
2. Bolton F.J., Hutchinson D.N., Coates D. / J. Clin. Microbiol. 1984/ V. 19. P 169–171.
3. Garin B., Gouali M., Wouafo M. et al. / International Journal of Food Microbiology. 2012. V. 157. Issue 1. P. 102–107.
4. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 / EFSA Journal. 2018. V. 16.
5. Wang G., Clark C.G., Taylor T.M. et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus subsp. Fetus* // J. Clin. Microbiol. 2002. V. 40. P. 4744–4751.

УДК: 616-093/-098

### **СТРУКТУРА И ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ, КОЛОНИЗИРУЮЩИХ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЯ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ**

**Ребещенко А. П., Степанова Т. Ф., Катаева Л. В.**

*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Изучение структуры и антибиотикорезистентности микроорганизмов, колонизирующих биотопы детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии Перинатального центра, г. Тюмень, РФ и Национального госпиталя педиатрии, г. Ханой, Вьетнам, показали различия в структуре изолятов и устойчивости к химиопрепаратам.

### **STRUCTURE AND CHARACTERISTICS OF MICROORGANISMS COLONIZING PATIENTS OF THE DIVISION OF REANIMATION AND INTENSIVE THERAPY**

**Rebeshchenko A. P., Stepanova T. F., Kataeva L. V.**

*Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russia*

**Abstract.** The study of the structure and antibiotic resistance of microorganisms colonizing the biotopes of children in the intensive care unit and intensive care unit of the Perinatal Center, Tyumen, Russia and the National Hospital of Pediatrics, Hanoi, Vietnam, showed differences in the structure of isolates and resistance to chemotherapy.

**Введение.** Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) неразрывно связана с формированием и широким распространением штаммов, обладающих резистентностью к антибиотикам и дезинфицирующим средствам, что негативно влияет на качество лечения пациентов и эффективность профилактических мероприятий [4]. Наиболее активными возбудителями нозокомиальных инфекций являются различные представители семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*) и неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) [1, 3].

**Целью** нашего исследования явилось изучение структуры и антибиотико-резистентности микроорганизмов, циркулирующих в ОРИТ многопрофильных стационаров.

**Материалы и методы.** Изучались данные микробиологического исследования (структура и антибиотикорезистентность), микрофлоры, колонизирующей биотопы детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) Перинатального центра (ПЦ), РФ и Национального госпиталя педиатрии (НГП), Вьетнам. Получено 858 изолятов, выделенных со слизистых зева и прямой кишки пациентов. Анализ статистической значимости различий показателей проведен с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Различия статистически значимы при  $p < 0,05$ . Результаты исследования представлены в виде  $P$  [ДИ] %, где  $P$  – процентная доля, ДИ – 95%-й доверительный интервал для доли [2].

**Результаты и обсуждение.** Пациенты, находящиеся на лечении в ОРИТ ПЦ, контаминированы бактериями семейства *Enterobacteriaceae* в 59,9% случаев, а пациенты НГП – 40,2%. По частоте обнаружения неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ) установлено их преобладание в НГП – 33,4%, в то время как в ПЦ – 11,7%. По колонизации пациентов грамположительными бактериями различия не выявлены ( $\chi^2=0,294$ ,  $p=0,587$ ). В ОРИТ сравниваемых медицинских организаций статистически значимые отличия по частоте обнаружения у пациентов установлены для бактерий семейства *Enterobacteriaceae* ( $\chi^2=31,905$ ,  $p=0,000$ ) и группы НГОБ ( $\chi^2=53,354$ ,  $p=0,000$ ).

Выявленные различия в структуре микрофлоры указывают на преобладание определенного вида в отделениях реанимации. Так в ПЦ чаще всего выделялись *E. coli* – 42%, затем бактерии рода *Klebsiella* – 28%, четверть доли составляют бактерии рода *Enterobacter*. В НГП отмечается доминирование микроорганизмов рода *Klebsiella* ( $\chi^2=20,43$ ,  $p=0,000$ ), их представители выделены и идентифицированы в 49% случаев; *E. coli* из общего количества высеваемых изолятов составляли 29% ( $\chi^2=130,55$ ,  $p=0,000$ ) и *Enterobacter* – 9% ( $\chi^2=9,849$ ,  $p=0,001$ ). Все сравниваемые группы видов микроорганизмов имели статистически значимые различия.

Изоляты НГОБ, идентифицированные в НГП, характеризуются большим разнообразием по сравнению с отделением перинатального центра. Так в ПЦ на протяжении 2016–2017 гг. выделено и идентифицировано 4 рода этих бактерий, в то время как в госпитале – 9. По частоте выделения бактерий рода *Pseudomonas* (54,2% и 32,0% в ПЦ и НГП соответственно), и рода *Acinetobacter* (33,3% и 28,8% в ПЦ и НГП соответственно) статистически значимых различий не выявлено. При этом контаминация детей НГП бактериями *Stenotrophomonas* зарегистрирована в 24,2%, в то время как в ПЦ этот показатель составил – 8,3% ( $\chi^2=4,33$ ,  $p=0,037$ ), различия статистически значимы.

Анализ чувствительности к антимикробным препаратам всех микроорганизмов, выделенных в отделениях стационаров НГП и ПЦ, показал разный уровень их резистентности. Среди выделенных грамположительных бактерий самая высокая резистентность определена к цефалоспорином II и III поколения (33,3% и 36,3% соответственно). Резистентность к глицилциклинам выявлена в 25% случаев. Кроме того, каждый второй бактериальный изолят оказался устойчив к макролидам и сульфаниламидам (20,8% и 20,5% соответственно).

Исследование спектра антибиотикочувствительности штаммов *E. coli* показало, что они обладали высокой устойчивостью к полусинтетическим пенициллинам – 30,0%, цефалоспорином II поколения – 29,4% и аминогликозидам – 20,9%. Другие представители семейства *Enterobacteriaceae* демонстрировали 100% резистентность к полусинтетическим пенициллинам и

карбопенемам. НГОБ были абсолютно устойчивы к глицилциклам, 40,6% штаммов устойчивы к цефалоспорином III поколения, 40,0% – к сульфаниламидам, 25,0% – к аминогликозидам.

В ОРИТ Национального госпиталя все выделенные изоляты отличались высоким уровнем устойчивости к подавляющему числу антибактериальных препаратов из группы бета-лактамов, чуть менее чувствительными штаммы оказались к цефалоспорином IV поколения и карбопенемам. Фторхинолоны проявляли большую активность: уровень устойчивости грамположительных бактерий составил 22,7%, кишечных палочек – 32,6%, энтеробактерий – 33,6%, неферментирующих бактерий – 24,1%.

#### **Выводы:**

1. В ОРИТ ПЦ в структуре микрофлоры, преобладают бактерий семейства Enterobacteriaceae, а в структуре микрофлоры пациентов Национального госпиталя педиатрии – НГОБ. В отделениях сравниваемых медицинских организаций среди всех выделенных штаммов наиболее часто определялись микроорганизмы *E. coli* и родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, а также *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Stenotrophomonas*.

2. В ПЦ *E. coli* обладали высокой устойчивостью к полусинтетическим пенициллинам – 30,0%, цефалоспорином II поколения – 29,4% и аминогликозидам – 20,9%. УПЭ устойчивы к полусинтетическим пенициллинам и карбопенемам; НГОБ были 100% резистентные к глицилциклам, 40,6% штаммов устойчивы к цефалоспорином III поколения, 40,0% – к сульфаниламидам, 25,0% – к аминогликозидам. В НГП имеет место циркуляция генетически однородных госпитальных штаммов микроорганизмов, хорошо адаптированных к условиям экосистемы данного стационара.

#### Литература:

1. Богомолова Н. С., Большаков Л. В, Кузнецова С. М. Проблема лечения гнойно-воспалительных осложнений, обусловленных *Acinetobacter* // Анестезиология и реаниматология. 2014. № 1. С. 26–32.
2. Гржибовский А. М. Доверительные интервалы для частот и долей // Экология человека. 2008. № 5. С. 57–60.
3. Козлова Н. С., Баранцевич Н. Е., Баранцевич Е. П. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре // Инфекция и иммунитет. 2018. № 1. С. 79–84.
4. Антибиотикорезистентность в стационаре: контролируем ли мы ситуацию? / Яковлев С. В. [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. 2010. № 55. С. 50–58.

УДК: 543.51:577.1:579

### **МЕЖВИДОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *BACILLUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

**Ульшина Д. В., Еременко Е. И., Ковалев Д. А., Рязанова А. Г., Аксенова Л. Ю., Семенова О. В., Жиров А. М., Сирица Ю. В., Бобрышева О. В., Кузнецова И. В., Писаренко С. В., Жилченко Е. Б., Куличенко А. Н.**

*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Цель работы: межвидовая дифференциация представителей рода *Bacillus* на основе данных времяпролетной масс-спектрометрии с использованием инструментов языка программирования R. Для сравнительного анализа использовали масс-спектры 214 штаммов представителей *Bacillus spp.* Белковое профилирование проводили на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex «Bruker Daltonics». Биоинформационно-статистический анализ MALDI-TOF масс-спектров возбудителя сибирской язвы позволил дифференцировать штаммы *B. anthracis* на основании выявления соответствующих групп биомаркеров. Экспериментально подтверждено, что белковые профили экстрактов культур сибирезвездного микроба качественно отличаются от представителей 7 видов бацилл: *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus weichenstephanensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cytotoxicus*. Полученные данные позволили выявить потенциальные маркеры каждого вида.

**INTERSPECIFIC DIFFERENTIATION OF MICROORGANISMS  
OF THE BACILLUS GENUS BY MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS**  
**Ulshina D. V., Eremenko E. I., Kovalev D. A., Ryazanova A. G., Aksenova L. Yu.,  
Semenova O. V., Zhironov A. M., Siritsa Yu. V., Bobrisheva O. V., Kuznetsova I. V.,  
Pisarenko S. V., Zhilchenko E. B., Kulichenko A. N.**

*FGHI «Stavropol Plague Control Research Institute» of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia*

**Abstract.** Interspecific differentiation of members of the *Bacillus* genus on the results of time-of-flight mass-spectrometry using of tools of programming language R. For comparative analysis used mass spectrums of 214 strains of the *Bacillus* spp. Protein profiling was performed on MALDI-TOF the mass-spectrometer Microflex «Bruker Daltonics». Bioinformatics and statistical analysis of MALDI-TOF of mass spectrum of anthrax causative agent made it possible differentiation strains of *B. anthracis* based on detection of groups biomarker. Demonstrated by protein profiles of extracts from cultures of the anthrax microbe qualitatively distinguish from representatives of 7 types of bacilli: *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycooides*, *Bacillus weihenstephanensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cytotoxicus*. The obtained data allowed to determine potential markers of each genus.

**Введение.** Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis* – принадлежит к обширному роду спорообразующих бактерий *Bacillus*, в котором выделяют группу *B. cereus*, включающую наряду с *B. anthracis* близкородственные *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. cytotoxocus*, *B. mycooides*, *B. pseudomycooides* и *B. weihenstephanensis*. Эти бациллы имеют высокую степень сходства фенотипических и генетических свойств, наиболее выраженную у *B. anthracis*, *B. cereus* и *B. thuringiensis*, что дало основание некоторым исследователям считать их подвидами одного вида [1].

В последнее десятилетие, помимо традиционных методов идентификации культур бактерий (бактериологические, иммунологические), получили широкое распространение молекулярные методы с целью определения специфичных генетических маркеров. С ними конкурируют по скорости и чувствительности масс-спектрометрические методы анализа биополимеров, в частности, анализ белков методом времяпролетной масс-спектрометрии с лазерно-активируемой матричной десорбцией-ионизацией (MALDI-TOF MS).

Хотелось бы отметить, что в настоящее время предпринимаются усилия, направленные на создание представительной библиотеки спектров с целью достижения однозначной дискриминации *B. anthracis* от близкородственных бацилл с помощью коммерчески доступных платформ. Параллельно с этим, активно развивается направление по разработке алгоритмов анализа полученных масс-спектрометрических данных. В частности, Pauker с соавторами (2018) с этой целью использовали статистический анализ на основе языка программирования, где после предварительной обработки и усреднения спектров с использованием R (<https://www.r-project.org/>) в пакете «MALDIquant», данные были проанализированы на наличие конкретных белковых биомаркеров *B. anthracis*, отличающих этот патоген от *Bacillus* spp. (R-скрипт в S3). Данный анализ позволил создать собственную референс-библиотеку спектров, позволяющую идентифицировать *B. anthracis* с более высоким коэффициентом совпадения [2].

Таким образом, существует потребность в разработке доступного и эффективного информационного алгоритма обработки данных MALDI-TOF MS для идентификации *B. anthracis*.

**Цель.** Межвидовая дифференциация представителей рода *Bacillus* на основе данных времяпролетной масс-спектрометрии с использованием инструментов языка программирования R.

**Материалы и методы.** В работе использованы 32 штамма *B. anthracis* из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (в том числе 8 штаммов, выделенных при вспышке сибирской язвы на

Ямале в 2016 году). Для сравнительного анализа использовали масс-спектры белковых экстрактов представителей рода *Bacillus*: *B. anthracis* (129 штаммов), *B. cereus* (118 штаммов), *B. thuringiensis* (8 штаммов), *B. megaterium* (8 штаммов), *B. cytotoxicus* (11 штаммов), *B. mycoides* (5 штаммов), *B. subtilis* (26 штаммов), *B. weichenstephanensis* (6 штаммов), находящихся в открытом доступе (<https://zenodo.org>).

**Приготовление микробной взвеси возбудителя сибирской язвы.** Для исследования использовали двухсуточные культуры *B. anthracis*, выращенные из отдельной колонии на пластинках LB-агара при 37°C. Суспендировали 1 микробиологическую петлю чистой вегетативной культуры *B. anthracis* в 500 мкл дистиллированной воды.

**Получение масс-спектров.** Белковую экстракцию культур сибиреязвенного микроба проводили смесью 70% муравьиной кислоты и ацетонитрила. Масс-спектры получали в линейном режиме на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, Германия) в диапазоне масс 2000–20000 Da. Для управления прибором, включая установку режимов работы и регистрации масс-спектров, использовали программный пакет Daltonics flexControl v 3.3.64 (Bruker Daltonics, Германия).

Статистический анализ и визуализацию полученных данных осуществляли с помощью интегрированных пакетов «MALDIquant», «MALDIquantForeign», «sda» (<https://cran.r-project.org/web/packages/rgl/index.html>), (<http://strimmerlab.org/software/malDIquant/>) языка программирования R (<https://cran.r-project.org/>) и Mass-Up (<http://sing.ei.uvigo.es>).

Построение дендрограммы на основании масс-спектрометрических данных проводили средствами программного пакета «MALDIquant» (cluster method: «ward.D2»).

**Результаты и обсуждение.** В ходе сравнительного анализа белковых профилей штаммов *B. anthracis* с остальными представителями рода *Bacillus*: *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. cytotoxicus*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. weichenstephanensis*, были установлены уникальные для каждой группы биомаркеры (таблица).

**Таблица.** Значения m/Z общих фрагментов (частота встречаемости 85–99%), специфичных для представителей рода *Bacillus*

Вид штамма	Уникальные общие фрагменты (частота встречаемости 85–99%) m/Z, Da
<i>B. anthracis</i> (получены в ходе работы)	2167; 2707; 2813; 3068; 3595; 4452; 4737; 5591; 6382; 6680; 6832; 7241; 9328; 9735; 9961; 10430
<i>B. anthracis</i> ( <a href="https://zenodo.org">https://zenodo.org</a> )	3149; 3348; 3434; 3557; 3593; 3692; 4622; 4882; 4923; 4970; 5205; 5277; 5539; 6697; 6869; 7115; 7384; 9761
<i>B. cereus</i>	2908; 3118; 3541; 6836
<i>B. cytotoxicus</i>	3086; 3366; 3653; 3932; 4046; 4553; 4642; 5134; 5268; 5478; 5511; 5569; 5637; 6410; 6550; 6732; 6841; 6920; 7106; 7414; 8092; 8664;
<i>B. megaterium</i>	2604; 3134; 3297; 3866; 4676; 4809; 5019; 5158; 5208; 5451; 5833; 6406; 6580; 6631; 6750; 6897; 7215; 7508; 8026; 8619; 8775; 8884; 8991; 9352; 9621; 9756; 10043; 10318; 10412; 10698; 11059; 11536
<i>B. mycoides</i>	1981; 2020; 4830; 5218; 5420; 9003; 9161; 9984; 10517; 10663; 11219
<i>B. weihenstephanensis</i>	2300; 5221; 9011; 9150; 9277; 9676; 10324; 10509; 11223
<i>B. thuringiensis</i>	4612; 6357; 7931

Вместе с тем, на масс-спектрах штаммов *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. weihenstephanensis*, которые принято относить к отдельной группе, выявлено 8 общих сигналов (m/z ± 5 Da): 3684, 4334, 5172, 5887, 6263, 7368, 8058, 9212, частота встречаемости которых 85–99%. При этом масс-спектры штаммов *B. cytotoxicus* и *B. megaterium* содержали только три общих биомаркера (m/z ± 5 Da): 4334, 5172, 6263.

В ходе дальнейшего анализа протеомных профилей были отмечены пики, общие для масс-спектров штаммов *B. anthracis* и *B. cytotoxicus* (m/z ± 5 Da): 3420, 3653, 3696, 4881, 5954, 9759; и один общий биомаркер для *B. anthracis* и *B. megaterium* (m/z ± 5 Da): 5206.

При сравнении белковых профилей сибирезвенного микроба со штаммами *B. subtilis* общих сигналов не обнаружено.

В ходе MALDI-TOF MS анализа культур сибирезвенного микроба было выявлено 17 биомаркеров, специфичных для исследуемых штаммов *B. anthracis*, что позволило дифференцировать указанные штаммы от остальных представителей рода *Bacillus*, включая близкородственные бациллы из группы *Bacillus cereus* (таблица).

По итогам кластерного анализа масс-спектрометрических данных была построена дендрограмма, на которой штаммы *B. anthracis* формировали отдельную группу (бутстреп-вероятность 99%), что полностью согласуется с их таксономическим положением относительно близкородственных бацилл.

**Заключение.** Таким образом, на основании полученных данных, можно сделать вывод о том, что использование средств языка программирования R для анализа масс-спектров белковых экстрактов позволяет дифференцировать штаммы возбудителя сибирской язвы от представителей 7 видов близкородственных бацилл. Кроме того, была подтверждена достаточная дискриминирующая способность метода MALDI-TOF MS для межвидовой дифференциации исследуемого возбудителя на основании выявления группы видоспецифичных биомаркеров (частота встречаемости  $\geq 85\%$ ,  $p < 0,05$ ).

Литература:

1. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence / E. Helgason [et al.] // *Appl Environ Microbiol.* – 2000. – V.66, № 6. – P. 2627–2630.
2. Improved discrimination of *Bacillus anthracis* from Closely Related Species in the *Bacillus cereus sensulato* Group based on MALDI-TOF Mass Spectrometry / V.I. Pauker [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2018. – doi: 10.1128/JCM.01900-17.

УДК: 579.843.1:616.074/077:543

**АЛГОРИТМ АНАЛИЗА ДАННЫХ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ  
ШТАММОВ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА С ПРИМЕНЕНИЕМ  
ИСКУССТВЕННЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ**

**Чемисова О. С., Водопьянов А. С., Полеева М. В., Водопьянов С. О., Сагакянц М. М.**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Разработана система дифференциации штаммов холерного вибриона на основе данных масс-спектрометрии с применением искусственной нейронной сети и показана возможность определения принадлежности к O1 серогруппе и эпидемиологической значимости у штаммов *V. cholerae*.

**THE ALGORITHM FOR MASS SPECTROMETRY DATA ANALYSIS OF *VIBRIO*  
*CHOLERAЕ* STRAINS USING ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS**

**Chemisova O. S., Vodop'yanov A. S., Poleeva M. V., Vodop'anov S. O., Sagakyants M. M.**

*Research Institute for Plaque Control, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** Developed a system for differentiation of *Vibrio cholerae* strains based on data of mass spectrometry with the use of artificial neural networks. the possibility of determining of serotyping and virulence detection is shown.

**Введение.** Несмотря на прилагаемые мировым сообществом усилия, холера продолжает оставаться довольно актуальной проблемой для общественного здравоохранения. Этим объясняется необходимость проведения постоянного мониторинга за циркуляцией холерного вибриона в объектах окружающей среды. Вместе с тем, тактика противоэпидемических мероприятий напрямую зависит от серогруппы и наличия генов

холерного токсина у выделяемых вибрионов, что делает актуальной разработку соответствующих методов исследования.

Одним из перспективных методов исследования является времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-ToF). Существенными преимуществами данного метода являются низкая себестоимость проводимых исследований и возможность анализировать большое количество штаммов за короткий период времени. Однако программное обеспечение, поставляемое производителем, предполагает проведение идентификации микроорганизмов до вида и не позволяет определять серогруппу и токсигенность холерных вибрионов. Изучение коллекции штаммов рода *Vibrio*, проведенное специалистами ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, позволило провести не только межвидовую, но и внутривидовую идентификацию. Так штаммы, изолированные на вспышке холеры в г. Южно-Сахалинске в 1999 г., попали в отдельный кластер. Однако при этом авторам не удалось выявить закономерностей для дифференциации токсигенных и атоксигенных штаммов [1].

Чайка С.О. с соавт. (2018) был предложен в качестве белкового маркера, характерного для *ctx+* штаммов *V. cholerae*, рассматривать пик 3202 *m/z*. Однако, при снятии масс-спектров штаммов холерного вибриона, имеющихся в коллекции ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, нами корреляции между присутствием пика 3202 *m/z* и наличием гена холерного токсина выявлено не было.

Вместе с тем одним из универсальных методов анализа данных, в том числе масс-спектрометрии, является метод искусственных нейронных сетей (ИНН). Нейронные сети – это одно из научных направлений исследований в области искусственного интеллекта, основанное на попытках воспроизвести нервную систему человека, а именно: способность программы обучаться и исправлять ошибки, что должно позволить смоделировать, хотя и достаточно грубо, работу человеческого мозга. Данный метод анализа широко применяется в самых различных областях науки, в том числе и при изучении особо опасных инфекций [2, 3].

**Цель** настоящего исследования состояла в разработке системы дифференциации токсигенных и нетоксигенных штаммов холерного вибриона на основе данных масс-спектрометрии с применением искусственной нейронной сети.

**Материалы и методы.** В работе использовали коллекцию из 238 штаммов холерного вибриона, включавшую в себя как музейные образцы, так и штаммы, выделенные в рамках мониторинга за холерой в 2016-2018 годах. Масс-спектрометрию проводили на приборе Autoflex (Bruker Daltonics, Германия) с использованием метода экстракции этанолом/муравьиной кислотой, в качестве матрицы применяли  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричную кислоту.

Программное обеспечение разрабатывали на языках программирования Java с использованием пакета Encog [6]. Идентификацию пиков проводили в среде R с помощью пакета MaldiQuant [5].

**Результаты и обсуждение.** Для реализации поставленной цели нами был создан программный комплекс «Гоша версия 2.0», состоящий из собственно нейронной сети, программы для её обучения и программы для работы с уже обученной нейронной сетью.

Для обучения нейронной сети были случайным образом отобраны 158 штаммов. При этом на входной слой нейросети подавались данные пик-листов, а на выходной нейрон – наличие (100) или отсутствие токсина (0) у данного штамма. Обучение проводилось до достижения суммарной ошибки 0.001. Аналогично было проведено обучение нейросети с целью определения принадлежности к O1 серогруппе биовара Эльтор. В результате данного этапа работы были получены две независимые искусственные нейронные сети, каждая из которых была предназначена для выявления отдельного признака.

Тестирование разработанной нейросети проводилось с использованием оставшихся 80 штаммов, не использованных на этапе обучения. При этом значение выходного нейрона (score) в пределах от 60 до 100 расценивали как наличие признака; от 0 до 40 – как отсутствие признака; диапазон от 41 до 59 – как сомнительный результат.

В результате все 64 штамма холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп, выявленные в рамках мониторинга за холерой в Ростове-на-Дону, были правильно идентифицированы с помощью нейронной сети как не имеющие признаков O1 серогруппы и токсигенности со значением score от 0 до 38. Для атоксигенного штамма *Vibrio cholerae* O1 L9, выделенного в реке Темерник в 2016 году была определена принадлежность к O1 серогруппе со значением score 85 и показано отсутствие токсигенности (показатель score 6), что также расценивается нами как правильная идентификация.

Коллекционный штамм *Vibrio cholerae* O139 16065 был ошибочно распознан как принадлежащий серогруппе O1. Для штамма *Vibrio cholerae* O139 17785 был получен сомнительный результат определения серогруппы. При определении токсигенности в двух случаях (штаммы *Vibrio cholerae* 16303 и 19435) получен сомнительный результат и один штамм *Vibrio cholerae* 19438 ошибочно определен как токсигенный. Вместе с тем, указанный штамм, в отличие от остальных атоксигенных штаммов, взятых в исследование, содержит ген токсин корегулируемых пилей (*ctxAB*-, *tcpA*+). Возможно, расширение коллекции за счет штаммов с подобной характеристикой позволит в дальнейшем избежать подобной ошибки.

**Заключение.** Таким образом, из 80 штаммов, использованных для проверки разработанной нейронной сети, 75 штаммов (93%) были идентифицированы правильно, в то время как два штамма были идентифицированы с ошибкой, а для трех штаммов получен сомнительный результат. Полученные результаты согласуются с данными литературы, посвященными внутривидовому типированию с помощью масс-спектрометрии. Так при изучении коллекции штаммов *Klebsiella pneumoniae* специфичность выявления гипервирулентных вариантов составляла 90–94% [7]. А использование MALDI-TOF для дифференциации нозокомиальных изолятов *Enterococcus faecium* от остальных штаммов *Enterococcus faecium* показало специфичность 87% [8].

Таким образом, показана возможность выявления принадлежности к O1 серогруппе и определение эпидемиологической значимости (наличие генов токсина *ctxAB*) у штаммов холерного вибриона на основе нейросетевого анализа данных масс-спектрометрии. Полученные данные позволяют рекомендовать разработанную методику использования искусственной нейронной сети для дифференцирования токсигенных и атоксигенных штаммов холерного вибриона на основе данных масс-спектрометрии для проведения крупномасштабного скринингового анализа на этапе отбора колоний с последующим углубленным изучением подозрительных клонов по всем необходимым тестам.

#### Литература:

1. Афанасьев М.В., Миронова Л.В., Басов Е.А., Остяк А.С., Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Балахонов С.В. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ в ускоренной идентификации микроорганизмов рода *Vibrio* // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2014. № 3. С. 22–29.
2. Евстегнеева В.А., Честнова Т.В., Смольянинова О.Л. О нейросетевом моделировании и прогнозировании эпизоотий туляремии на территории Тульской области // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. № 1. С. 9.
3. Сафронов В.А., Лопатин А.А., Дальвадянц С.М. Искусственные нейронные сети в прогнозировании эффективности средств специфической профилактики чумы // Проблемы особо опасных инфекций. 2007. № 1 (93). С. 76–81.
4. Чайка С.О., Телесманич Н.Р., Ломов Ю.М. MALDI-TOF масс-спектрометрическая идентификация маркера токсигенности *Vibrio cholerae* // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2018. № 2. С. 112–113.
5. Gibb S., Strimmer K. MALDIquant: a versatile R package for the analysis of mass spectrometry data // Bioinformatics. 2012. 28: 2270-2271.
6. Heaton. J. Encog: Library of Interchangeable Machine Learning Models for Java and C# // Journal of Machine Learning Research. 2015. 16: 1243–1247.



7. Huang Y., Li J., Gu D., Fang Y., Chan E.W., Chen S., Zhang R. Rapid Detection of K1 Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* by MALDI-TOF MS // Front Microbiol. 2015. Dec 21;6:1435. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01435>.
8. Lasch P, Fleige C, Stämmler M, Layer F, Nübel U, Witte W, Werner G. Insufficient discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry for typing of *Enterococcus faecium* and *Staphylococcus aureus* isolates // J Microbiol Methods. 2014. May;100:58-69. [https://doi:10.1016/j.mimet.2014.02.015](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.02.015) Source: PubMed.

УДК: 616-002.2

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БЛАСТОЦИСТОЗА ПО БИОПТАТАМ

Щербаков И. Т., Леонтьева Н. И., Грачева Н. М., Соловьева А. И.,  
Лиханская Е. И., Воропаев А. Д.

ФГБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Аннотация.** В работе приводятся результаты изучения биоптатов слизистой оболочки разных отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Исследования позволили определить частоту обнаружения, локализацию и наиболее часто встречаемые жизненные формы бластоцист в разных отделах ЖКТ.

## MORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF BLASTOCYSTIS USING BIOPSY

Sherbakov I. T., Leontyeva N. I., Gracheva N. M., Solovyeva A. I.,  
Likhansaya E. I., Voropaev A. D.

*G.N. Gabrichevskii Epidemiology and Microbiology Research Institut, Moscow, Russia*

**Abstract.** The results of the study of biopsy specimens of the mucous membrane of different parts of the gastrointestinal tract present here. Studies have made it possible to determine the frequency of detection, localization, and the most frequently encountered spider forms of the blastocyst in parts of the gastrointestinal tract.

**Введение.** Известно, что бластоцистоз протозойная инвазия, вызываемая бластоцистами человека (*Blastocystis hominis*). Этот паразит относится к типу простейшие (*Protozoa*), подтип саркодовые (*Sarcodina*), [1-2]. Впервые же о бластоцистозе упоминает E. Brumpt (1912) [3].

В последние 10 лет проблеме бластоцистоза посвящено более 10 публикаций, отражающих разные стороны морфологии паразита при этой инвазии, патогенеза и особенностям клинических проявлений [4-5]. Морфологически различают 6 жизненных форм: вакуолярную, гранулярную, амёбоидную, цистную, мультивезикулярную и клесторную [7-8]. Наиболее часто встречаются первые три формы.

У больных с хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и хроническим дерматитом вакуолярная форма бластоцист обнаруживается в 60–70% случаев, гранулярная форма этого паразита встречается с частотой в 22–25%, а амёбоидная выявляется в 12,3–20,0% случаев [9-13].

В последние 20 лет данные по доказательному описанию морфологии бластоцист под световым микроскопом скудны и вариабельны, что затрудняет расшифровку их жизненного цикла, и он может быть представлен в виде гипотетической схемы чередования четырех морфологических форм паразита: вакуолярной, гранулярной, амёбоидной и цистной [7].

**Цель работы** – выявить частоту встречаемости бластоцист и их основных жизненных форм в биоптатах слизистой оболочки (СО) разных отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

**Материалы и методы.** Гистологическим, гистохимическим и морфометрическим методами изучено 72 биоптата СО разных отделов ЖКТ. Биоптаты СО ЖКТ были получены при эзофагогастродуоденоскопии и фибрволоконной колоноскопии от 21 больных обоого

пола. Женщин было 15, а мужчин – 6 человек. Возраст пациентов варьировал от 56 до 78 лет. СО тела желудка была изучена у 6 больных, из антрального отдела желудка – у 26 человек, из 12-ти перстной кишки – у 12 человек, и из толстой кишки – у 26 пациентов. Всем больным наряду с эндоскопическим исследованием СО разных отделов ЖКТ проводили гистологическое, гистохимическое и морфометрическое изучение биоптатов. Гистологическое исследование биоптата сводилось к выведению общего гистологического заключения. Гистохимическое изучение биоптатов – к окраске 0,1% раствором альцианового синего с верификацией в слизи кислых гликопротеинов, а морфометрическое исследование биоптатов – к идентификации в них бластоцист, с морфологической верификацией в них трех часто встречающихся жизненных форм паразита.

В гистологических препаратах выявляли бластоцисты – клетки округлой и овальной формы с азурофильной гомогенной цитоплазмой, в поперечнике не более 50 мкм. Бластоцисты располагались на поверхности покровного и ямочного эпителия желудка, редко в просвете желудочных ямочек, каёмчатых эпителиоцитов и в просвете кишечных желез 12-ти перстной кишки, а также на поверхностном эпителии кишечных желез СО толстой кишки (СОТК).

**Результаты и обсуждение.** При окраске биоптатов по Майн-Грюнвальду частота обнаружения разных форм бластоцист составила 45,8%. При этом на поверхности и ямочном эпителии СО тела желудка их верифицировали в 12,4% случаев, в антральном отделе – в 50,0%, на СО 12-ти перстной кишки – в 12,5%, на СОТК – в 25,2%. Вакуолярные формы бластоцист встречались в 65,4% случаев, гранулярные в 27,7%, а амебоидные – в 6,9%. Очень редко на поверхности СО антрального отдела желудка обнаруживали единичные спорозоиты криптоспоридий. Дисплазия СО ямочного эпителия тела желудка и такового антрального отдела встречалась с частотой от 2,8 до 4,2%, соответственно. В СО 12-ти перстной кишки (СОДПК) дисплазия всасывательного каемчатого эпителия отсутствовала. В СОТК она не превышала 2,8%. Лимфофолликулярная гиперплазия в СО разных отделов ЖКТ встречалась в 5,5% случаев.

Известно, что бластоцистоз это СПИД-ассоциированная оппортунистическая инвазия, которая своими клиническими проявлениями, чаще всего регистрируется у пациентов (детей и взрослых) с ослабленным иммунитетом [4]. У больных с хроническими заболеваниями ЖКТ и кожи бластоцистоз в субклинической форме встречается у подавляющего числа пациентов в 60–80% случаев [4]. Несмотря на широкое распространение бластоцистоза, до настоящего времени его диагностика на светооптическом уровне имеет значительные сложности. В последние годы наряду с морфологическими методами, диагностика бластоцистоза осуществляется с помощью полимеразной цепной реакции [6]. Светооптическая верификация бластоцист используется при расшифровке ОКИ инвазий. И до настоящего времени остается актуальной проблемой. Еще более современной считается морфологическая диагностика бластоцистоза по биоптатам СО разных отделов ЖКТ, позволяющего верифицировать разные жизненные формы бластоцист не только в просвете пищеварительной трубки, но и на СО оболочке разных отделов желудка, ДПК и толстой кишки [7]. Проведенными исследованиями показана возможность верификации и идентификации основных жизненных форм бластоцистов при применении окраски биоптатов СО ЖКТ по Майн-Грюнвальду.

**Заключение.** Впервые в отечественной литературе, используя комплексную окраску биоптатов по Майн-Грюнвальду, удалось определить % частоты встречаемости бластоцист в разных отделах СОЖКТ, а также осуществить дифференцированное выявление в биоптатах трех основных жизненных форм этих простейших (вакуолярную, гранулярную и амебоидную).

#### Литература:

1. Чебышев Н. В., Сергиев В. П., Медицинская протозоология. Учебное пособие. М. «Геотар-Медиа». 2012. С. 90–93.
2. Zierdt C. H. *Blastocystis hominis* – past and future // *Clinical Microbiology Reviews*. – 1991. – Т. 4. – № 1. – С. 61–79.

3. Brumpt E. Colite a *Tetramitus mesnili* (Wenyon 1910) et colite a *Trichomonas intestinalis* Leuchart 1879 – *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines // Bull. Soc. Pathol. Exot. 1912. Т. 5. P. 725–730.
4. Чайка Н. А. Бластицидоз и СПИД // Медицинская паразитология. – 1992. – № 4. – С. 48–51.
5. Сергиев В. П., Лобзин Ю. В., Козлов С. С. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы). Руководство для врачей // С.Пб. - Фолиант. – 2011. – С. 69–72.
6. Тихонова Д. В., Волкова И. В., Морозов Е. Н., Федянина Л. В. ДНК-диагностика бластоцидоза с помощью метода ПЦР // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2012. – №. 4. – С. 27–29.
7. Продеус Т. В., Федянина Л. В., Фролова А. А. Морфологическая идентификация бластоцист // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2014. – № 1. – С. 9–13.
8. Бугеро Н. В., Потатуркина-Нестерова Н. И. Результаты определения вирулентности *Blastocystis spp.* Методом рестриционного анализа ДНК простейших // Фундаментальные исследования. – 2012. – Т. 5. – № 11(часть 5). – С. 1049–1054.
9. Билимова С. И. Характеристика факторов персистенции энтерококков // ЖМЭИ. – 2000. – № 4. – С. 104–105.
10. Фалова ОС Особенности микрофлоры кишечника при псориазе на фоне инвазии *Blastocystis hominis*. Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд мед наук. 2004, С. 180.
11. Ильина Н. А. Микробиоценоз кишечника человека при бластоцистной инвазии и воздействии *B. hominis* на макроорганизм. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. 2006, 42 с.
12. Сигидаев А. С. Клинико-лабораторная характеристика бластоцистной инвазии у больных НВС-инфекцией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук 2012, 16 с.
13. Гамаюнова И. Г. Синдром избыточного бактериального роста при псориазической болезни на бластоцистной инвазии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук 2009, 24 с.

УДК: 579.843.1:612.017.4:615.373

## **ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОРЕАГЕНТОВ И ПРИМЕНЕНИЕ ИХ В ДИАГНОСТИКЕ ХОЛЕРЫ**

**Якушева О. А., Алексеева Л. П., Зюзина В. П., Яговкин М. Э.**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону государственный ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора*

**Аннотация.** Получены высокоактивные кроличьи антитоксические сыворотки к холерному токсину (ХТ), выделенному из штамма *Vibrio cholerae classical 569В* (Инаба) и очищенному современными методами. Чистый холерный токсин и антитоксические сыворотки к нему будут использованы в диагностике холеры.

## **OBTAINING SPECIFIC IMMUNOREAGENTS AND THEIR USE IN THE DIAGNOSIS OF CHOLERA**

**Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Zuzina V. P., Yagovkin M. E.**

*Rostov-on-Don State Order of the Red Banner of Labor Research Anti-Plague Institute*

**Absrtact.** Highly active rabbit antitoxic sera were obtained for cholera toxin isolated from *Vibrio cholerae classical 569b* strain (Inaba) and then purified by modern methods. The purified cholera toxin and antitoxic serum to it will be used for diagnosis of cholera.

**Введение.** Определение токсигенности штаммов холерных вибрионов имеет решающее значение для проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий. Несмотря на то что в последние годы разработаны и внедрены в практику высокочувствительные иммунохроматографические и молекулярные методы, они не всегда позволяют обнаружить холерный токсин, так как штаммы *Vibrio cholerae* O1 и O139 продуцируют его в среде культивирования в низких количествах. В настоящее время остро стоит проблема создания новых экспрессных тест-систем, простых в применении, с высокой

чувствительностью и специфичностью и в большей степени отвечающих требованиям количественного учета исследуемого агента. Наиболее ответственным этапом при разработке любой тест-системы является получение специфических иммунореагентов, таких как высокоочищенные антигены, определяющие чувствительность и специфичность анализа.

**Цель работы.** Выделение и очистка препарата холерного токсина, получение к нему высокоспецифичных сывороток для конструирования диагностических тест-систем.

**Материалы и методы.** В работе был использован штамм *Vibrio cholerae classical 569В* серовара Инаба. Исходным материалом для выделения ХТ служил центрифугат бульонной культуры, обеззараженный мертиолятом (1:10000). Для оптимального выхода ХТ использовали жидкую питательную среду по прописи Нуан [6], включающую (на 1 л) 10 г дрожжевого экстракта; 30 г казаминовых кислот; 50 мг триптофана; 20 мг сульфата магния; 1,31 г двузамещенного фосфорнокислого натрия; 130 мг однозамещенного фосфорнокислого калия, рН 7,8. В этой среде клетки *V. cholerae classical 569В* выращивали при 32°C в течение 18 часов с дополнительной аэрацией.

На начальном этапе концентрирование и очистку проводили с использованием ультрафильтрационной установки Amicon с мембранами PM-10-30. Дальнейшую очистку осуществляли методом ионообменной хроматографии на приборе FPLC Pathfinder Duoflow (Bio-Rad). Для этого препарат наносили на катионообменную колонку monoS (Pharmacia).

Количество ХТ и иммунохимическую активность определяли иммуноферментным методом в реакции – GM1-ИФА [2].

Примеси О-антигена ЛПС в препаратах регистрировали методом дот-ИФА с помощью реагентов «Имуноглобулины моноклональные диагностические, меченные пероксидазой хрена» [1].

Электрофорез энтеротоксина проводили по U.K. Laemmlі [8]. Концентрацию белка определяли по Лоури [9]. Биологическую активность ХТ оценивали на перевиваемой клеточной линии СНО-К1(овариальные клетки китайского хомячка) [5]. Нейтрализацию действия ХТ осуществляли с помощью антитоксической сыворотки.

В наших экспериментах использовали очищенный препарат токсина из *V. cholerae 569В* для иммунизации кроликов обоего пола массой 2,5–3,0 кг. Отработано было две схемы иммунизации – с применением адьюванта и без.

**Результаты и обсуждение.** Выход чистого препарата холерного токсина после ионообменной хроматографии на приборе FPLC Pathfinder Duoflow (Bio-Rad) с колонкой monoS (Pharmacia) составил 0,38% от общего количества белка в исходном препарате.

Электрофоретический контроль чистоты ХТ показал наличие двух мажорных полос, соответствующих субъединице А в районе 24–26 кДа и субъединице В на уровне 11–12 кДа. и отсутствие примесных компонентов в виде белков. Отсутствие ЛПС было доказано с помощью реагентов «Имуноглобулины моноклональные диагностические, меченные пероксидазой хрена» в реакции дот-ИФА.

Биологическая активность ХТ в виде удлинения перевиваемых клеток СНО-К1, зарегистрирована, начиная с дозы 1 мкг/мл и ниже. После обработки токсина антитоксической сывороткой отсутствовали морфологические изменения клеток СНО-К1, что свидетельствует о полной нейтрализации токсического действия.

Имеются сведения [7], что наиболее предпочтительным является внутрикожный путь введения, так как в этой области быстрый лимфоток и низкая сосудистая абсорбция. Кроме того в коже много дендритных клеток Лангерганса, способствующих переносу ХТ к лимфатическим узлам. Поэтому для первой схемы иммунизации был выбран внутрикожный путь введения холерогена в количестве 200 мкг. Для снижения воспалительного ответа ХТ вводили двукратно с интервалом в один месяц в 20 точек на спине. После первого этапа иммунизации титр специфических антител к ХТ в GM1-ИФА был низким – 1/10000. Повторная иммунизация не дала желаемого результата – титр повысился до 1/20000. Поскольку поставленная цель-получение высокоактивных сывороток не была достигнута, использовали вторую схему для иммунизации.

Она проводилась трехкратно с 2-х недельными интервалами между инъекциями ХТ. При этом 100 мкг холерогена вводили в вену уха и 200 мкг в смеси с полным адьювантом Фрейнда – в холку кролика. Дважды осуществляли забор крови после второго и третьего введения холерогена для предварительной оценки динамики титра специфических антител к ХТ. Результаты определения активности сывороток в GM<sub>1</sub>-ИФА свидетельствовали о нарастании титра антитоксических антител. Через две недели после последней иммунизации кроликов был проведен окончательный забор крови и получены сыворотки для дальнейшей работы.

Рабочее разведение экспериментальных серий сывороток в GM<sub>1</sub>-ИФА с ХТ, адсорбированным на планшете, колебалось в пределах 1/40000 – 1/80000. При этом оптическая плотность опытных образцов в 5–6 раз превышала отрицательный контроль. В реакции преципитации с ХТ показатели титров равнялись 1:8 – 1:16 в зависимости от серии сыворотки. Их проверка на специфичность показала, что они не вступают в реакцию с супернатантами нетоксигенных штаммов и препаратами ЛПС, выделенными из клеток представителей *V. cholerae* O1 и O139.

**Заключение.** В результате применения различных методических приемов, включающих определенные условия культивирования штамма-продуцента, ультрафильтрацию и ионообменную хроматографию, получен очищенный препарат ХТ. Контроль его чистоты в ПААГ свидетельствует, что он лишен белков-контаминантов и ЛПС. На модели культуры клеток СНО-К1 показана достаточно высокая биологическая активность очищенного ХТ. Кроме того, в зарубежных работах было показано, что чувствительность диагностических тест-систем значительно повышается, если наряду с моноклональными антителами в качестве первых антител, адсорбированных на пластике, используются поликлональные антитоксические антитела [3, 4].

Таким образом, сыворотки, полученные к ХТ, могут использоваться как самостоятельные реагенты, так и входить в состав тест-систем, предназначенных для детекции холерного токсина.

#### Литература:

1. Евдокимова, В.В. Иммуноферментные методы анализа в диагностике холеры / В.В. Евдокимова, Л.П. Алексеева, О.Ф. Кретенчук, В.Д. Кругликов, И.В. Архангельская, О.С. Бурша // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – № 5. – С. 303–307.
2. Сальникова, О.И. Чувствительность культуры клеток СНО-К1 и ТИФА при тестировании холерного токсина *in vitro* / О.И. Сальникова, Л.П. Алексеева, Л.С. Подосинникова, В.В. Лобанов и др. // Пробл. комиссия «Холера и патоген. для человека вибрионы». – Ростов-на-Дону, 1999. – В. 12. – С. 83–84.
3. Butler J.E. Behavior of antigens and antibodies immobilized on the solid phase. In: MHV Van Regenmortel, ed. The structure of antigens. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992: 209–259. V. 1, 209; CRC Press, Inc.
4. Crowther, John R., Molecular Biology Techniques, ELISA Guide. Second edition. Humana Press, part of Springer Science + Business Media, LLC 2009.
5. Guerrant, R.L. Cyclic adenosine monophosphate and alteration of Chinese hamster ovary cell morphology: a rapid, sensitive *in vitro* assay for the enterotoxin of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* / R.L. Guerrant, L.L. Burton, T.C. Schnaitman, et al. // Infect. Immun. – 1974. – V.10. № 2. – P. 320–327.
6. Hyun, J. Improved purification process for cholera toxin and its application to the quantification of residual toxin in cholera vaccines / J. Hyun H.S., Kim J.A., Kim J.H., Seo R., Carbis // J. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – V.19., № 1. – P.108–112.
7. Hum, B.A.L. Production of reagent antibodies / B.A.L. Hum, S.M. Chantler // Methods Enzymol. 1980. – V. 70. – P. 104–142.
8. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227 (5259): – 1970. – P. 680–685.
9. Lowry, O.H. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, № 1. – P. 265–275.

## **РАЗДЕЛ 4. ДОСТИЖЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ, ПАРАЗИТОЛОГИИ**

УДК: 579.25

### **СТРУКТУРА ГЕНОМА ШТАММА *CUTIBACTERIUM (PROPIONIBACTERIUM)* *ACNES A1-14***

**Алексеева А. Е., Бруснигина Н. Ф.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Бактерии вида *Cutibacterium* (ранее *Propionibacterium*) *acnes*, с одной стороны, являются представителями нормальной микробиоты кожи человека, а с другой, при определенных условиях, могут участвовать в развитии воспалительных процессов. Для определения генотипов, обладающих высоким патогенетическим потенциалом, используются различные молекулярно-генетические подходы. В работе проведено полногеномное секвенирование штамма *Cutibacterium acnes* A1-14, выделенного из толстого кишечника здорового человека. В результате выравнивания и объединения была получена полная нуклеотидная последовательность генома длиной 2,5 тысяч пар нуклеотидов. Согласно данным генотипирования штамм относится к фило типу II, риботипу 6 и сиквенс-типу 7 (схема McDowell A. с соавторами) или 73 (схема Lomholt H. B., Kilian M.). Показано, что в геноме *C. acnes* отсутствуют мобильные элементы, детерминанты патогенности и антибиотикорезистентности, мутации в генах 16S рРНК, 23S рРНК, установлено наличие CRISPR-Cas структуры.

**Ключевые слова:** *Cutibacterium acnes*; полногеномное секвенирование; MLST, генотипирование; факторы патогенности и антибиотикорезистентности, CRISPR-Cas.

### **GENOME STRUCTURE OF *CUTIBACTERIUM (PROPIONIBACTERIUM)* *ACNES STRAIN A1-14***

**Alekseeva A. E., Brusnigina N. F.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** Bacteria of the species *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* are usually resides as a harmless commensal, but in some cases contribute the development of various inflammatory processes. To determine epidemically significant genotypes with high pathogenetic potential and low pathogenic commensals genotypes the different molecular genetic approaches are used. The whole genome sequencing of *Cutibacterium acnes* strain A1-14, isolated from healthy person intestine, was carried out. After the assembly a draft genome of near 2.5 thousand base pairs length was obtained. The strain refers to phylotype II, ribotype 6 and sequence type 7 (McDowell A. et al. scheme) or 73 (Lomholt H. B., Kilian M. scheme) according to the genotyping data. There are no mobile elements, determinants of pathogenicity and antibiotic resistance, mutations in the 16S rRNA and 23S rRNA genes, but the presence of a CRISPR-Cas structure are established in the genome. Thus, the results obtained in this study contribute to the broadening of the molecular genetic features of *C. acnes* strains belonging to commensal microbiota of various human biotopes.

**Key words:** *Cutibacterium acnes*; whole genome sequencing; MLST, genotyping; pathogenicity and antibiotic resistance factors, CRISPR-Cas.

**Введение.** Бактерии вида *Cutibacterium acnes* (ранее *Propionibacterium*) относятся к группе оппортунистических возбудителей, способствующих возникновению широкого круга воспалительных процессов: угревая сыпь, стоматологические и офтальмологические инфекции, осложнения после эндопротезирования за счет участия в формировании биопленок [1, 2]. Использование молекулярно-генетических методов позволяет выявить

генотипы, участвующие в развитии воспалительного процесса. Первоначально изоляты *C. acnes* были разделены на филоотипы I и II и III. Разработанные McDowell A. с соавторами [3] и Lomholt H.V., Kilian M. [4] схемы типирования позволили дифференцировать филоотипы на подтипы. По данным литературы, заболевание кожи – акне, в основном, ассоциировано с субтипом IA<sub>1</sub>, офтальмологические инфекции – со штаммами субтипов IA<sub>1</sub> и IA<sub>2</sub>. Штаммы филоотипов IB, II и III чаще обнаруживаются у здоровых носителей, а также в очагах при инфекции мягких тканей [1, 2, 3]. В исследованиях Fitz-Gibbon с соавт. [5] штаммы *C. acnes* были разделены на риботипы, среди которых выявлены определенные типы, ассоциированные с акне.

В качестве факторов патогенности *C. acnes* многими исследователями рассматриваются эстеразы, липазы, протеиназы, гемолизины и CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson)-фактор. Продукция этих ферментов при неясных условиях может инициировать развитие воспалительных процессов за счет нарушения целостности эпидермальных клеток кожи и барьерной функции стенки сальных фолликулов. Это, в свою очередь, приводит к высвобождению из соседних кератиноцитов провоспалительных цитокинов, которые будут распространяться в дерме, инициируя воспаление. Другими факторами, обладающими иммуногенными свойствами у *C. acnes*, являются порфирины, гликокаликсный полимер и белки, синтезируемые в условиях пищевого, кислотного или теплового стресса [1, 6, 7].

**Цель** – анализ структуры генома штамма *Cutibacterium acnes* A1-14, определение сиквенс-типа, поиск детерминант патогенности и антибиотикорезистентности, tandemных повторов и мобильных элементов по результатам полногеномного секвенирования.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлась чистая культура штамма *C. acnes* A1-14, выделенного из кишечника человека. Для выделения ДНК использовали набор «Ампли-Прайм ДНКсорб-В» (ЦНИИЭ, Москва). Концентрацию ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Австрия). При подготовке библиотеки ДНК для секвенирования использовали набор Nextera XT (Illumina, США). Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора MiSeq Reagent kit v2 (500cycle). Выравнивание и сборку нуклеотидных последовательностей *de novo* осуществляли с помощью программы SPAdes версия 3.5.0. Сервис BLASTN использовали для поиска гомологичных последовательностей. Сервер Rapid Annotation using Subsystem Technology использовали для аннотирования нуклеотидных последовательностей генома штамма *C. acnes* A1-14. Для определения сиквенс-типов (ST) использовали базы данных MLST: <http://pacnes.mlst.net/> и <http://pubmlst.org/pacnes/>. С помощью сервера Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>), баз данных Virulence Factors Database (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>) и Antibiotic Resistance Genes Database (<http://ardb.cbcb.umd.edu/>) осуществляли поиск детерминант патогенности и антибиотикорезистентности. Наличие интегронов и IS-элементов определяли с помощью web-сервисов Integrall (<http://integrall.bio.ua.pt/>) и IS-finder (<https://www-is.biotoul.fr/>). Поисковый сервис CRISPR-finder (<http://crispr.i2bc.paris-saclay.fr/Server/>) использовался для детекции CRISPR-Cas структур.

**Результаты и обсуждение.** В результате сборки коротких чтений *de novo* получено 11 контигов, общая длина генома составила 2 484 560 п.н. По данным аннотирования общая структура генома *C. acnes* A1-14 (таблица) соответствует структуре генома штаммов данного вида, депонированных в базе данных GenBank.

По данным анализа нуклеотидной последовательности гена *recA* исследуемый штамм относится к филоотипу II и согласно схеме Fitz-Gibbon с соавт. [5] риботипу 6, объединяющего типичных представителей симбиотической микробиоты. Полученный аллельный профиль согласно схемам Lomholt H. V., Kilian M. и McDowell A. et al. позволил отнести штамм *C. acnes* A1-14 к сиквенс-типу 73 и 7, соответственно. Отметим, что исследуемый штамм относится к достаточно редкому генотипу, поскольку только 3 штамма *Cutibacterium acnes* из 193 (на дату – март 2019) геномов, депонированных в базе данных GenBank, имеют такой же генотип и еще три – сходный, с отличиями по отдельным параметрам. Согласно источникам литературы, наиболее часто встречающимися *C. acnes* как

в волосяных фолликулах, так и на поверхности кожи, являются представители клонального комплекса CC18 (по схеме Lomholt H. B., Kilian M.), в частности, ST18 [4].

**Таблица.** Сравнительная характеристика структуры генома штамма *C. acnes* A1-14

Характеристика	Штамм <i>C. acnes</i> A1-14 (филотип II)	Штамм <i>C. acnes</i> KPA171202 (филотип I)	Штамм <i>C. acnes</i> HL042PA3 (филотип II)
Общая длина генома, п.н.	2 484 560	2 560 265	2 482 461
Число ГЦ, %	60,0	60,0	60,0
Количество белок кодирующих последовательностей	2 223	2 416	2 262
Количество тРНК	41	45	44
Количество рРНК	3	9	3
Наличие внехромосомных структур	геном бактериофага	нет	нет
Наличие CRISPR-Cas	Один участок CRISPR-Cas	нет	Один участок CRISPR-Cas

В геноме исследуемого штамма не выявлены детерминанты патогенности, связанные с инвазивностью и/или продукцией токсинов. Однако, обнаружены 5 детерминант аналогов САМР-фактора (фактор патогенности стрептококков), участвующего в связывании иммуноглобулинов IgM, IgG, и действующего как порообразующий токсин [6], детерминанты сиалидазы, эндоглицероцерамидазы, гиалуронатлиазы и эндо-бета-N-ацетилглюкозаминидазы, белков теплового шока GroEL, DnaK, DnaJ, GrpE, обладающих иммуногенными свойствами [6, 7]. При поиске детерминант антибиотикорезистентности выявлен ген *bacA*, избыточная экспрессия которого у *E. coli* способствует проявлению устойчивости к бацитрацину [8]. Мутации в генах 16SpPHK и 23SpPHK не установлены. В структуре генома исследуемого штамма мобильные элементы не обнаружены. Однако выявлен короткий участок CRISPR длиной 151 п.н., имеющий три участка прямых повторов (30 п.н.), два варибельных региона (31 п.н.) и восемь генов CRISPR-ассоциированных белков (Cas): Cas3→Cse1→Cse2→Cse4→Cas5e→Cse3→Cas1→Cas2→CRISPR. Согласно классификации Makarova et al., [9] данная структура CRISPR-Cas принадлежит субтипу I-E. Наличие CRISPR-Cas структуры характерно только для представителей филогруппы II [10].

Таким образом, впервые охарактеризована структура генома штамма *C. acnes* A1-14, выделенного из кишечника человека. Отметим, что, несмотря на нетипичный эпитоп выделения исследуемого штамма, структура его генома имеет большое сходство с типичными представителями симбиотической микробиоты кожи человека – *Cutibacterium acnes* филогруппы II.

#### Литература:

1. Achermann Y. *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen / Y. Achermann, E. J. C. Goldstein, T. Coenye, M. E. Shirtliff // Clin. Microbiol. Rev. – 2014. – V. 27. – № 3. – P. 419–440.
2. Tomida S. Pan-genome and comparative genome analyses of *Propionibacterium acnes* reveal its genomic diversity in the healthy and diseased human skin microbiome / S. Tomida, L. Nguyen, B.-H. Chiu, J. Liu, et al. // mBio. – 2013. – V. 4. – № 3. – 11 p.
3. McDowell, A. An expanded multilocus sequence typing scheme for *Propionibacterium acnes*: investigation of ‘pathogenic’, ‘commensal’ and antibiotic resistant strains / A. McDowell, E. Barnard, I. Nagy, A. Gao et al. // PLoS ONE. – 2012. – V. 7. – № 7. – 14 p.
4. Lomholt H.B. Population genetic analysis of *Propionibacterium acnes* identifies a subpopulation and epidemic clones associated with acne / H.B. Lomholt, M. Kilian // PLoS ONE. – 2010. – V. 5. – № 8 – 10 p.



5. Fitz-Gibbon S. *Propionibacterium acnes* strain populations in the human skin microbiome associated with acne / S. Fitz-Gibbon, S. Tomida, B.-H. Chiu, L. Nguyen et al. // J. Invest. Dermatol. – 2013. – V. 133. – № 9. – P. 2152–2160.
6. Lodes M. J. Variable expression of immunoreactive surface proteins of *Propionibacterium acnes* / M. J. Lodes, H. Secrist, D. R. Benson, S. Jen et al. // Microbiol. – 2006. – V. 52. – P. 3667–3681.
7. Brüggemann H. Insights in the pathogenic potential of *Propionibacterium acnes* from its complete genome / H. Brüggemann // Semin. Cutan. Med. Surg. – 2005. – V. 24. – № 2. – P. 67–72.
8. Ghachi M. E. The *bacA* Gene of *Escherichia coli* encodes an undecaprenyl pyrophosphate phosphatase activity / M. E. Ghachi, A. Bouhss, D. Blanot, D. Mengin-Lecreulx // J. Biol. Chem. – 2004. – V. 279. – № 29. – P. 30106–30113.
9. Makarova K. S. An updated evolutionary classification of CRISPR–Cas systems / K. S. Makarova, Y. I. Wolf, O. S. Alkhnbashi, F. Costa et al. // Nat. Rev. Microbiol. – 2015. – V. 13. – № 11. – P. 722–736.
10. Brüggemann H. CRISPR/cas loci of type II *Propionibacterium acnes* confer immunity against acquisition of mobile elements present in type I *P. acnes* / H. Brüggemann, H. B. Lomholt, H. Tettelin, M. Kilian // PLoS ONE. – 2012. – V. 7. – № 3. – 10 p.

УДК: 579.61

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ  
КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ  
В СТАЦИОНАРАХ РАЗЛИЧНОГО ПРОФИЛЯ**

**Борискина Е. В., Беляева Е. В., Ермолина Г. Б., Шкуркина И. С., Кряжев Д. В.**

*ФБУН НИИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Проведено сравнение антибиотикорезистентности, фагочувствительности, факторов патогенности и персистенции коагулазонегативных стафилококков, циркулирующих в различных отделениях стационаров. Свойства, способствующие персистенции бактерий, чаще выявлялись у культур из детского стационара. Наиболее выраженными агрессивными свойствами обладали штаммы *S. haemolyticus*.

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF BIOLOGICAL PROPERTIES  
OF COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI CIRCULATING  
IN HOSPITALS OF VARIOUS PROFILES**

**Boriskina E. V., Belyaeva E. V., Ermolina G. B., Shkurkina I. S., Kryazhev D. V.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** A comparison of antibiotic resistance, phage sensitivity, factors of pathogenicity and persistence of coagulase-negative staphylococci circulating in different departments of hospitals was performed. Properties that contribute to the persistence of bacteria were more often detected in cultures from the children's hospital. *S. haemolyticus* strains possessed the most expressed aggressive properties.

**Введение.** Коагулазонегативные стафилококки (КНС), являясь нормальными обитателями кожных покровов здорового человека, при определенных условиях могут стать возбудителями инфекций, связанных с поражениями кожи у детей и взрослых с ослабленной иммунной системой [1]. Таким контингентом являются госпитализированные дети периода новорожденности, особенно недоношенные, а также взрослые пациенты ожоговых и хирургических отделений на фоне дезорганизации важнейших функций органов и систем [2]. В связи с этим представляется актуальным исследование биологических характеристик экочаев КОС, циркулирующих в различных стационарах. Их возрастающая значимость в этиологии различных воспалительных процессов связана с повышенной адгезивной способностью и образованием бактериальных биопленок.

**Цель** работы – изучение антибиотикорезистентности, фагочувствительности, патогенных и персистирующих свойств коагулазонегативных стафилококков, циркулирующих в стационарах г. Н. Новгорода.

**Материалы и методы.** Объектом исследования были КНС, выделенные из раневого отделяемого пациентов ожогового и хирургического отделений стационара № 1 (82 штамма) и от детей периода новорожденности с воспалительными поражениями кожи стационара № 2 (248 штаммов) г. Н. Новгорода в 2016–2018 гг.

Идентификацию штаммов проводили согласно Приложению к приказу № 535 МЗ СССР от 22.04.1985 г., а также методом времяпролетной MALDI-TOF масс-спектрометрии на масс-спектрометре Autoflex speed (Bruker Daltonics, Германия) с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0.

Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона по МУК 4.2.1890-04. Литическую активность бактериофагов НПО «Микроген» оценивали методом «стерильного пятна», учет результатов производили по 4-х крестовой схеме согласно МР 3.5.1.0101-15. Гемолитическую активность [3] и продукцию лизоцима [4] оценивали полуколичественным методом по радиусу зоны гемолиза или задержки роста с вычетом радиуса самой колонии (мм). Пленкообразование бактерий определяли по прилипанию клеток к лункам пластикового планшета и интенсивности их окрашивания кристаллвиолетом, которая измерялась в единицах оптической плотности (ОП) при длине волны 540 нм [3]. Степень пленкообразования определяли по коэффициенту  $k$ , рассчитанному как отношение разности суммарной оптической плотности ОП<sub>540</sub> опытных образцов и контрольных к суммарной ОП<sub>540</sub> выросших в лунках планшета клеток до окрашивания.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel и Biostat 2009. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Среди КНС из стационаров № 1 и № 2 доминировали *S. epidermidis* (46,6% и 50,8%), *S. haemolyticus* (20,7% и 34,7%), *S. hominis* (14,6% и 5,7%, соответственно). Помимо этого, небольшое число изолятов относились к 10 видам стафилококков (*S. lugdunensis*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. hyicus*, *S. saccharolyticus*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. caprae* и *S. nepalensis*).

Доля метициллинрезистентных штаммов КНС, изолированных в стационаре № 2 была выше, чем в стационаре № 1: *S. epidermidis* (78,6% и 52,6%,  $p=0,004458$ ), *S. haemolyticus* (89,5% и 64,7%,  $p=0,048082$ ) и *S. hominis* (78,6% и 44,4%). Культуры КНС, доминирующие в обоих стационарах, были в основном чувствительны к гликопептидам, аминогликозидам, линкозамидам (в 64–100% случаев). При этом все штаммы КНС, выделенные в стационаре № 1, были чувствительны к ванкомицину, а в стационаре № 2 – 16,7% штаммов *S. epidermidis* и 10,5% *S. haemolyticus* были устойчивы к этому антибиотику. В обоих стационарах была выявлена большая доля культур КНС, резистентных к макролидам, пенициллинам и цефалоспорином (таблица). Более половины исследованных культур доминирующих видов КНС были чувствительны к карбопенемам, за исключением *S. haemolyticus* из стационара № 2 (66–69% резистентных штаммов).

Все исследованные штаммы КНС были в основном устойчивы к действию фиобаактериофага поливалентного (Уфа) и интести-бактериофага производства ИмБио, Нижний Новгород (58–82% культур), но чувствительны к стафилококковому бактериофагу (Нижний Новгород), причем доля фагоустойчивых штаммов *S. epidermidis* стационара № 1 была значительно меньше, чем стационара № 2 (2,6% и 18,3%, соответственно,  $p=0,000432$ ). Также в стационаре № 1 доля штаммов КНС, чувствительных к действию фиобаактериофага комплексного (Нижний Новгород), была выше, чем в стационаре № 2: *S. epidermidis* (91,9% и 43,6%,  $p=0,000001$ ), *S. haemolyticus* (70,6% и 31,4%,  $p=0,002165$ ) и *S. hominis* (88,9% и 21,4%,  $p=0,000400$ ). Что касается чувствительности к секстафагу (Пермь), то лишь культуры *S. haemolyticus* показали более высокую долю устойчивых штаммов в стационаре № 2, чем № 1 (71,0% и 41,2%, соответственно,  $p=0,026965$ ).

**Таблица.** Антибиотикорезистентность культур коагулазонегативных стафилококков, выделенных в стационарах г. Н. Новгорода (%)

Виды и количество штаммов	Антибиотики													
	Кларитромицин	Азитромицин	Оксациллин	Амоксициллин	Цефокситин	Цефтриаксон	Цефотаксим	Цефоперазон	Цефепим	Имипенем	Меропенем	Амикацин	Ванкомицин	Линкомицин
Стационар 1														
S. epidermidis 38	50,0±8,2	68,4±7,4	52,6±8,2	71,1±7,5	52,6±8,2	23,7±7,0	29,0±7,5	15,8±6,0	29,0±7,5	18,4±6,4	10,5±5,1	7,9±4,4	0	18,4±6,4
			*1		*3	*4,5,7	*11,13,15	*18,22	*23,25	*28,31	*32,34	*36	*39	*41
S. haemolyticus 17	76,5±10,6	82,4±9,5	64,7±12,0	88,2±8,1	76,5±10,6	58,8±12,3	64,7±12,0	64,7±12,0	58,8±12,3	47,1±12,5	41,2±12,3	17,7±9,5	0	35,3±12,0
			*8			*4,6,9	*11,12,16	*18,19	*23,26	*28,29	*32		*40	
S. hominis 9	77,8±14,7	77,8±14,7	44,4±17,6	55,6±17,6	55,6±17,6	0	0	22,2±14,7	22,2±14,7	11,1±11,1	11,1±11,1	0	0	22,2±14,7
						*6,7,10	*12,13,17	*19	*27	*29	*35			
Стационар 2														
S. epidermidis 126	55,6±4,4	53,2±4,5	78,6±3,7	81,8±3,5	72,0±4,5	62,7±4,3	65,9±4,2	41,3±4,4	67,5±4,2	40,5±4,4	38,1±4,3	23,8±3,8	16,7±3,3	34,1±4,2
		*42	*1,44	*45	*3,46	*5,8	*14,15	*20,22	*24,25	*30,31	*33,34	*36	*38,39	*41
S. haemolyticus 86	62,4±5,3	72,1±4,9	89,5±3,3	91,9±3,0	87,7±3,9	84,9±3,9	91,9±3,0	86,1±3,8	88,4±3,5	69,8±5,0	66,3±5,1	18,6±4,2	10,5±3,3	26,7±4,8
		*42,43	*2,44	*45	*46	*8,9	*14,16	*20,21	*24,26	*30	*33		*37,40	
S. hominis 14	57,1±13,7	42,9±13,7	78,6±11,4	92,9±7,1	60,0±16,3	57,1±13,7	71,4±12,5	42,9±13,7	78,6±11,4	42,9±13,7	50,0±13,9	14,3±9,7	0	35,7±13,3
		*43				*10	*17	*21	*27		*35		*37,38	

Примечание: разница <sup>\*1-46</sup> достоверна при  $p < 0,05$ .

Наибольшая гемолитическая активность (ГА) была выявлена у *S. haemolyticus*, из них более 80% штаммов проявляли высокую ГА. В стационарах № 1 и № 2 средние значения ГА *S. haemolyticus* ( $4,2 \pm 0,3$  и  $3,8 \pm 0,1$ ) были достоверно выше, чем у *S. epidermidis* ( $1,9 \pm 0,2$  и  $1,6 \pm 0,1$ ) и *S. hominis* ( $2,6 \pm 0,4$  и  $1,8 \pm 0,3$ ) при  $p=0,000001$  и  $p=0,00504$ , соответственно.

Лизоцимная активность (ЛА) микробов создает селективные преимущества для патогенов в экологической нише и частично ассоциируется с высокой вирулентностью культур бактерий, вызывающих длительное и тяжелое течение инфекционного процесса. Подавляющее большинство доминирующих в стационарах КНС не проявляли ЛА, однако значения ЛА *S. epidermidis* ( $0,3 \pm 0,1$ ) были достоверно выше, чем *S. haemolyticus* ( $0,1 \pm 0,1$ ), как в стационаре № 1, так и в стационаре № 2 ( $p=0,015933$  и  $0,039391$ , соответственно).

Исследование способности к формированию биопленки показало, что в стационаре №1 76,5% штаммов доминирующих КНС проявляли умеренную способность к пленкообразованию, а в стационаре № 2 – 62,8% штаммов *S. haemolyticus* отличались высокой степенью пленкообразования, тогда как 87,1% *S. hominis* и 70,6% *S. epidermidis* – умеренной. Культуры *S. epidermidis* в стационаре № 2 проявляли более низкую степень пленкообразования ( $3,36 \pm 0,18$ ), чем *S. haemolyticus* ( $6,22 \pm 0,25$ ,  $p=0,000001$ ) и *S. hominis* ( $5,42 \pm 0,76$ ,  $p=0,009001$ ), а в стационаре № 1 – чем *S. haemolyticus* ( $3,44 \pm 0,19$  и  $4,89 \pm 0,50$ , соответственно,  $p=0,008567$ ). Степень пленкообразования *S. haemolyticus* из стационара № 2 было достоверно выше, чем в стационаре №1 ( $p=0,018876$ ).

**Заключение.** В стационарах различного профиля (ожоговое, хирургическое отделение, отделение новорожденных с воспалительными поражениями кожи) циркулировали КНС, среди которых доминировали *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* и *S. hominis*. Более половины исследованных штаммов были метициллинрезистенты, причем доля таких штаммов в детском стационаре была выше. В обоих стационарах наиболее устойчивыми к воздействию антибиотиков оказались культуры *S. haemolyticus*, тогда как *S. epidermidis* и *S. hominis* от пациентов ожогового и хирургического отделений были чувствительны к большему спектру антибиотиков, чем в детском стационаре. Все исследованные культуры показали наибольшую чувствительность к стафилококковому бактериофагу, однако в детском стационаре доля устойчивых к фаголизису культур КНС была выше. В проявлении таких факторов патогенности, как гемолитическая и лизоцимная активности, отмечались только межвидовые различия КНС. Способность к пленкообразованию была более выражена у штаммов *S. haemolyticus* от новорожденных. Таким образом, культуры КНС из детского стационара, особенно *S. haemolyticus*, чаще обладали свойствами, способствующими их персистенции, и представляли угрозу формирования госпитальных штаммов.

#### Литература:

1. Способность стафилококков различных видов к образованию биопленок и их воздействие на клетки человека / М.А. Корниленко, В.Н. Копыльцов, Н.В. Шевлягина и др. // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016. № 1. С. 18–25.
2. Особенности возбудителей раневой инфекции у пациентов с термической травмой / Н.А. Гординская, Е.В. Сабирова, Н.В. Абрамова и др. // Медицинский альманах. 2012. № 5. С. 181–183.
3. Мониторинг биопленкообразующей способности у циркулирующих в детском стационаре коагулазонегативных стафилококков / Е.В. Беляева, Г.Б. Ермолина, Е.В. Борискина и др. // Медицинский альманах. 2018. № 4. С. 26–30.
4. Исследование факторов патогенности бактерий, выделенных от детей в многопрофильном стационаре / Г.Б. Ермолина, Е.А. Нестерова, О.А. Баранова, Е.В. Беляева // Современные проблемы эпидемиологии: сборник статей, посвященный 65-летию кафедры эпидемиологии ГОУ ВПО «НиЖГМА Росздрава». Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2007. С. 62–67.

**РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЛЕТНЕГО МОНИТОРИНГА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ  
НЕГОНОКОККОВЫХ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ У РЕПРОДУКТИВНОГО  
НАСЕЛЕНИЯ НИЖНЕГО НОВГОРОДА**

**Бруснигина<sup>1</sup> Н. Ф., Махова<sup>1</sup> М. А., Черневская<sup>1</sup> О. М., Орлова<sup>1</sup> К. А.,  
Колесникова<sup>1</sup> Е. А., Сперанская<sup>1</sup> Е. В., Барышева<sup>1</sup> Н. Н., Скобло<sup>1</sup> Л. Е.,  
Кленина<sup>1</sup> Н. Н., Кишоян<sup>2</sup> К. Г.**

<sup>1</sup>*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород,  
Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» МЗ РФ,  
Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** На основе многолетнего мониторинга с использованием оптимизированных алгоритмов исследования проведена оценка распространенности и особенностей циркуляции возбудителей негенококковых урогенитальных инфекций (НУГИ) (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*) среди женщин и мужчин репродуктивного возраста г. Нижнего Новгорода. В период с 1997 г. по 2018 г. обследовано 27460 человек в возрасте от 17 до 45 лет. Частота выявления уреоплазм у женщин составила 48,4%, у мужчин – 31,4%; микоплазм – 21,4% и 15,7%; хламидий – 7,9% и 8,2%, цитомегаловируса – 8,5% и 4,8%, вируса простого герпеса – 2,8% и 3,0% соответственно. Установлено отсутствие сезонной динамики выявления возбудителей НУГИ. Показано существенное значение возбудителей НУГИ в развитии воспалительных заболеваний урогенитального тракта и формировании репродуктивного здоровья населения.

**Ключевые слова:** *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*, распространенность, женщины, мужчины, урогенитальные инфекции.

**RESULTS OF LONG-TERM MONITORING OF CAUSATIVE AGENTS  
OF NON-GONOCOCCAL UROGENITAL INFECTIONS IN THE REPRODUCTIVE  
POPULATION OF NIZHNY NOVGOROD**

**Brusnigina<sup>1</sup> N. F., Makhova<sup>1</sup> M. A., Chernevskaya<sup>1</sup> O. M., Orlova<sup>1</sup> K. A., Kolesnikova<sup>1</sup> E. A.,  
Speranskaya<sup>1</sup> E. V., Barysheva<sup>1</sup> N. N., Skoblo<sup>1</sup> L. E., Klenina<sup>1</sup> N. N., Kishoyan<sup>2</sup> K. G.**

<sup>1</sup>*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>2</sup>*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Privolzhsky Research  
Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation*

**Abstract.** On the basis of long-term monitoring, using the optimized research algorithms, the prevalence and circulation characteristics of pathogens of non-gonococcal urogenital infections (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*) among women and men of reproductive age in Nijny Novgorod were evaluated. Since 1997 until 2018, 27,460 people aged from 17 to 45 years old were examined. The detection rate of *Ureaplasma* in women was 48.4%, in men – 31.4%; *Mycoplasma* – 21.4% and 15.7%; *Chlamydia* – 7.9% and 8.2%, *Cytomegalovirus* – 8.5% and 4.8%, *Herpes simplex virus* – 2.8% and 3.0%, respectively. The absence of the seasonal dynamics of detection of NUGI pathogens has been established. The essential importance of NUGI pathogens in the development of inflammatory diseases of the urogenital tract and the formation of the reproductive health of the population is shown.

**Key words:** *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*, prevalence, women, men, urogenital infections.

**Введение.** В последних документах правительства Российской Федерации и Министерства здравоохранения и социального развития в качестве основной причины ухудшения репродуктивного здоровья населения приводится инфекционная заболеваемость, особенно заболеваемость урогенитальными инфекциями. Одним из успешных путей сокращения заболеваемости является качественная и своевременная диагностика не только урогенитальных инфекций, но и всех инфекций, влияющих на репродуктивное здоровье населения. К репродуктивно значимым инфекциям относят и негонококковые урогенитальные инфекции (НУГИ).

НУГИ – группа клинически многообразных инфекционных заболеваний урогенитального тракта человека, передающихся преимущественно половым путем. Наиболее значимыми возбудителями этих инфекций являются бактерии родов *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, вирусы группы герпеса и их ассоциации [1, 2, 3, 4]. Возбудители НУГИ распространены повсеместно, но мнения разных авторов о частоте их встречаемости противоречивы, что во многом обусловлено различными методическими подходами к их выявлению.

Источником инфекции является больной человек или бессимптомный носитель. Восприимчивость к возбудителям НУГИ высокая, приближается к 100%. В первую очередь поражаются лица с иммунодефицитами. Заболевания характеризуются склонностью к хронизации, персистенции, часто регистрируются бессимптомные формы. У лиц, перенесших НУГИ, стойкого иммунитета не вырабатывается [2, 3, 4, 5].

Клинические проявления НУГИ многообразны. У женщин возбудители НУГИ вызывают уретриты, циститы, вагиниты, кольпиты, эндометриты, сальпингиты, оофориты; у мужчин – уретриты, простатиты, эпидидимиты, орхиты. Связь отдельных видов возбудителей с конкретными формами патологии не прослеживается, что затрудняет клиническую диагностику НУГИ [6, 7, 8, 9, 10]. Решающую роль при постановке диагноза имеют результаты лабораторных исследований. Значительные достижения в изучении данной группы возбудителей и диагностике НУГИ связаны с использованием современных молекулярно-биологических методов, в частности ПЦР, отличающейся высокой чувствительностью, специфичностью, пропускной способностью и при массовом использовании относительной дешевизной.

**Цель** – на основе многолетнего мониторинга оценить распространенность и особенности циркуляции возбудителей негонококковых урогенитальных инфекций (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*) среди женщин и мужчин репродуктивного возраста г. Нижнего Новгорода.

**Материалы и методы.** В период с 1997 по 2018 гг. проведено комплексное обследование 27460 жителей Нижнего Новгорода в возрасте от 17 до 45 лет, обратившихся в медицинские организации. Из них: 25241 – женщин и 2219 мужчин. Группой сравнения являлись мужчины (865) и женщины (1223) – здоровые и бессимптомные носители, не имеющие жалоб, первично обследованные одновременно на 5 инфекционных агентов. Материалом для исследования служили различные биологические субстраты: у женщин – соскобы слизистых уретры, вагины, цервикального канала, у мужчин – соскобы слизистой уретры.

Исследования осуществляли методом ПЦР: традиционная ПЦР, ПЦР в реальном времени. Выделение ДНК проводили наборами «АмплиПрайм ДНК-сорб В», «АмплиПрайм ДНК-сорб АМ» производства ЦНИИЭ. Использовали ПЦР тест системы «АмплиСенс» производства ЦНИИЭ (Москва), GenePakDNAPCR «Изоген», ООО НПФ «Литех». Микробиологические исследования на *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* проводили с использованием коммерческих жидких дифференциально-диагностических сред производства ЦНИИЭ (Москва). Статистическую обработку данных проводили на компьютере с использованием программ Microsoft Office (Excel), пакета статистических программ Statz, Statistica 6,0. Достоверность различий определяли общепринятым методом расчета ошибки среднего ( $m$ ) и показателя существенности и вероятности ( $t$ ).

**Результаты и обсуждение.** Результаты проведенного многолетнего мониторинга свидетельствуют о широкой распространенности возбудителей НУГИ среди населения г. Нижнего Новгорода. Так, частота выявления уреаплазм у женщин составила 48,4%, у мужчин 31,4%; микоплазм – 21,4% и 15,7%; хламидий – 7,9% и 8,2%, цитомегаловируса – 8,5% и 4,8%, вируса простого герпеса – 2,8% и 3,0% соответственно.

На протяжении всего 22-летнего периода мониторинга распределение возбудителей НУГИ по частоте обнаружения оставалось неизменным: первое место занимали *Ureaplasma* spp; второе – *Mycoplasma hominis*; третье – у женщин – *Cytomegalovirus*, у мужчин – *Chlamydia trachomatis*; четвертое – у женщин – *Chlamydia trachomatis*; у мужчин – *Cytomegalovirus*, пятое – *Herpes simplex I/II*.

Показатели частоты выявления возбудителей НУГИ в различные годы наблюдения претерпевали следующие изменения: с 1997 г. наблюдался рост показателей инфицированности от 43,8% до 56,3–56,5% в 2000–2001 гг.; в 2002–2003 гг. отмечалось снижение частоты выявления инфекционных агентов (45,7%); а с 2004 года снова наметился рост, хотя показатели 2001 года не были достигнуты, а с 2013 г. наблюдается устойчивая тенденция к снижению показателей инфицированности. Характерно то, что и увеличение, и уменьшение показателей частоты обнаружения происходило синхронно для всех видов выявляемых возбудителей. Зависимости частоты выявления возбудителей НУГИ от сезона не установлено.

При воспалительных заболеваниях органов урогенитального тракта как у женщин, так и у мужчин показатели общей инфицированности и частоты выявления отдельных возбудителей НУГИ выше, чем в группе сравнения. Наиболее ярко это выражено при вагините, кольпите, аднексите, сальпингите и эрозии шейки матки у женщин, и уретрите у мужчин. Это свидетельствует о роли этих микроорганизмов, в первую очередь, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, в формировании данной патологии (таблица).

**Таблица.** Распространенность возбудителей НУГИ у женщин и мужчин репродуктивного возраста здоровых и с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта

Заболевание	Частота выявления у <b>женщин</b> (в %)				
	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>	<i>C. trachomatis</i>	<i>CMV</i>	<i>HSV I/II</i>
<b>Аднексит</b> (n=307)	<b>61,3±2,8</b>	26,8±2,5	<b>11,4±1,8</b>	9,4±1,7	1,3±0,6
<b>Вагинит</b> (n =170)	<b>68,2±3,6</b>	27,6±3,4	8,7±2,0	13,2±2,5	7,0±1,9
<b>Кольпит</b> (n=312)	<b>68,0±2,6</b>	<b>40,7±2,7</b>	<b>11,2±1,8</b>	<b>18,8±2,2</b>	1,8±0,7
<b>Цервицит</b> (n= 211)	56,2±3,4	25,3±2,9	<b>10,6±1,9</b>	11,2±2,1	3,1±1,1
<b>Сальпингит</b> (n= 129)	<b>61,0±4,3</b>	22,8±2,0	4,3±1,7	0	0
<b>Эндометрит</b> (n= 149)	51,7±4,1	31,3±3,8	5,9±1,9	12,5±2,7	0
<b>Эрозия шейки матки</b> (n=296)	<b>63,8±2,8</b>	36,0±2,7	<b>11,5±1,8</b>	<b>18,5±2,2</b>	3,0±0,9
<b>ОАГА</b> (n=235)	55,7±3,2	22,8±2,7	4,0±0,5	12,1±2,1	1,4±0,7
Группа сравнения (n=1223)	48,4±1,4	19,4±1,3	5,1±0,6	7,4±0,7	1,4±0,3
	Частота выявления у <b>мужчин</b> (в %)				
<b>Уретрит</b> (n=228)	<b>41,7±3,2</b>	<b>21,5±2,7</b>	<b>18,8±2,5</b>	0	0
<b>Простатит</b> (n=187)	<b>33,7±3,4</b>	<b>15,0±2,6</b>	<b>10,2±2,2</b>	0	<b>3,2±1,3</b>
Группа сравнения (n=865)	19,4±1,3	5,6±0,8	8,5±0,9	3,1±0,6	2,4±0,5

**Примечание:** показатели, которые достоверно превышают аналогичные в группе сравнения выделены «жирным» шрифтом,  $p < 0,05$ .

Анализ структуры инфицированности женщин и мужчин возбудителями НУГИ выявил наличие большого количества ассоциаций микроорганизмов. Так, среди инфицированных

женщин с воспалительными процессами ассоциации возбудителей НУГИ выявлены в 49,1% (в группе сравнения – 38,8%), у мужчин с уретритом и простатитом ассоциации обнаружены в 35,6% случаев (в группе сравнения – в 29,9%). Среди ассоциаций преобладали варианты из двух микроорганизмов: 77,2% – у женщин и 80,0% – у мужчин. Варианты из 3 инфекционных агентов составили 20,7% у женщин и 20,0% – у мужчин. Ассоциации из 4 или 5 возбудителей выявлены только у женщин в 7 случаях, что составило 2,1%. Подавляющее большинство ассоциаций (98,5% как у женщин, так и у мужчин) содержало в своем составе *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* или оба микроорганизма одновременно.

**Закключение.** Таким образом, проведенные многолетние исследования показали широкую распространенность возбудителей репродуктивно значимых урогенитальных инфекций среди женщин и мужчин г. Нижнего Новгорода. На протяжении всего периода мониторинга (с 1997 по 2018 гг.) частота выявления возбудителей НУГИ сохранялась на высоком уровне (от 40% до 68%). Установлено отсутствие сезонной динамики выявления возбудителей НУГИ. Показано существенное значение возбудителей НУГИ в развитии воспалительных заболеваний урогенитального тракта и формировании репродуктивного здоровья населения. Комплексное ПЦР обследование позволяет осуществлять динамический мониторинг за возбудителями НУГИ.

#### Литература:

1. Козлова В.И. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий / В.И. Козлова, А.Ф. Пухнер // М., 2003. – 440 с.
2. Борхсениус С.Н. Микоплазмы в биологии и медицине начала XXI века / С.Н. Борхсениус, О.А. Чернова, В.М. Чернов, И.Е. Вишняков // СПб: Изд-во Наука. – 2016. – 333 с.
3. Прилепская В.Н. К вопросу о роли микоплазм в урогенитальной патологии / В.Н. Прилепская, В.И. Кисина, Е.В. Соколовский, В.А. Гомберг // Ж. Гинекология. – 2007. – Т. 9 – № 1. – С. 20–27.
4. Фофанова И.Ю. Роль микоплазменной инфекции в акушерстве и гинекологии / Ж. Гинекология. – 2008. – Т. 6. – № 3. – С. 4–9.
5. Савичева А.М. Роль микоплазм в урогенитальной патологии женщин и их половых партнеров. / А.М. Савичева, В.Н. Прилепская, Е.В. Соколовский, В.И. Кисина, А.Е. Гущин, К.И. Забиров // Ж. Журнал акушерства и женских болезней. – СПб., 2008. – Т. LVII. – № 1. – С. 11–22.
6. Zhou Y. Detect ion and the antibiotic susceptibility analysis of mycoplasma and chlamydia in urogenital tract infections of 327 cases patients with tubal infertility / Y. Zhou, X. L. Xu, C. P. Wang // Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi. 2011. V. 25(3). P. 201–204.
7. Генитальные вирусные инфекции / Молочков В.А., Киселев В.И., Семенова Т.Б. // Изд-во «Бином пресс», – 2009. – 208 с.
8. Белова А.В. Генитальные микоплазмы (*U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *M. genitalium*) в структуре инфекционных осложнений в акушерстве, гинекологии и перинатологии / А.В. Белова, А.П. Никонов // Альманах клинической медицины. – 2015. – № 39. – С. 140–150.
9. Андреева И.В. Тактика ведения пациентов с негонококковым уретритом: результаты многоцентрового описательного исследования / И.В. Андреева, С.Н. Козлов, С.В. Королев, А.Н. Беликов, А.В. Гринев, В.В. Евстафьев [с соавт.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2012. – Т. 57, № 5-6. – С. 32–40.
10. Pena K.C. Genital Herpes Simplex Virus Type 1 in Women: Detection in Cervicovaginal Specimens from Gynecological Practices in the United States / K.C. Pena, M.E. Adelson, E. Mordechaj et al. // Clin. Microbiol. – 2010. – V. 48. – № 1. – P. 150–153.



**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ  
К АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ *SALMONELLA***

**Егорова<sup>1</sup> С. А., Кафтырева<sup>1,2</sup> Л. А., Останкова<sup>1</sup> Ю. В.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия*

**Аннотация.** В популяции штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014–2018 гг., выявлены штаммы, устойчивые к бета-лактамам (5,1 штаммов на 100 исследованных – к аминопенициллинам; 3,2 – к цефалоспорином расширенного спектра) и хинолонам (62,2). Устойчивость к бета-лактамам была обусловлена продукцией бета-лактамаз, принадлежащих генетическим семействам TEM-1, CTX-M (1, 9 и 2) и CMY-2. Устойчивость к хинолонам у большинства изученных штаммов являлась результатом хромосомных мутаций в гене *gyrA*, при этом выявлено пять вариантов однонуклеотидных замен (Ser83Phe, Asp87Asn, Asp87Tyr, Ser83Tyr и Asp87Gly). У двух штаммов обнаружены гены резистентности *qnrS*, расположенные на плазмидах. Таким образом, в популяции штаммов *Salmonella*, с различной частотой выявлены штаммы, устойчивые к «критически важными» для медицины: бета-лактамам и хинолонам. Устойчивые штаммы характеризовались генетическим разнообразием механизмов резистентности: выявлены как хромосомные, так и плазмидоопосредованные механизмы.

**GENETIC DIVERSITY OF THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE MECHANISMS  
IN *SALMONELLA***

**Egorova<sup>1</sup> S. A., Kaftyreva<sup>1,2</sup> L. A., Ostankova<sup>1</sup> Yu. V.**

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a. Pasteur  
of Rosпотребнадзор, Saint-Petersburg, Russia*

<sup>2</sup>*State Educational Institution of the Higher Professional Education «North-Western state medical  
University n.a. I.I. Mechnikov» of the Ministry of health of the Russian Federation*

**Abstract.** In *Salmonella* isolated in St. Petersburg in 2014–2018 resistance to beta-lactams (5,1 isolates per 100 studied – to aminopenicillins; 3,2 – to extended spectrum cephalosporins) and quinolones (62,2) was identified. Resistance to beta-lactams was due to the production of beta-lactamases of the genetic families of TEM-1, CTX-M (1, 9 and 2) and CMY-2. Resistance to quinolones in the majority of isolates was due to by the chromosomal mutations in *gyrA* gene, with the identification of five variants of single-nucleotide substitutions (Ser83Phe, Asp87Asn, Asp87Tyr, Ser83Tyr and Asp87Gly). Plasmid mediated quinolone resistance due to *qnrS* genes was found in two isolates. So, in the population of *Salmonella*, the isolates resistant to «critical» for medicine antibiotic (beta-lactams and quinolones) were identified with different frequency. Resistant isolates were characterized by genetic diversity of resistance mechanisms: both chromosomal and plasmid-mediated mechanisms were revealed.

**Введение.** Для лечения неосложненного сальмонеллезного гастроэнтерита легкой и средней тяжести не рекомендуется использовать антимикробные препараты (АМП), поскольку их назначение не уменьшает продолжительность клинических симптомов, но в ряде случаев повышает частоту и длительность бактерионосительства [1]. АМП назначают при тяжелом течении инфекции у детей до 6 лет и лиц старше 50 лет, у пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, а также в случае генерализации инфекции и развития осложнений. В настоящее время для лечения сальмонеллезов рекомендованы фторхинолоны, триметоприм/сульфаметоксазол, цефалоспорины расширенного спектра (ЦРС) (цефтриаксон, цефиксим), азитромицин и рифаксимин [2, 3]. Системы мониторинга, действующие в экономически развитых странах, направлены на выявление устойчивости

штаммов *Salmonella* и других возбудителей, выделенных от людей, животных и из пищевых продуктов, к АМП, имеющим наибольшее значение для медицины (так называемые «критически важные» антибиотики): фторхинолонам и ЦРС.

**Материалы и методы.** Изучили частоту выделения штаммов, устойчивых к бета-лактамам и хинолонам, в коллекции из 564 штаммов *Salmonella* различных сероваров, выделенных в 2014–18 гг. в Санкт-Петербурге из проб испражнений лиц, обследованных по различным показаниям: больные ОКИ, контактные, декретированные лица. Определяли чувствительность к следующим АМП: бета-лактамам – ампициллин, цефотаксим, цефтазидим, меропенем; хинолонам – налидиксовая кислота, пefлоксацин, цiproфлоксацин. Чувствительность к АМП определяли диско-диффузионным методом, минимальную подавляющую концентрацию (МПК) цiproфлоксацина – методом градиентных концентраций согласно Клиническим рекомендациям [4]. Детекцию плазмидных генов, ответственных за продукцию бета-лактамаз широкого спектра (TEM-1, SHV-1,2, OXA, PSE), расширенного спектра (БЛРС) (CTX-M1,-2,-8,-9 и -25), AmpC-цефалоспориноаз (ACC, FOX, MOX, DNA, CIT и EBC), а также генов *qnr* A,B,S (обуславливающих устойчивость к хинолонам), проводили методом ПЦР с флуоресцентной детекцией с интеркалирующим красителем SYBR GREEN в формате мультиплексной реакции согласно ранее опубликованным протоколам [5, 6]. Для детекции хромосомных мутаций в QRDR-регионе гена *gyrA*, обуславливающих устойчивость к хинолонам, анализировали нуклеотидные последовательности QRDR-региона гена *gyrA*, полученные методом ПЦР с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации с интеркалирующим красителем SYBR GREEN согласно ранее опубликованному протоколу [7]. Полученные нуклеотидные последовательности секвенировали по Сенгеру с использованием Applied Biosystem 3500.

**Результаты и обсуждение.** Серологическая структура изученной популяции штаммов была представлена 41 сероваром, при этом 89,4% штаммов принадлежали к трем сероварам: *S. Enteritidis* (78,9%), *S. Typhimurium* (5,9%) и *S. Infantis* (4,6%). На серовары других групп приходилось 10,6%.

Штаммы, устойчивые к бета-лактамам (аминопенициллинам и ЦРС), обнаружены с частотой 8,3 на 100 исследованных (5,1 – к аминопенициллинам и 3,2 – к ЦРС). Наиболее часто устойчивые штаммы выявлены у серовара *S. Typhimurium* – устойчивые к ампициллину – 39,4, к ЦРС – 9,1. Показатели для других сероваров составили: *S. Enteritidis* – 2,7 и 1,8; *S. Infantis* – 7,7 и 0; других сероваров – 3,3 и 1,7, соответственно.

Штаммы *Salmonella*, устойчивые к ампициллину (29 штаммов) были представлены следующими сероварами: *S. Typhimurium* (13 штаммов), *S. Enteritidis* (12), *S. Infantis* (2), *S. London* (1) и *S. Kentucky* (1). Молекулярное исследование выявило у 27 из 29 штаммов гены *bla*<sub>TEM-1</sub>. Гены других бета-лактамаз широкого спектра (SHV, OXA и PSE) не выявлены.

Штаммы *Salmonella*, устойчивые к ЦРС (18 штаммов) относились к сероварам: *S. Enteritidis* (7), *S. Typhimurium* (6), *S. Abony* (1), *S. Coeln* (1), *S. Virchow* (1), *S. Newport* (1) и *Salmonella* 1,4,12:i: (1). Фенотипические методы детекции (тест синергизма с клавулановой кислотой и клоксациллином) позволили предположить продукцию классических БЛРС молекулярного класса А у 16 штаммов и цефалоспориноаз молекулярного класса С (AmpC) – у 2 штаммов (*S. Newport* и *S. Enteritidis*). У штаммов, предположительно продуцирующих БЛРС, выявлены гены бета-лактамаз *bla*<sub>CTX-M</sub> генетических групп: CTX-M1 (10 штаммов), CTX-M2 (2), CTX-M9 (3); один штамм *S. Typhimurium* имел гены двух семейств: *bla*<sub>CTX-M-1</sub> и *bla*<sub>CTX-M-2</sub>. У штаммов *S. Newport* и *S. Enteritidis*, предположительно продуцирующих AmpC, обнаружены гены *bla*<sub>CMY-2</sub>. Практически все штаммы *Salmonella*, продуцирующие БЛРС (16 штаммов из 18), относились к группе штаммов с множественной устойчивостью от 3 до 7 классов АМП.

Устойчивость к хинолонам выявлена с частотой 62,2 штамма на 100 исследованных и была наиболее выражена у сероваров *S. Infantis* (88,5) и *S. Enteritidis* (69,7); у штаммов *S. Typhimurium* и других сероваров составила 18,2 и 20,0, соответственно. Следует отметить, что в популяции выявлены штаммы только с устойчивостью к хинолонам низкого уровня (МПК цiproфлоксацина 0,12–0,25 мг/л), показана корреляция результатов двух методов

тестирования: определения МПК ципрофлоксацина и скрининга с пefлоксацином: у всех штаммов с МПК ципрофлоксацина выше 0,06 мг/л диаметр зоны подавления роста вокруг диска с пefлоксацином составлял менее 24 мм. Анализ нуклеотидной последовательности QRDR-региона хромосомного гена *gyrA*, проведенный для 35 устойчивых штаммов, позволил выявить пять видов однонуклеотидных замен в 83 и 87 кодоне (таблица).

**Таблица.** Мутации в QRDR-регионе хромосомного гена *gyrA*, выявленные у штаммов *Salmonella*, устойчивых к хинолонам (35 штаммов)

Серovar	Число изученных штаммов	Аминокислотная замена	Штаммы с заменой	
			абс.	% от числа штаммов данного серовара
S. Enteritidis	17	Ser83Phe	8	47,1
		Asp87Asn	4	23,5
		Asp87Gly	3	17,6
		Ser83Tyr	2	11,8
S. Infantis	15	Asp87 Tyr	13	86,7
		Ser83Tyr	2	13,3
S. Typhimurium	1	Asp87Asn	1	100,0
S. Hadar	1	Asp87Asn	1	100,0
S. Newport	1	Asp87Asn	1	100,0
Всего	35	Asp87 Tyr	13	37,1*
		Ser83Phe	8	22,9*
		Asp87Asn	7	20,0*
		Ser83Tyr	4	11,4*
		Asp87Gly	3	8,6*

**Примечание:** \* – % от числа всех изученных штаммов.

Выявлено два штамма *Salmonella* с «парадоксальным» фенотипом устойчивости к хинолонам (устойчивые к фтохинолонам, но чувствительные к налидиксовой кислоте). У этих штаммов обнаружена плазмидоопосредованная устойчивость к этой группе препаратов – выявлены гены *qnrS*.

**Заключение.** В популяции штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014–2018 гг., с различной частотой выявлены штаммы, устойчивые к АМП, используемым для лечения сальмонеллезной инфекции и являющимся «критически важными» для медицины: бета-лактамам и хинолонам. Устойчивые штаммы характеризовались генетическим разнообразием механизмов резистентности: выявлены как хромосомные, так и плазмидоопосредованные механизмы. Устойчивость к бета-лактамам была обусловлена продукцией бета-лактамаз, принадлежащих различным генетическим семействам: TEM-1, CTX-M (1, 9 и 2) и CMY-2. Известно, что гены, кодирующие такие бета-лактамазы, являются приобретенными и располагаются на плазмидах. Устойчивость к хинолонам у большинства изученных штаммов являлась результатом хромосомных мутаций в гене *gyrA*, при этом выявлено пять вариантов однонуклеотидных замен; только у двух штаммов обнаружены гены резистентности *qnrS*, расположенные на плазмидах.

#### Литература:

1. Sirinavin S., Garner P. Antibiotics for treating salmonella gut infections // Cochrane Database Syst. Rev. 2000. № 2. CD001167.
2. Crump J.A., Sjölund-Karlsson M., Gordon M.A., Parry C.M. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive Salmonella infections // Clin. Microbiol. Rev. 2015. № 28 (4). P. 901–37.
3. Лобзин Ю.В., Захаренко С.М. Этиотропная терапия острых кишечных инфекций // Инфекционные болезни. 2009. № 7 (3). С. 62–67.
4. Клинические Рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версии 2015, 2018.

5. Dallenne C., Da Costa A., Decré D., Favier C., Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* // J Antimicrob Chemother. 2010. № 65 (3). P. 490–5.
6. Robicsek A., Strahilevitz J., Sahm D.F., Jacoby G.A., Hooper D.C. Qnr prevalence in ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from the United States // Antimicrob. Agents Chemot. 2006. № 50 (8). P. 2872–2874.
7. Козырева В.К., Эйдельштейн М.В., Топальский Д.В., Азизов И.С., Козлов Р.С. Независимое приобретение резистентности к хинолонам у клонально-родственных нозокомиальных штаммов вследствие гипермутабельности // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. 2012. № 14 (2). С. 153–161.

УДК: 616.927-022

## ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЯ БРЮШНОГО ТИФА, ЗАРЕГИСТРИРОВАННОГО В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафтырева<sup>1,3</sup> Л. А., Егорова<sup>1</sup> С. А., Кулешов<sup>2</sup> К. В., Матвеева<sup>1</sup> З. Н.

<sup>1</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

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

<sup>3</sup>СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

**Аннотация.** В статье приведены результаты исследования штаммов *S. Typhi*, выделенных в 2005–2018 гг. в Российской Федерации. Показано, что возбудитель характеризовался гетерогенностью по чувствительности к АМП: чувствительными к антибиотикам были 17,0% штаммов, 83,0% штаммов характеризовались устойчивостью к фторхинолонам, из них 2,6% – множественной устойчивостью к различным классам АМП. Устойчивость низкого уровня к фторхинолонам у штаммов *S. Typhi* обусловлена однонуклеотидными заменами в гене *gyrA*: Asp87Asn (78,7%), Ser83Tyr (5,0%) и Ser83Phe (3,2%), устойчивость высокого уровня – сочетанием трех однонуклеотидных замен: в гене *gyrA* (Asp87Asn+Ser83Phe) и *parC* (Ser80Ile). Установлено, что более 80,0% российских штаммов относились к азиатскому генотипу, поскольку принадлежали к филогенетической линии гаплотипа H58 или субкладе 4.3.1.

## THE POPULATION HETEROGENEITY AND PHYLOGENETIC STRUCTURE OF *S. TYPHI* REGISTERED IN THE RUSSIAN FEDERATION

Kaftyreva<sup>1,3</sup> L. A., Egorova<sup>1</sup> S. A., Kuleshov<sup>2</sup> K. V., Matveeva<sup>1</sup> Z. N.

<sup>1</sup>Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a. Pasteur,  
Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Central research institute for epidemiology, Moscow, Russia

<sup>3</sup>North-Western state medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

**Abstract.** The article includes the results of the study of *S. Typhi* isolated in Russian federation in 2005–2018. The *S. typhi* population was genetically heterogeneous in antimicrobial susceptibility: 17,0% of *S. Typhi* were susceptible to antibiotics, 83,0% were resistant to fluoroquinolones and 2,6% of them had multidrug resistance to different antibiotics. Fluoroquinolone low-level resistance in *S. Typhi* was due to single nucleotide substitutions in the *gyrA*: Asp87Asn (78,7%) Ser83Tyr (5,0%) and Ser83Phe (3,2%), fluoroquinolone high-level resistance – due to the accumulation of three single nucleotide substitutions: in *gyrA* (Asp87Asn+Ser83Phe) and *parC* (Ser80Ile). More than 80,0% of *S. Typhi* isolated in Russia belonged to Asian genotype – haplotype H58 or subclade 4.3.1.

**Введение.** Брюшной тиф (БТ) – тяжелая системная антропонозная инфекция, вызываемая *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* (*S. Typhi*), способная к широкому

эпидемическому распространению, в настоящее время регистрируется во всем мире. Динамика заболеваемости БТ в нашей стране на протяжении многих десятилетий характеризовалась устойчивой тенденцией к снижению. В XXI в. показатели заболеваемости не превышали 0,1 на 100 тыс. населения. Современной эпидемиологической особенностью является резкое увеличение частоты заноса БТ из стран ближнего и дальнего зарубежья, эндемичных по БТ. Случаи заболевания регистрируются, как правило, у лиц из социально неблагополучных групп населения, трудовых мигрантов и жителей России, выезжавших в регионы с высоким уровнем заболеваемости. В 2006–2016 гг. случаи «завоза» БТ на территории РФ отмечены из 13 стран [1].

Использование антимикробных препаратов (АМП) в лечебных целях снизило летальность до уровня менее 1,0%, но привело к появлению резистентных штаммов *S. Typhi*. В конце 1960-х гг. были выявлены штаммы, резистентные к хлорамфениколу, ампициллину и ко-тримоксазолу, в начале 1990-х гг. – к фторхинолонам (в 2005 г. более 90% штаммов, выделенных в Юго-Восточной Азии, характеризовались устойчивостью к этой группе АМП), а в 2005–2008 гг. появилась резистентность к цефалоспорином 3–4 поколения, обусловленная продукцией бета-лактамаз расширенного спектра [2].

**Цель работы:** оценить гетерогенность популяции возбудителя брюшного тифа (*S. Typhi*), зарегистрированного в Российской Федерации фенотипическими и молекулярными методами.

**Материалы и методы.** Чувствительность к АМП изучена у 306 штаммов *S. Typhi*, выделенных на 21 территории РФ в 2005–2018 гг. методами диско-диффузионным, последовательных разведений, градиентной диффузии. Интерпретацию результатов проводили согласно критериям Клинических рекомендаций [3]. Биотипирование (по ферментации ксилозы и арабинозы) проводили по МР по бактериологической диагностике БТ [4]. Для оценки филогенетической близости штаммов использовали метод генотипирования, основанный на выявлении полного спектра ортологичных однонуклеотидных вариаций (single nucleotide variations, SNV), локализованных в кодирующих и в некодирующих областях генома, с использованием ранее разработанного алгоритма анализа данных [5]. Кроме того, штаммы *S. Typhi* были проанализированы с использованием программы Genotyphi (<https://github.com/katholt/genotyphi>) [6].

**Результаты и обсуждение.** Исследования показали, что 97,3% штаммов *S. Typhi* принадлежали к одному биовару 1 (ферментировали ксилозу и не ферментировали арабинозу), но характеризовалась различными фенотипами резистентности к АМП и генетической неоднородностью. Чувствительными к АМП были 17,0% штаммов, 83,0% штаммов характеризовались устойчивостью к фторхинолонам [1]. Кроме того, популяция возбудителя включала штаммы с множественной устойчивостью к АМП, ранее используемым для лечения БТ (хлорамфениколу, ампициллину, триметоприм/сульфаметоксазолу). Не выявлено устойчивости к цефалоспорином расширенного спектра и азитромицину, что позволяет рекомендовать эти препараты для эмпирической терапии БТ в РФ (таблица).

**Таблица.** Характеристика резистентности к антимикробным препаратам штаммов *S. Typhi*, выделенных на территориях РФ в 2005–2018 гг. (n=306)

Фенотипы чувствительности / резистентности к АМП	Штаммы		
	Абс.	%	95% ДИ
Чувствительные	52	17,0	13,2–21,6
Резистентные к:			
Хинолонам	238	77,8	72,8–82,1
Хинолонам, ампициллину, хлорамфениколу, триметоприм/сульфаметоксазолу	8	2,6	1,3–5,1
Хинолонам, триметоприм/сульфаметоксазолу	8	2,6	1,3–5,1
Всего: устойчивые к 1 и более классам АМП	254	83,0	78,4–86,8

Несмотря на идентичный фенотип резистентности (устойчивость низкого уровня к фторхинолонам) штаммы *S. Typhi* характеризовались различными однонуклеотидными заменами в гене *gyrA*: Asp87Asn (78,7%), Ser83Tyr (5,0%) и Ser83Phe (3,2%). Устойчивость высокого уровня к фторхинолонам была обусловлена сочетанием трех однонуклеотидных замен: в гене *gyrA* (Asp87Asn+Ser83Phe) и *parC* (Ser80Ile) [1].

Анализ генетического разнообразия и филогенетической структуры возбудителя показал, что более 80,0% штаммов принадлежали к представителям доминирующей клады H58. Филогенетическая линия клады H58 была неоднородна: большая часть исследуемых штаммов кластеризовались в три филогенетические группы (G1, G2 и G3). 60,0% штаммов клады H58 относились к филогенетической группе G3 и характеризовалась идентичным фенотипом и механизмом резистентности к АМП: устойчивостью к фторхинолонам низкого уровня, обусловленной однонуклеотидной заменой в гене *gyrA* (Asp87Asn). Штаммы, выделенные из одного очага характеризовались идентичным профилем резистентности к АМП, обусловленным идентичными мутациями.

К филогенетической группе G1 относились 11,2% штаммов с устойчивостью высокого уровня к фторхинолонам, обусловленной тремя однонуклеотидными заменами в генах: *gyrA* (Ser83Phe, Asp87Asn) и *parC* (Ser80Ile). Штаммы филогенетической группы G2 (7,8%), характеризовались одинаковым механизмом устойчивости к фторхинолонам (устойчивость низкого уровня, обусловленная мутацией в гене *gyrA* (Asp87Asn), два штамма обладали дополнительной множественной устойчивостью (к ампициллину, хлорамфениколу, котримоксазолу), обусловленной генами резистентности, расположенными на плазмиде IncН11В. В группе штаммов, не относящихся к филогенетической линии клады H58 (15,6%), почти все штаммы отличались высокой чувствительностью к АМП, кластеризовались в филогенетические группы или обладали индивидуальными генотипами.

Дополнительный анализ секвенированных геномов с использованием программы Genotyphi показал, что более 80,0% российских штаммов *S. Typhi* относятся к успешному международному азиатскому клону, относящемуся к кластеру 4, субкладе 4.3.1 и происходят из стран Юго-Восточной и Южной Азии [6]. Такие штаммы в разные годы были завезены на территории РФ: в Санкт-Петербург (2006, 2007, 2010, 2011, 2012, 2014, 2017) и области: Московскую (2011 и 2013), Калининградскую (2011 и 2012), Воронежскую (2014), Иркутскую (2015) и Хабаровский край (2012). Менее 20,0% исследуемых штаммов филогенетически относились к другим кластерам (1–3) и отличались от основной популяции возбудителя БТ отсутствием резистентности к АМП, либо имели резистентность к хинолонам, обусловленную другими мутациями.

**Заключение.** Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга антибиотикорезистентности возбудителя БТ, поскольку это заболевание склонно к эпидемическому распространению, возникновению вспышек, а инфицирование резистентными штаммами приводит к снижению эффективности антимикробной терапии и, возможно, более частому формированию хронического бактерионосительства. Надзор за резистентностью и рациональная антимикробная терапия позволят ограничить дальнейшее распространение полирезистентных клонов возбудителя БТ.

#### Литература:

1. Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Макарова М.А., Тюленев С.В., Трифонова Г.Ф., Калинина О.В. Особенности резистентности к антимикробным препаратам возбудителя брюшного тифа, зарегистрированного на территории Российской Федерации в 2005–2016 гг. // Профилактическая и клиническая медицина. 2017. № 2 (63). С. 14–19.
2. Weill F.-X. La fièvre typhoïde n'est plus aussi simple à soigner // Med. Sci. 2010. V. 26. P. 969–975.
3. Клинические Рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версии 2015, 2018.
4. Методические рекомендации. Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов А, В и С. Утв. Гл. гос. сан.врачом РФ Г.Г.Онищенко 29.12.2007 0100/13745-07-34.

5. Kuleshov K.V., Kostikova A., Pisarenko S.V. et al. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011 // *Infect. Genet. Evol.* 2016. V. 44. P. 471–478.
6. Wong V.K., Baker S., Connor T.R. et al. An extended genotyping framework for *Salmonella enterica* serovar Typhi, the cause of human typhoid // *Nature communications.* 2016. V. 7. P. 12827.

УДК: 578.835.1, 615.281.8

## СПЕКТР ПРОТИВОЭНТЕРОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

Козловская<sup>1,2</sup> Л. И., Золотарева<sup>1,2</sup> А. Д., Черников<sup>1</sup> В. С., Осолодкин<sup>1,2</sup> Д. И.

<sup>1</sup>ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

**Аннотация.** Экспериментальный фенотипический *in vitro* скрининг 102 аналогов нуклеозидов выявил потенциальные ингибиторы энтеровирусов вида А, а также ингибиторы широкого спектра энтеровирусов (видов А, В, С). Полученные результаты станут основой для дальнейшего анализа противовирусной активности указанных соединений с целью создания специфических противовирусных средств.

## ANTI-ENTEROVIRAL ACTIVITY SPECTRUM OF NUCLEOSIDE DERIVATES

Kozlovskaya<sup>1,2</sup> L. I., Zolotareva<sup>1,2</sup> A. D., Chernikov<sup>1</sup> V. S., Osolodkin<sup>1,2</sup> D. I.

<sup>1</sup>FSBSI «Chumakov FSC R&D IBP RAS», Moscow, Russia

<sup>2</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>3</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Abstract.** Experimental phenotypic *in vitro* screening of 102 nucleoside analogs revealed potent *Enterovirus A* inhibitors, and, moreover, inhibitors of wide spectrum of enteroviruses (A, B, C species). These data can be the basis for the further analysis of antiviral activity of the studied compounds for therapeutic purposes.

**Введение.** Энтеровирусы (род *Enterovirus*, семейство *Picornaviridae*) – небольшие безоболочечные вирусы с геномом, представленным одноцепочечной молекулой РНК положительной полярности. Патогенные для человека вирусы относятся к видам *Enterovirus A-D*. Заболевания, вызванные энтеровирусами, характеризуются широким спектром клинических проявлений: от бессимптомного течения, которое составляет около 90% случаев, до тяжёлых пневмоний и поражений нервной системы, заканчивающихся летальным исходом [1]. Особенностью энтеровирусов является высокая скорость эволюции, которая приводит к постоянной смене циркулирующих генотипов, возникновению вспышек и появлению новых вариантов вирусов, способных вызывать нетипичное, часто более тяжёлое, течение инфекционного процесса. В последние десятилетия появление и распространение новых геновариантов ЭВА71, обычно вызывающего экзантемы, на территории Юго-Восточной Азии и Китая привело к возникновению крупных вспышек, во время которых до 20% случаев характеризовались неврологическими проявлениями в виде паралича и даже смерти [2]. Также новый вариант ЭВД68, обычно вызывающего ОРВИ, стал причиной вспышки заболевания с тяжёлым респираторным синдромом и более чем 100 случаев острого вялого миелита на всей территории США в 2014 г. [3].

В качестве профилактических мер на данный момент в мире существует и широко применяется вакцина от полиомиелита, вакцина от ЭВА71 применяется в Китае, однако эпидемиологическую эффективность данной вакцины ещё предстоит доказать [4]. Высокая вариабельность энтеровирусных антигенов не позволяет создать универсальную

антиэнтеровирусную вакцину. Других методов специфической профилактики или лечения на данный момент не существует.

Приведённые выше факты определяют острую необходимость и актуальность разработки противозентеровирусных соединений широкого спектра действия. Несколько тысяч низкомолекулярных соединений, включая гуанидин, плеконарил, производные берберина и др., были исследованы в качестве потенциальных ингибиторов размножения хотя бы одного энтеровируса. Однако всего лишь для нескольких десятков из них была одновременно оценена активность против представителей различных видов энтеровирусов.

Аналоги нуклеозидов представляют собой класс низкомолекулярных соединений с потенциалом проявления противовирусной активности широкого спектра действия [5, 6]. Считается, что эти соединения могут взаимодействовать с ферментами, модифицирующими нуклеиновые кислоты, ингибируя таким образом репликацию вируса. Эта стратегия применяется для лечения инфекций, вызванных вирусами гепатита В, герпеса, иммунодефицита человека [7]. Ингибирование репликации представляется особенно привлекательным подходом в случае РНК-вирусов, реплицируемых вирусной РНК-зависимой РНК полимеразой.

**Материалы и методы.** Мы исследовали противовирусную активность фурано[2,3-*d*]пиримидиновых нуклеозидов и  $N^6$ -замещенных аденозинов (всего 102 соединения) против различных патогенных представителей рода *Enterovirus*: *Enterovirus A* – ЭВА71 штамм 46973 (GenBank KJ645808) и вирус Коксаки А16 (CVA16) изолят 49360 (GenBank MK704491); *Enterovirus B* – Эховирус 30 (E30) изолят 48461 (GenBank MK704489) и Эховирус 13 (E13) изолят 57088 (GenBank MK704490); *Enterovirus C* – полиовирус типа 1 штамм Сэбин 1 (ПВ1, GenBank V01150) и CVA21 изолят 48793 (GenBank MK704492).

Сначала проводили фенотипический скрининг всех соединений против трёх представителей разных видов энтеровирусов ЭВА71, E30 и ПВ1 в реакции ингибирования инфекционности в культуре клеток RD с определением полуингибиторной концентрации ( $IC_{50}$ ). Для наиболее активных соединений дополнительно определяли спектр противовирусной активности против трёх других вирусов, а также цитотоксичность соединений для культуры клеток.

**Результаты и обсуждение.**  $N^4$ -Гидроксицитидин ингибировал репродукцию всех изученных энтеровирусов с  $IC_{50}$  5-70  $\mu$ М. Было показано, что это соединение действует после проникновения энтеровируса в клетку. Фурано[2,3-*d*]пиримидиновые нуклеозиды с *n*-пентильными или *n*-гексильными заместителями проявили селективную активность против энтеровирусов вида А.

Довольно широкий набор  $N^6$ -замещенных аденозинов ингибировал репродукцию ЭВА71, при этом 7 соединений – с  $IC_{50} < 2$  мкМ. Большинство соединений, активных против ЭВА71, были неактивны против E30 или ПВ1. Всего 7 соединений ингибировали репродукцию E30 и 5 соединений – ПВ1. Для этих соединений, наряду с наиболее активными против ЭВА71, была оценена активность против других представителей рода *Enterovirus*. Аналоги  $N^6$ -бензиладенозина, содержащие одну функциональную группу в фенильном кольце, имели сравнимые значения  $IC_{50}$  в отношении CVA16 и EVA71, принадлежащих к виду *Enterovirus A*, и E30 и E13, принадлежащих к виду *Enterovirus B*. Наибольшую активность проявил  $N^6$ -(3,4-дихлорбензил)аденозин с  $IC_{50} < 2$   $\mu$ М против всех изученных энтеровирусов.

**Заключение.** Экспериментальный фенотипический скрининг 102 аналогов нуклеозидов выявил потенциальные ингибиторы энтеровирусов вида А, а также ингибиторы широкого спектра энтеровирусов. Полученные результаты станут основой для дальнейшего анализа противовирусной активности указанных соединений с целью создания специфических противовирусных средств.

#### Литература:

1. de Crom S.C., Rossen J.W., van Furth A.M., Obihara C.C. Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview // Eur. J. Pediatr. 2016. V. 175 (8). P. 1023–1029.



2. Chang P.C., Chen S.C., Chen K.T. The Current Status of the Disease Caused by Enterovirus 71 Infections: Epidemiology, Pathogenesis, Molecular Epidemiology, and Vaccine Development // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. V. 13 (9). P. 890.
3. Nelson R. Outbreaks of enterovirus D68 continue across the USA // *Lancet Respir. Med.* 2014. V. 2 (10). P. 791.
4. Yang T., Li H., Yue L., Song X., Xie T., Ma S., Meng H., Zhang Y., He X., Long R., Yang R., Luo F., Xie Z., Li Q. A comparative study of multiple clinical enterovirus 71 isolates and evaluation of cross protection of inactivated vaccine strain FY-23 K-B in vitro // *Virology*. 2017. V. 14 (1). P. 206.
5. Jordheim L.P., Durantel D., Zoulim F., Dumontet C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013. V. 12 (6). P. 447–464.
6. Debing Y., Neyts J., Delang L. The future of antivirals: broad-spectrum inhibitors // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2015. V. 28 (6). P. 596–602.
7. Bauer L., Lyoo H., van der Schaar H.M., Strating J.R.P.M., van Kuppeveld F.J.M. Direct-acting antivirals and host-targeting strategies to combat enterovirus infections // *Curr. Opin. Virol.* 2017. V. 24. P. 1–8.

УДК: 579.61

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ФТОРХИНОЛОНАМ И МАКРОЛИДАМ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МИКОПЛАЗМ

**Колесникова Е. А., Бруснигина Н. Ф., Махова М. А., Алексеева А. Е.,  
Черневская О. М., Барышева Н. Н., Орлова К. А.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** С целью определения молекулярного механизма резистентности к фторхинолонам и макролидам были исследованы клинические изоляты *M. hominis* (10), *U. urealyticum* (4), *U. parvum* (2), выделенные у женщин и мужчин репродуктивного возраста. Проведено полногеномное секвенирование на платформе Illumina секвенаторе MiSeq (США). Показано, что устойчивость к фторхинолонам у клинических изолятов микоплазм и уреаплазм обусловлена как, классическими мутационными изменениями в генах *gyrA*, *parC* и *parE*, так и активным выведением антибиотика из клетки посредством различных эффлюксных систем: ABC и MATE. Гены, кодирующие белки семейства MATE, у российских изолятов *Mycoplasma hominis* описаны впервые. Биоинформационный анализ полных нуклеотидных последовательностей генома микоплазм и уреаплазм позволил установить, что резистентность к макролидам изолятов *U. urealyticum* и *U. parvum* обусловлена впервые выявленными мутационными изменениями в генах, кодирующих рибосомные белки L4 и L22, *M. hominis* – наличием замены цитозина на урацил в позиции 2610 V домена 23S рРНК.

**Ключевые слова:** *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, резистентность, макролиды, фторхинолоны.

### MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE TO FLUORHINOLONES AND MACROLIDES OF UROGENITAL MYCOPLASMAS

**Kolesnikova E. A., Brusnigina N. F., Makhova M. A., Alekseeva A. E., Chernevskaya O. M.,  
Barysheva N. N., Orlova K. A.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** In order to determine the molecular mechanism of resistance to fluoroquinolones and macrolides, clinical isolates of *M. hominis* (10), *U. urealyticum* (4), *U. parvum* (2), isolated from women and men of reproductive age, were studied. Complete genome sequencing was carried out on the Illumina platform using the MiSeq sequencer (USA). Fluoroquinolone resistance in part

of clinical isolates of mycoplasmas and ureaplasmas was shown to be due to classical mutational changes in the *gyrA*, *parC* and *parE* genes, and in others, to active elimination of the antibiotic from the cell through various efflux systems: ABC and MATE. The genes encoding the MATE family of proteins are described for the first time in the Russian isolates of *Mycoplasma hominis*. Bioinformatics analysis of the complete nucleotide sequences of the *Mycoplasma* and *Ureaplasma* genome made it possible to establish that the resistance to macrolides of the isolates *U. urealyticum* and *U. parvum* is due to the newly detected mutational changes in the genes encoding the L4 and L22 ribosomal proteins, *M. hominis* – the presence of a replacement of cytosine with uracil at position 2610 V of the 23S rRNA domain.

**Key words:** *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, resistance, macrolide, fluoroquinolone, molecular mechanisms.

**Введение.** Антибиотикорезистентность микроорганизмов, в том числе урогенитальных микоплазм, является общепризнанной медико-биологической проблемой и рассматривается международными экспертами как реальная угроза здоровью населения, глобальной и национальной безопасности [1]. Бактерии родов *Mycoplasma* и *Ureaplasma* доминируют в последнее время в этиологии урогенитальных инфекций и характеризуются высоким уровнем генетического полиморфизма, ответственного за формирование их антибиотикорезистентности, в том числе к фторхинолонам и макролидам [2, 3].

Механизм антибактериальной активности фторхинолонов заключается в угнетении двух ключевых ферментов бактериальной клетки: ДНК-гиразы и ДНК-топоизомеразы IV. Развитие устойчивости микоплазм и уреаплазм к фторхинолонам чаще всего ассоциировано с мутациями в области QRDR генов – *gyrA* (субъединица А ДНК-гиразы), *gyrB* (субъединица В), *parC* (субъединица А топоизомеразы IV), *parE* (субъединица В) [4].

Механизм действия макролидов обусловлен торможением синтеза белка в микробной клетке за счет его связывания с 50S-субъединицей рибосомы. Развитие устойчивости к антибактериальным препаратам из группы макролидов у микоплазм чаще всего обусловлено мутациями в гене 23S рРНК и генах, кодирующих рибосомные белки L4 и L22 [5].

Другим хорошо изученным способом устойчивости урогенитальных микоплазм к действию антибиотиков, является активное выведение антибиотиков из клетки посредством работы эндогенных насосов типа ABC транспортеров [6].

**Целью** работы являлось определение молекулярных механизмов резистентности к фторхинолонам и макролидам клинических изолятов *M. hominis*, *U. urealyticum* и *U. parvum* с использованием NGS секвенирования.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служили клинические изоляты *M. hominis* (10), *U. urealyticum* (4) и *U. parvum* (2), выделенные из соскобов эпителия цервикального канала женщин и уретры мужчин, пациентов медицинских учреждений г. Нижнего Новгорода. Все изоляты уреаплазм характеризовались полирезистентностью, а *M. hominis* – устойчивостью к одному антибиотику. Индикацию, идентификацию, определение концентрации и антибиотикограммы осуществляли с использованием коммерческих, жидких дифференциально-диагностических сред производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора (ПУ № ФСР 2008/03366).

Выделение и очистку ДНК исследуемых образцов проводили с использованием набора «Ампли-Сенс ДНК-сорб-АМ» (ЦНИИЭ). Подготовку библиотеки ДНК для секвенирования осуществляли с использованием набора Nextera XT (США). Концентрацию ДНК в образцах определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Австрия). В качестве референсов были выбраны полногеномные последовательности *Mycoplasma hominis* ATCC 23114 (GenBank FP236530.1), *Ureaplasma urealyticum* serovar 10 str. ATCC 33699 (GenBank NC\_011374.1), *Ureaplasma parvum* serovar 3 str. ATCC 700970 (GenBank NC\_002162.1). Полногеномное секвенирование проводили на платформе Illumina секвенаторе MiSeq. Визуализацию и анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения UGENE Unipro.

Аннотацию генома проводили с использованием сервера RAST (Rapid Annotation using Subsystem Technology) и NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP).

**Результаты и обсуждение.** Результаты полногеномного секвенирования позволили определить, что у двух штаммов *M. hominis* (M45 и M57), устойчивых к ципрофлоксацину, обнаружены мутации в QRDR области гена *gyrA*, приводящие к аминокислотной замене серина на лейцин в 83 позиции А-субъединицы ДНК-гиразы. Мутационных изменений в «горячих точках» гена *gyrB* у исследуемых изолятов микоплазм и уреаплазм нами не обнаружено.

Следует отметить, что ген *parC* изучаемых изолятов *M. hominis*, *U. urealyticum* и *U. parvum* отличался большим количеством однонуклеотидных полиморфизмов по сравнению с генами *parC* референс-штаммов. У двух исследуемых штаммов *M. hominis* (1002 и 1866), устойчивых к препаратам фторхинолонового ряда в QRDR области гена *parC* выявлена мутация, приводящая к замене лизина на аргинин в 144 положении. У изолята *U. parvum* 445 в гене *parC* выявлена мутация С248Т, приводящая к аминокислотной замене серина на лейцин в 83 позиции. Анализ нуклеотидной последовательности генов *parE* позволил определить, что мутации этого гена у изолята *U. urealyticum* 1000а затрагивают кодоны аминокислот, а именно детерминируют аминокислотные замены В-субъединицы топоизомеразы IV в 151 и 417 позициях. Кроме этого, в позициях 145 и 153 найдены дополнительные, ранее не описанные, аминокислотные замены, вероятно, также участвующие в процессе формирования фторхинолон-резистентности данного изолята.

При изучении молекулярного механизма устойчивости к макролидам установлено, что в гене 23S рРНК 10 изолятов микоплазм, имеющих генетически закрепленную резистентность к эритромицину, выявлена замена гуанина на аденин в позиции 2057 (по *E. coli*). У всех исследуемых изолятов микоплазм, за исключением *M. hominis* 1861, была выявлена замена цитозина на урацил в позиции 2610. Ранее эта замена была описана у макролид-резистентных штаммов *S. pneumoniae* [7]. Отмечено, что у изолята *M. hominis* 529 кроме точечных, нуклеотидных замен в 23S рРНК найдены изменения в гене, кодирующем рибосомный белок L22.

У всех клинических изолятов *U. urealyticum* и *U. parvum*, включенных в исследование, классических, нуклеотидных замен в V домене гена 23S рРНК нами не обнаружено. Молекулярный механизм макролид-резистентности *U. urealyticum* и *U. parvum* обусловлен впервые описанными мутационными изменениями в генах, кодирующих рибосомные белки L4 и L22 (таблица).

**Таблица.** Аминокислотные замены в белках L4 и L22 изолятов *Ureaplasma ssp.*

Изолят	Мутации	
	Нуклеотидные замены	Аминокислотные замены
<b>Аминокислотные замены в белке L4 изолятов <i>Ureaplasma ssp.</i></b>		
<i>U. urealyticum</i> 445	A484C	162 аспарагин (N) – гистидин (H)
<i>U. parvum</i> 445a	A241G	81 аланин (A) – треонин (T)
	C480A	160 валин (V) – аланин (A)
	A484C	162 аспарагин (N) – гистидин (H)
<i>U. urealyticum</i> 1000 <i>U. urealyticum</i> 1051	G242C	81 аланин (A) – глицин (G)
	C480A	160 валин (V) – аланин (A)
	A484C	162 аспарагин (N) – гистидин (H)
<b>Аминокислотные замены в белке L22 изолятов <i>Ureaplasma ssp.</i></b>		
<i>U. urealyticum</i> 445	G654A	219 валин (V) → изолейцин (I)
<i>U. urealyticum</i> 1000a <i>U. parvum</i> 1051a	C394U	132 аланин (A) – валин (V)
	A406G	136 изолейцин (I) – валин (V)
	C454U	152 изолейцин (I) – треонин (T)
	G556A	186 лизин (K) – глут. кислота (E)
	A655G	219 изолейцин (I) – валин (V)
	G773A	258 серин (S) – аспарагин (N)

Определено, что изоляты *M. hominis* 529 и *U. urealyticum* (445, 1051) фенотипически характеризовались устойчивостью к фторхинолонам, но мутационные изменения в QRDR области генов, кодирующих топоизомеразы, не обнаружены. Вероятнее всего, это связано с активным выведением антибиотика из клетки за счет работы ABC-транспортеров, которые обнаружены в геноме всех исследуемых клинических изолятов *M. hominis*, *U. urealyticum* и *U. parvum*. Кроме ABC – транспортеров, в геноме всех исследуемых *M. hominis* обнаружены гены, кодирующие белки семейства MATE, которые являются аналогами эффлюксной системы многих бактерий и ответственны за формирование множественной лекарственной устойчивости [6].

Биоинформационный анализ генома исследуемых штаммов *M. hominis* позволил определить, что гены, кодирующие белки семейства MATE, не относятся к классическим эндогенным насосам системы активного эффлюкса (как например – AcrB у *E. coli*, MexB у *Pseudomonas aeruginosa*, PmgA у *Streptococcus pneumoniae*), а являются многокомпонентными, и содержат в своем составе неполные гомологичные последовательности двух доменов, таких как суперсемейства – MATE\_like superfamily (MATE\_like 5, 6, 8, 4, 14; MATE\_MepA\_like; MATE\_yoeA\_like) и NorM superfamily (vmrA, NorM, matE).

**Заключение.** Таким образом, впервые в Нижнем Новгороде проведено полногеномное секвенирование клинических изолятов *M. hominis*, *U. urealyticum* и *U. parvum*, устойчивых к фторхинолонам и макролидам, что позволило определить основные молекулярные механизмы их резистентности. Проведение подобных исследований необходимо для оценки структуры популяции урогенитальных микоплазм, распространенности полирезистентных штаммов и способствует осуществлению эффективного молекулярно-биологического мониторинга. Мутационные изменения, выявленные в генах, кодирующих топоизомеразы и рибосомные белки у клинических изолятов урогенитальных микоплазм, могут выступать в качестве их дополнительных эпидемиологических маркеров.

#### Литература:

1. Козлов Р.С. Резистентность к антимикробным препаратам как реальная угроза национальной безопасности / Р.С. Козлов // Русский медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 321–323.
2. Плахова К.И. Клиническое значение генетической вариабельности генитальных микоплазм / К.И. Плахова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – № 2. – С. 76–83.
3. Кузьмин В.Н. Эффективная антибактериальная терапия микоплазменной инфекции у женщин репродуктивного возраста / В.Н. Кузьмин, М. И. Гусейнзаде // Consilium Medicum. – 2014. – № 3. – С. 49–52.
4. Meng D.Y. Molecular mechanism of fluoroquinolones resistance in *Mycoplasma hominis* clinical isolates / D.Y. Meng, C.J. Sun, J.B. Yu, J. Ma, W.C. Xue // Brazilian Journal of Microbiology. – 2014. – V. 45, № 1. P. 239–242.
5. Сидоренко С.В. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам / С.В. Сидоренко, В.И. Тишков // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 4. – С. 263–306.
6. Sun J. Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations / J. Sun, Z. Deng, A. Yan // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2014. – № 453. – P. 254–267.
7. Depardieu F. Mutation in 23S rRNA Responsible for Resistance to 16-Membered Macrolides and Streptogramins in *Streptococcus pneumoniae* / F. Depardieu, C. Patrice // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2001. – V. 45, № 1. – P. 319–323.

**ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА, НА НЕКОТОРЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ, ВЫЗВАННЫМ *OPISTHORCHIS FELINEUS***

**Косырева А. Н., Бакштановская И. В., Степанова Т. Ф., Степанова К. Б., Кальгина Г. А., Григорьева С. А., Курлаева Л. В., Зматракова Е. А., Ожирельева И. В.**

*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Исследования по выявлению генетических полиморфизмов, ассоциированных со степенью тяжести и клинической формой инвазионной болезни, могут показать, какие системы биохимического распознавания, детерминированные генетическим полиморфизмом популяций хозяина и паразита, приводят к резистентности или заболеванию. В настоящей работе проведено сопоставление некоторых лабораторных показателей основных обменных процессов организма у больных хронической формой описторхоза (вызванным *Opisthorchis felineus*) с различными генотипами – наличием и отсутствием мутаций в локусах, ассоциированных с предрасположенностью к нарушению липидного обмена. Обнаружено, что при обусловленных мутациями нарушениях функций определенных белков (в частности, аполипопротеинов Е и В) воздействие описторхозной инвазии приводит к более выраженному повреждению гепатобилиарной системы; мутация в других генах (сериновой протеазы PCSK9), оказывает своего рода «протективный» эффект на иммунную систему.

**EFFECT OF GENETIC POLYMORPHISMS ASSOCIATED WITH LIPID METABOLISM DISTURBANCE ON SOME LABORATORY PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC OPISTHORCHIASIS CAUSED BY *OPISTHORCHIS FELINEUS***

**Kosyreva A. N., Bakshtanovskaya I. V., Stepanova T. F., Stepanova K. B., Kalgina G. A., Grigorieva S. A., Kurlaeva L. V., Zmatrakova E. A., Ozhireleva I. V.**

*Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology of Rosпотребнадзор, Tyumen, Russia*

**Abstract.** Studies of genetic polymorphisms associated with the severity and clinical form of invasive disease can show which biochemical recognition systems determined by the genetic polymorphism of the host and parasite populations result in resistance or disease. In the present work, some laboratory indicators of the main metabolic processes of patients with chronic opisthorchiasis (caused by *Opisthorchis felineus*) are compared with various genotypes – the presence and absence of mutations in loci associated with a predisposition to lipid metabolism changes. It was found that when mutations impair the functions of certain proteins (in particular, apolipoproteins E and B), the effect of opisthorchosis invasion leads to more pronounced damage to the hepatobiliary system; a mutation in other genes (PCSK9 serine protease) has a kind of «protective» effect on the immune system.

**Введение.** 2/3 мировой заболеваемости описторхозом приходится на жителей России, где он занимает IV место среди первичной зарегистрированной паразитарной заболеваемости, II место в Уральском и III – в Сибирском федеральных округах. Это крупнейший в мире гиперэндемичный природный очаг [6]. Нами были проведены исследования на модели описторхоза, вызванной *Opisthorchis felineus*. Развитие описторхоза вызывает нарушения функций систем всего организма [3], в связи с этим применение иммунологических, молекулярно-биологических и биохимических лабораторных методов целесообразно в данном исследовании.

Многолетние исследования сотрудников нашего института позволили подробно описать иммунные реакции и состояние гепатобилиарной системы на разных стадиях

описторхозной инвазии и в динамике терапии [1, 2, 4]. Определение частоты встречаемости аллелей полиморфных генов у больных хроническим описторхозом и обнаружение их влияния на показатели метаболических процессов может способствовать выявлению маркеров предрасположенности к реализации определенной клинической формы заболевания при заражении возбудителем описторхоза.

**Материалы и методы.** Проведено исследование образцов крови 59 жителей г. Тюмени (средний возраст 50 лет) с диагнозом «Описторхоз, хроническая форма», подтвержденным копроовоскопически, проходивших патогенетическое и этиотропное лечение в клинике ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора.

Выделение тотальной ДНК человека из образцов крови проводили с использованием зарегистрированных коммерческих наборов. Генетические полиморфизмы выявляли методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа PyroMark24 и коммерческих наборов реагентов, предназначенных для оценки генетической предрасположенности к развитию нарушений липидного обмена путем обнаружения полиморфизмов в локусах:

- АРОЕ = Аполипопротеин E C112R T>C (rs429358), Аполипопротеин E R158C C>T (rs7412);
- АРОВ = Аполипопротеин В R3527Q G>A (rs5742904), Аполипопротеин В G>A (rs754523);
- PCSK9 = Сериновая протеаза T>C (rs11206510).

Проводили биохимические и иммунологические анализы крови с использованием зарегистрированных коммерческих наборов реагентов, в том числе определяли активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ),  $\alpha$ -амилазы (АМ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Между группами пациентов с наличием и отсутствием генетических полиморфизмов, ассоциированных с предрасположенностью к нарушению липидного обмена, обнаружены следующие достоверные отличия.

При наличии в генотипе редкого аллеля по полиморфизму R158C C>T в гене, кодирующем аполипопротеин E, активность АСТ была выше, чем в группе без мутации и не обнаружено ее нормализации через неделю после терапии. Наличие этого аллеля связано также с более высокой активностью ЩФ до и после лечения и АМ после терапии.

При наличии мутации в гене, кодирующем аполипопротеин В, нормализации активности АСТ и АЛТ через неделю после терапии не выявлено, в отличие от группы с нормальной функцией данного липопротеина. При наличии редкого аллеля С в гене, кодирующем сериновую протеазу PCSK9, у больных описторхозом до лечения обнаружены не выходящие за референсные пределы значения активности АСТ и АЛТ, ГГТ и ЩФ, которые были достоверно ниже, чем в группе без мутации.

По-видимому, отклонения в процессах обмена ЛПНП и ЛПОНП при наличии мутаций усугубляют повреждения функций гепатоцитов и процессов желчеотделения (судя по активности ЩФ) и замедляют восстановление после устранения возбудителя, а также усиливают выраженность аллергического компонента реакции на инвазию.

При наличии в генотипе редкого аллеля по первому полиморфизму rs429358 T>C гена аполипопротеина E уровень иммуноглобулина E выше, чем в группе без мутации.

У пациентов с комплексом полиморфизмов, нарушающих функции аполипопротеинов E и В, сериновой протеазы, выше процентное и абсолютное содержание В-лимфоцитов и уровень иммуноглобулина E. Вероятно, данные мутации способствуют большей активации гуморального звена иммунитета и аллергизации организма в ответ на описторхозную инвазию.

**Заключение.** Таким образом, наличие полиморфизмов, нарушающих регуляцию липидного обмена, разнонаправлено влияет на показатели иммунного ответа, возможно, смещая развитие иммунной реакции по разным направлениям (Т-хелперов 1 или 2 типа, и

др.) Обнаружено, что при обусловленных мутациями нарушениях функций определенных белков (аполипопротеины Е и В) воздействие описторхозной инвазии приводит к более выраженному повреждению гепатобилиарной системы; мутация в других генах (сериновой протеазы PCSK9), возможно, оказывает в некотором роде «протективный» эффект на иммунную систему [5]. В подгруппах с мутациями по отдельным полиморфизмам выявлены отличия по значению показателей именно в период после антигельминтной терапии, возможно, ассоциированные с ролью определенных белков в реактивности метаболических процессов на инвазию и на процесс лечения.

Полученные в настоящем исследовании результаты позволяют предполагать участие исследованных генетических полиморфизмов, модифицирующих метаболические процессы, вовлеченные в эндокринную и иммунную регуляцию, в предрасположенности к проявлению определенных клинических форм заболевания при заражении возбудителем описторхоза.

#### Литература:

1. Бакштановская И.В., Степанова Т.Ф. Анализ комплекса биохимических показателей функций печени при хроническом описторхозе. // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 2005. № 4. С. 18–21.
2. Кальгина Г.А., Степанова Т.Ф. Значение цитокинов в иммунитете при описторхозе. // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 2011. № 4. С. 49–54.
3. Лепехин А.В., Мефодьев В.В., Филатов В.Г., Бужак Н.С. Эпидемиология, клиника и профилактика описторхоза. // Томск: Изд. ТГУ, 1992. – 230 с.
4. Степанова Т.Ф. Описторхоз: новые взгляды на инвазионную болезнь, основы клинической реабилитации, методологию крупномасштабных оздоровительных работ. // Тюмень: Изд. ТюмГУ, 2002. – 196 с.
5. Yu Z., et al. PCSK9 variant, long-chain n-3 PUFAs, and risk of nonfatal myocardial infarction in Costa Rican Hispanics. // Am.J.Clin.Nutr. 2017;May;105(5):1198–1203.
6. <https://www.who.int/ru/> Дата обращения: 18.02.2019.

УДК: 579.842.11

### **ВЗАИМОСВЯЗЬ ВНУТРИВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ ПАТОГЕННОСТИ *ESCHERICHIA COLI***

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

<sup>1</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

**Аннотация.** Одним из наиболее распространенных возбудителей острых кишечных инфекций являются диареогенные *E. coli* (DEC). На основании факторов вирулентности и клинических проявлений штаммы DEC, классифицируются на шесть патогрупп: энтеропатогенные (EPEC), энтеротоксигенные (ETEC), энтероинвазивные (EIEC), энтерогеморрагические (EHEC), энтероагрегативные (EAEC) и диффузно-адгезивные (DAEC). Идентификация генов факторов вирулентности возможна только при использовании молекулярно-генетических методов. **Материалы и методы.** Изучено 77 штаммов *E. coli* серологических групп O26, O55 и O111, выделенных от детей с диарейным синдромом. Для установления серотиповой принадлежности (*rfb*, *fliC*) и генов факторов вирулентности DEC, детерминирующих синтез шигаподобных токсинов STX (*stx1* /*stx1a*, *stx1c*, *stx1d*; *stx2* /*stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*),  $\alpha$ -гемолизина (*hlyA*), энтерогемолизина (*ehxA*), фактора адгезии белка интимина (*eae*), формирования связывания пилей (*bfp*), а также регулятора транскрипции EAEC – *aggR*, применяли ПЦР с последующим анализом амплификации в агарозном геле. **Результаты.** Изученные штаммы *E. coli* принадлежали к шести серологическим вариантам: O26:H11, O55:H6, O55:H7, O55:H21, O111:H2 и O111:H8. 25 (32,5%) изученных штаммов по набору генов (*stx1/stx1a*, *eae*)

относились к ЕНЕС, из них 19 штаммов *E.coli* O26:H11, пять штаммов *E.coli* O111:H8 и один штамм *E. coli* O55:H7. Продукция STX была подтверждена в иммунохроматографическом тесте. 51 (66,2%) штаммов по набору генов вирулентности (*eae*, *bfp* и *hlyA*) принадлежали к группе ЕРЕС, из них 34 штамма *E.coli* O26:H11, пять штаммов *E.coli* O55:H6 и 12 штаммов *E.coli* O111:H2. Штамм *E. coli* O55:H21 имел ген *aggR*, характерный для группы ЕАЕС. **Выводы.** Популяция штаммов *E. coli* серологических групп O26, O111 и O55, выделяемых от детей с диарейным синдромом неоднородна по серотиповой принадлежности и наличию генов, кодирующих факторы патогенности ЕНЕС, ЕРЕС и ЕАЕС.

**Ключевые слова:** *E. coli*, диарейный синдром, ЕРЕС, ЕНЕС, факторы патогенности.

## THE RELATIONSHIP OF INTRA-SPECIES DIVERSITY AND GENETIC DETERMINANTS OF PATHOGENICITY *ESCHERICHIA COLI*

Makarova<sup>1,2</sup> M. A., Kaftyreva<sup>1,2</sup> L. A.

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a. Pasteur*

<sup>2</sup>*North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia*

**Abstract.** One of the most common causative agents of acute intestinal infections are diarrhegenic *E. coli* (DEC). Based on virulence factors and clinical manifestations, the DEC strains are lassified into six pathogroups: enteropathogenic (EPEC), enterotoxigenic (ETEC), enteroinvasive (EIEC), enterohemorrhagic (EHEC), enteroaggregative (EAEC), and diffuse adherent (DAEC). Identification of genes of virulence factors is possible only when using molecular genetic methods. **Materials and methods.** 77 strains of *E. coli* serological groups O26, O55 and O111 isolated from children with diarrhea were studied. To serotype (*rfb*, *fliC*) and virulence genes DEC determining the synthesis shiga-like toxins STX (*stx1 / stx1a*, *stx1c*, *stx1d*; *stx2 / stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*),  $\alpha$ -hemolysin (*hlyA*), enterohemolysin (*ehxA*), intimin protein adhesion factor (*eae*), bundle-forming pili (*bfp*), and transcription regulator EAEC (*aggR*), were used for PCR followed by amplification analysis on an agarose gel. **Results.** The *E. coli* strains studied belonged to six serological variants: O26: H11, O55: H6, O55: H7, O55: H21, O111: H2 and O111: H8. 25 (32.5%) of the studied strains on the set of genes (*stx1 / stx1a*, *eae*) belonged to ЕНЕС, of which 19 strains of *E. coli* O26: H11, five strains of *E. coli* O111: H8 and one strain of *E. coli* O55: H7. STX products were confirmed by immunochromatographic test. 51 (66.2%) strains by the virulence genes set (*eae*, *bfp* and *hlyA*) belonged to the ЕРЕС group, of which 34 strains *E. coli* O26: H11, five strains *E. coli* O55: H6 and 12 strains *E. coli* O111: H2. *E. coli* O55: H21 had the *aggR* characteristic of the ЕАЕС group. **Conclusion.** The population of *E.coli* serological groups O26, O111 and O55 isolated from children with diarrhea is heterogeneous in serotype identity and the presence of genes encoding the pathogenicity factors of ЕНЕС, ЕРЕС and ЕАЕС.

**Key words:** *E. coli*, diarrhea, ЕРЕС, ЕНЕС, pathogenicity factors.

**Введение.** Популяция вида *Escherichia coli* гетерогенна и насчитывает большое число разновидностей, различающихся по серологическим, ферментативным свойствам, подвижности, чувствительности к бактериофагам и колицинам, по антагонистической активности, патогенности и наличию комплекса факторов вирулентности. По современной классификации, *E.coli*, вызывающие диарейные заболевания человека (DEC), разделены на 6 патогрупп: энтеропатогенные (ЕРЕС), энтеротоксигенные (ЕТЕС), энтероинвазивные (ЕИЕС), энтерогеморрагические (ЕНЕС), энтероагрегативные (ЕАЕС) и диффузно-адгерентные (ДАЕС), которые различаются по наличию специфических генов, кодирующих факторы вирулентности. Биологическая неоднородность DEC определяет принципиальные различия в механизмах патогенеза, эпидемиологических особенностях и клинических проявлениях заболевания [1]. Среди DEC особое значение имеют штаммы ЕНЕС, продуцирующие шигаподобные токсины (STX). Острые кишечные инфекции (ОКИ) с проявлениями геморрагического колита (ГК) и гемолитико-уремического синдрома (ГУС), вызываемые ЕНЕС распространены во многих странах и регистрируются в виде спорадических случаев и вспышек. *E. coli* O157:H7 на сегодняшний день считается наиболее распространенным



серотипом ЕНЕС часто ассоциированным со вспышками и тяжелыми клиническими исходами [2]. Тем не менее, серогруппы, не относящиеся к O157, в частности O26, O55, O103, O111 и O145, известны своим патогенным потенциалом и составляют так называемую «пятерку» патогенных для человека не-O157 ЕНЕС [3]. В РФ лаборатории, которые не используют молекулярно-генетические методы или подтверждающие продукцию токсинов тесты, штаммы *E. coli* O26, O55, O111 регистрируют как ЕРЕС.

**Целью** работы явилось изучение генов, детерминирующих патогенность, серотиповую принадлежность штаммов *E. coli* O26, O55, O111 и анализ взаимосвязи внутривидового разнообразия с учетом генетических детерминант патогенности.

**Материалы и методы.** Изучено 77 штаммов *E. coli*, выделенных от детей с диарейным синдромом, из них *E. coli* O26 (53 штамма), O111 (17 штаммов) и O55 (7 штаммов). Выделение ДНК для использования в ПЦР с последующим анализом амплификации в агарозном геле проводили набором «InstaGene<sup>TM</sup>Matrix» (Bio-Rad, США) согласно прилагаемой инструкции. Для установления наличия генов, детерминирующих синтез O- и H-антигенов (*rfb*, *fliC*), STX (*stx1/stx1a*, *stx1c*, *stx1d*; *stx2/stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*), α-гемолизина (*hlyA*), энтерогемолизина (*ehxA*), факторов адгезии белка интимина (*eae*), формирования связывания пилей (*bfp*), а также регулятора транскрипции ЕАЕС (*aggR*), применяли традиционную ПЦР с использованием специфических праймеров, синтезируемых НПО «СибЭнзим», Россия [4]. Продукцию STX определяли иммунохроматографическими экспресс-тестами «RIDA Quick Веротоксин / *E. coli* O157» (R-Biopharm AG, Германия).

**Результаты и обсуждение.** Результаты изучения штаммов представлены в таблице.

**Таблица.** Серотиповая принадлежность и детерминанты патогенности штаммов *E. coli* O26, O55 и O111

Серотип	Кол-во штаммов	Гены вирулентности						
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>bfp</i>	<i>aggR</i>	<i>hlyA</i>	<i>ehxA</i>
O26:H11	19	<i>stx1a</i>	–	+	–	–	–	+
O26:H11	34	–	–	+	+	–	+	–
O55:H6	5	–	–	+	+	–	+	–
O55:H7	1	<i>stx1a</i>	–	+	–	–	–	+
O55:H21	1	–	–	–	–	+	–	–
O111:H2	12	–	–	+	+	–	+	–
O111:H8	5	<i>stx1a</i>	–	+	–	–	–	+
Всего	77	25	0	76	51	1	51	25

По данным молекулярного серотипирования изученные штаммы *E. coli* принадлежали к шести серологическим вариантам: O26:H11(53 штамма), O55:H6 (5 штаммов), O55:H7 (1 штамм), O55:H21 (1 штамм), O111:H2 (12 штаммов) и O111:H8 (5 штаммов).

Молекулярно-генетический анализ детерминант патогенности показал, что к группе ЕНЕС относились 25 (32,5%) штаммов, из них *E. coli* O26:H11 – 19 штаммов, *E. coli* O111:H8 – пять штаммов и один штамм *E. coli* O55:H7. В штаммах были обнаружены гены, кодирующие продукцию STX (*stx1/stx1a*), адгезию (*eae*) и синтез энтерогемолизина (*ehxA*). В иммунохроматографическом тесте в штаммах была подтверждена продукция STX. 34 штамма *E. coli* O26:H11, пять штаммов *E. coli* O55:H6 и 12 штаммов *E. coli* O111:H2 имели гены вирулентности *eae*, *bfp* и *hlyA* и по этой характеристике были отнесены к группе ЕРЕС. Штамм *E. coli* O55:H21 не имел гены вирулентности ЕНЕС и ЕРЕС, в тоже время он имел ген *aggR*, характерный для группы ЕАЕС, вызывающих персистирующие диареи у детей.

Исходя из значительной видовой вариабельности *E. coli*, выявление гетерогенности штаммов возможно только при применении современных молекулярно-генетических методов. Их использование расширяет аналитические возможности лабораторной диагностики ОКИ, устанавливает принадлежность штаммов *E. coli* к той или иной патогруппе DEC и позволяет судить об эпидемиологической роли, и патогенном потенциале при развитии диарейного синдрома. Результаты проведенных исследований показали

значительную вариабельность генетических детерминант патогенности в штаммах *E. coli* O26, O55 и O111 в зависимости от серотиповой принадлежности. По литературным данным, ЕНЕС O26, O55 и O111 нередко вызывали групповые заболевания ОКИ в странах Европы, США и Японии. Факторами передачи служили разнообразные пищевые продукты животного и растительного происхождения [5]. Согласно современным методическим указаниям по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *Escherichia coli*, продуцирующих СТХ, у штаммов, относящихся к серогруппам O26, O55 и O111 необходимо проводить детекцию и экспрессию генов, кодирующих токсины [6].

**Заключение.** Популяция штаммов *E. coli* серологических групп O26, O111 и O55, выделяемых от детей с диарейным синдромом гетерогенна по Н-антигенам и наличию генов, кодирующих факторы патогенности ЕНЕС, ЕРЕС и ЕАЕС. Полученные данные свидетельствуют о том, что для достоверной идентификации *E. coli* как возбудителей ОКИ, необходимо определение факторов патогенности или их генетических детерминант наряду с типированием по О- и Н-антигенам. Своевременная этиологическая диагностика ЕНЕС-ассоциированных ГК позволит проводить коррекцию терапии пациентам для снижения риска развития тяжелых осложнений в виде ГУС и летального исхода.

#### Литература:

1. Kaper James B., Nataro James P., Mobley Harry L.T. Pathogenic *Escherichia coli* // Nat Rev Microbiol. 2004. V. 2. P. 123–140.
2. Mayer C.L, Leibowitz C.S, Kurosawa S., Stearns-Kurosawa D.J. Shiga toxins and the pathophysiology of hemolytic uremic syndrome in humans and animals // Toxins (Basel). 2012. V. 4. P. 1261–1287.
3. Battelheim K.A. The non-O157 shiga-toxigenic (verotoxigenic) *Escherichia coli*: under-recognized pathogens // Crit Rev Microbiol. 2007. Vol. 33. P. 67–87.
4. Madic J., Vingadassalon N., Garam C. et al. Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28, and O157:H7 in Raw-Milk Cheeses by Multiplex Real-Time PCR // Appl Environ Microbiol. 2011. V. 77. P. 2035–2041.
5. Valilis E., Pamsey A., Sidiq S. et al. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* – A poorly appreciated enteric pathogen // Int J Infect Dis. 2018. V. 75. P. 82–87.
6. МУК 4.2.2963-11 Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *Escherichia coli*, продуцирующих шига-токсины (СТЕС-культуры), и обнаружению возбудителей СТЕС-инфекций в пищевых продуктах. Утв. Гл. гос. сан. врачом РФ Г.Г. Онищенко 19.08.2011.

УДК: 571.27

## **СОЗДАНИЕ ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* ДЛЯ ПРОДУКЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ**

**Мохонов<sup>1,2</sup> В. В., Новиков<sup>1,2</sup> Д. В., Новиков<sup>1,2</sup> В. В.**

<sup>1</sup>ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

**Аннотация.** Одним из важных элементов бактериальной клетки является способность к гиперпродукции биологически активных веществ, в частности, рекомбинантных белков, для профилактики и лечения различных заболеваний. Для глобального применения последних, экспрессионные системы, созданные на базе *Escherichia coli*, являются наиболее предпочтительными. Основным недостатком прокариотической системы экспрессии является накопление целевых белков в виде «телец включений», что затрудняет их дальнейшее использование. Одной из причин агрегирования рекомбинантных полипептидов является нарушение окислительно-восстановительного баланса в клетке, что, в свою очередь, приводит к формированию некорректных (спонтанных) ковалентных -S-S- связей, а, следовательно, изменению структуры белка. В цитоплазме *E. coli* ключевую роль в этом

процессе выполняет тиоредоксинредуктаза (EC 1.6.4.5), которая кодируется геном *TrxB*. В настоящей работе, на базе *E. coli* C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X методом геномного редактирования ( $\lambda$ red гомологичная рекомбинация) получен штамм, в котором был удален ген *TrxB*. Подобная мутация позволяет снизить частоту возникновения спонтанных дисульфидных связей в белке и увеличить растворимость последнего. Анализ продукции рекомбинантных полипептидов (на примере биспецифического антитела против hTNF и F4/80) показал, что подавляющая часть белка находится в растворимой и активной форме.

## **ESCHERICHIA COLI STRAIN DEVELOPMENT FOR PRODUCTION RECOMBINANT PROTEINS**

**Mokhonov<sup>1,2</sup> V. V., Novikov<sup>1,2</sup> D. V., Novikov<sup>1,2</sup> V. V.**

<sup>1</sup>*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>2</sup>*Lobachevsky Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** One of the important elements of the bacterial cell is the ability to overproduce biologically active substances, in particular, recombinant proteins, for the prevention and treatment of a wide range of diseases. The prokaryotic expression system, especially *Escherichia coli*, is the preferred expression host for producing vaccines for global use. The main disadvantage of the prokaryotic expression system is the accumulation of target proteins in the form of «inclusion bodies», which complicates their further use. One of the reasons for the aggregation of recombinant polypeptides is an alteration of the ox-redox balance in the cell, which in turn leads to the formation of incorrect (spontaneous) covalent -S-S- bonds, and, consequently, changes in the structure of the protein. A key role in this process is played by thioredoxin reductase (EC 1.6.4.5) in cytoplasm of *E. coli*, which is encoded by the *TrxB* gene. In this paper, based on *E. coli* C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X, a strain in which the *TrxB* gene was removed was obtained by genomic editing ( $\lambda$ red homologous recombination). This mutation reduces the incidence of spontaneous disulfide bonds in the protein and increases the solubility of the latter. Preliminary analysis of the production of recombinant polypeptides (by the example of the bispecific antibody against hTNF and F4/80) showed that the vast majority of the protein is in a soluble and active form.

**Введение.** С появлением технологии рекомбинантных ДНК с 1970-х годов стремительно развивается производство белковых препаратов для профилактики и терапии заболеваний инфекционной и иной природы. На сегодняшний день одобрены сотни уникальных препаратов. Одна треть этих средств производится с использованием *E. coli* в качестве продуцента [1-3]. Использование кишечной палочки для производства связано с ее быстрым ростом, недорогими средами и простотой масштабирования.

Образование дисульфидных связей является одной проблемой, возникающей при экспрессии эукариотических белков в бактериальных клетках. В цитоплазме *E. coli* транспорт электронов осуществляется как минимум двумя путями, куда вовлечены: 1) флавофермент тиоредоксинредуктаза (*trxB*) и его партнеры *trxA* и *trxC*, 2) глутаредоксины и пара глутатион/глутатионредуктаза (*gor*) [4]. Внутренняя среда *E. coli* считается строго восстанавливающей и может быть изменена путем нокаута *trxB* гена, что может формировать -S-S- связей и стабилизировать структуру белка [5-7]. В литературе описаны штаммы *E. coli*, несущие делеции гена *TrxB* [8, 9]. Примером использования *TrxB*-дефицитных штаммов может служить получение полноразмерных молекул антител в цитоплазме прокариотической клетки [10]. Однако, полученные мутанты имеют основной недостаток – присутствие в геноме клетки множества генов резистентности к антибиотикам, таких как *KmR* и *TetR*. Этот факт ограничивает возможности использования широкого спектра экспрессионных плазмид [11]. Используя современные подходы к геномному редактированию, нами получен штамм *E. coli*, несущий нокаут *TrxB* и характеризующийся отсутствием какой-либо антибиотикорезистентности.

## Материалы и методы.

1. Олигонуклеотиды, ДНК/векторы и штаммы, использованные в работе представлены в таблице.

**Таблица.** Праймеры, ДНК/векторы и штаммы, использованные в настоящей работе

Название	Описание	Назначение
Штаммы <i>E. coli</i>		
C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X	F- ompT hsdSB(rB- mB-) gal dcm, $\Delta$ SlyD/X. Штамм содержащий мутацию (-и), позволяющую продуцировать токсичные белки (Lucigen, США)	Получение $\Delta$ TrxB мутанта <i>E. coli</i>
Олигонуклеотиды (5'-3')		
TrxBFseq	TTACGTCTGTAAATTCCTACAATC	Секвенирование
TrxBRseq	GATTTATTCATTGCACGCTTAGCAG	
TrxBFrec	TAAATTCCTACAATCCTGCCCATTTGCTGCCAACAACTATGGGGATCTCTGTGTAGGCTGGAGCTGCTTCG	Нокаут <i>TrxB</i> гена в <i>E. coli</i>
TrxBRrec	CCATAGTCGCATGGTGTGCGCCTTCTTTA CTTTTGTACTGATTTGTA AACATATG AATATCCTCCTTAGTTC	
ДНК/векторы		
pKD46	Содержит Gam, Vet и Eho (13)	Нокаут <i>TrxB</i> гена в <i>E. coli</i>
pKD4	Плазмида, используемая в качестве матрицы KmR-гена (13)	
pCP20	Содержит FLP-рекомбиназу (13)	

2. Молекулярно-биологические и микробиологические манипуляции проведены согласно протоколам, описанным в руководстве «Molecular cloning, a laboratory manual» [12].

3. Получение штамма *E. coli*, содержащего делецию гена *TrxB*. Продукт ПЦР, содержащий ген KmR, окруженный последовательностями (50 н.о.), гомологичными 5'- и 3'-локусу *TrxB* размером 1578 п.о. был получен с помощью Phusion-полимеразы (New England Biolabs, США), праймеров TrxBFrec и TrxBRrec и плазмиды pKD4. Фрагмент обрабатывали DpnI, очищали с помощью GeneElute kit (Sigma-Aldrich Corporation, США) и суспендировали в 10 мМ Трис, pH 8.0.

*E. coli* (C43(DE3) $\Delta$ SlyD), трансформированные плазмидой pKD46, выращивали при 30°C в SOB [13]. Среда содержала ампициллин (50 мкг/мл) и 0.4% (w/v) L-арабинозы. Культуру клеток (20 мл) при OD<sub>600</sub>=0,6 трижды промывали охлажденным 10% глицерином и ресуспендировали в 200 мкл последнего. Трансформацию *E. coli* ПЦР-фрагментом проводили с использованием электропоратора Bio-Rad Gene Pulser II (Bio-Rad, США). Далее трансформантов растили при 37°C на чашке Петри с Km (25 мкг/мл) в течение 16–22 ч. Скрининг мутантов проводили методом ПЦР с использованием праймеров TrxBFseq, TrxBRseq. Размер фрагмента, где произошел нокаут *TrxB*, составил 1679 н.о. Для штаммов, содержащих нативный *TrxB*, фрагмент составил 1158 н.о. Удаление pKD46 из  $\Delta$ TrxB-позитивных клонов осуществляли путем инкубации культуры при 43°C в течение 16–22 часов. Дальнейшие манипуляции проводили с Amp-чувствительными и Km-устойчивыми клонами. Клетки трансформировали плазмидой pCP20. Amp/Cm-резистентные трансформанты отбирали при 30°C. Затем несколько колоний неселективно выращивали при 43°C и тестировали на потерю устойчивости ко всем антибиотикам. В заключение была проведена ПЦР Km-чувствительных клонов с использованием праймеров TrxBFseq, TrxBRseq. Размер фрагментов, утративших устойчивость к Km, составил 255 н.о.

3. Определение нуклеотидной последовательности. Весь материал секвенировали с использованием генетического анализатора ABI Prism 310 (Thermo Fisher Scientific, США).

4. Программное обеспечение. Для дизайна праймеров, анализа нуклеиновых кислот и белков использовали пакеты программного обеспечения Lasergene 7.1.0 (DNASTAR, США) и Amplify 4 (University of Wisconsin, США).

**Результаты и обсуждение.** Для создания *E. coli* с делецией в *TrxB* в качестве базового штамма был выбран штамм C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X. Он обладает рядом уникальных особенностей: 1) потенциальной способностью к экспрессии высокотоксичных белков [14]; 2) простотой очистки рекомбинантных протеинов, продуцируемых этим штаммом, не требующей проведения дополнительных стадий для избавления от контаминантов, которые ко-очищаются с целевым белком [15]. После проведения Red гомологичной рекомбинации между геном *TrxB* и последовательностью, кодирующей аминокликозид-3'-фосфотрансферазу (ген резистентности к канамицину), более 90% клонов содержали делецию тиоредоксинредуктазы. Плазида pKD46, кодирующая Gam, Vet и Eho [13], содержит в своем составе термочувствительный репликон – [cI857](lambda)(ts). При инкубации полученных клонов при 43°C был получен промежуточный штамм C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X, *TrxB::KmR*, не содержащий этой хелперной плазмиды. Поскольку ген *KmR* на 5'- и 3'-концах содержит FRT-повторы, то с помощью FLP-рекомбинации возможно получение конечного штамма C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X, $\Delta$ *TrxB*, утратившего способность к аккумуляции канамицина. Для этого была проведена трансформация C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X,*TrxB::KmR* плазмидой pCP20, кодирующей FLP-рекомбиназу под контролем конститутивного промотора  $\lambda$ p<sub>R</sub>. После инкубации трансформантов при 43°C клетки *E. coli* утратили как хелперный вектор pCP20, так и устойчивость к антибиотику. В итоге был получен новый штамм кишечной палочки C43(DE3) $\Delta$ SlyD/X, $\Delta$ *TrxB*. Все этапы модификации штамма контролировались секвенированием локуса *TrxB*. Использование штамма для продукции рекомбинантных полипептидов на примере биспецифического антитела против TNF человека и белка F4/80 показал, что подавляющая часть белка находится в растворимой и активной форме.

Ранее на базе штамма BL21(DE3) были получены похожие мутантные *E. coli* с делецией гена *TrxB* (AD494(DE3) и Origami(DE3) (Merck KGaA, Германия). Однако наличие дополнительных устойчивостей к антибиотикам, таким как канамицин, тетрациклин и спектиномицин, ограничивает использование целого ряда экспрессионных векторов. В настоящей работе получен штамм, имеющий ряд преимуществ, таких, как продукция широкого спектра белков (как про-, так и эукариотических), способность формирования корректных дисульфидных связей в цитоплазматических белках, а также упрощенный процесс очистки.

**Заключение.** Белки переходят от простых рекомбинантных версий натуральных продуктов к более сложным конструкциям, которые получены в результате рационального процесса проектирования как экспрессионных векторов, так и штаммов-продуцентов. Новые штаммы-продуценты *E. coli* являются мощным инструментом в производстве биофармацевтических препаратов для улучшения их свойств, таких, как стабильность и функциональная активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ №17-04-01137.

#### Литература:

1. Choi J.H., Keum K.C., Lee S.Y. Production of recombinant proteins by high cell density culture of *Escherichia coli* // Chem Eng Sci. 2006. V. 61 (3). P. 876–885.
2. Ferrer-Miralles N., Domingo-Espín J., Corchero J., Vázquez E., Villaverde A. Microbial factories for recombinant pharmaceuticals. // Microb Cell Fact. 2009. V. 8 (1). P. 17.
3. Graumann K., Premstaller A. Manufacturing of recombinant therapeutic proteins in microbial systems. Biotechnol J. 2006. V. 1 (2). P. 164–186.
4. Shiloach J., Fass R. Growing *E. coli* to high cell density – a historical perspective on method development // Biotechnol Adv. 2005. V. 23 (5). P. 345–357.
5. Derman A.I., Prinz W.A., Belin D., Beckwith J. Mutations that allow disulfide bond formation in the cytoplasm of *Escherichia coli* // Science. 1993. V. 262. P. 1744–1747.

6. Hatahet F., Nguyen V.D., Salo K.E.H., Ruddock L.W. Disruption of reducing pathways is not essential for efficient disulfide bond formation in the cytoplasm of *E. coli*. // *Microbial Cell Factories*. 2010. V. 9. P. 67.
7. Hatahet F., Ruddock L.W. Topological plasticity of enzymes involved in disulfide bond formation allows catalysis in either the periplasm or the cytoplasm. // *J Mol Biol*. 2013. V. 425. P. 3268–3276.
8. Lobstein J., Emrich C.A., Jeans C., Faulkner M., Riggs P., Berkmen M. Shuffle, a novel *Escherichia coli* protein expression strain capable of correctly folding disulfide bonded proteins in its cytoplasm // *Microb. Cell Fact*. 2012. V. 11. P. 56.
9. Bessette P.H., Aslund F., Beckwith J., Georgiou G. Efficient folding of proteins with multiple disulfide bonds in the *Escherichia coli* cytoplasm // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1999. V. 96. P. 13703–13708.
10. Robinson M.P., Ke N., Lobstein J., Peterson C., Szkodny A., Mansell T.J., Tuckey C., Riggs P.D., Colussi P.A., Noren C.J., Taron C.H., DeLisa M.P., Berkmen M. 2015. Efficient expression of full-length antibodies in the cytoplasm of engineered bacteria. // *Nat. Commun*. V. 6. P. 8072.
11. Prinz W.A., Aslund F., Holmgren A., Beckwith J. The role of the thioredoxin and glutaredoxin pathways in reducing protein disulfide bonds in the *Escherichia coli* cytoplasm. // *J Biol Chem*. 1997. V. 272 (25). P. 15661–15667.
12. Green, M.R. and Sambrook, J. 2012. *Molecular cloning: a laboratory manual*, Cold Spring Harbor, N.Y. 2012.
13. Datsenko K.A., Wanner B.L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000. V. 97(12). P. 6640–6645.
14. Miroux B., Walker J. Over-production of proteins in *Escherichia coli*: mutant hosts that allow synthesis of some membrane proteins and globular proteins at high levels // *J Mol Biol*. 1996. V. 260. P. 289–298.
15. Mokhonov V.V., Vasilenko E.A., Gorshkova E.N., Astrakhantseva I.V., Novikov D.V., Novikov V.V. SlyD-deficient *Escherichia coli* strains: A highway to contaminant-free protein extraction. // *Biochem Biophys Res Commun*. 2018. V. 499 (4). P. 967–972.

УДК: 616.98: 579.835.12

### **ОЦЕНКА ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ CD4<sup>+</sup> ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ПРЯМОМ КОНТАКТЕ С *H. PYLORI***

**Мохонова Е. В., Мелентьев Д. А., Лапин В. А., Талаева М. В.,  
Неумоина Н. В., Перфилова К. М.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора,  
Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** *H. pylori* считается этиологическим агентом острых и хронических форм гастрита, рака желудка и целого ряда других заболеваний. Существуют данные, что у многих пациентов, инфицированных *H. pylori*, значительно повышается содержание как FoxP3-положительных Т-рег клеток, так провоспалительных Т-лимфоцитов (Th17 и Th1). Неоднозначность вызываемых процессов, возможно, связана с участием компонентов микроокружения желудка или с прямым действием бактерии на лимфоциты. Целью работы являлась оценка способности *H. pylori* влиять на CD4<sup>+</sup> клетки (Т-рег, Th17, Th1 и их продукты) в условиях прямого контакта, без участия антигенпрезентирующих клеток. В ходе работы нами было показано, что *H. pylori* повышает количество CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Т-рег клеток в 2,5 раза, концентрацию IL-10 более чем в 200 раз, а INF-γ в 80 раз. В то же время уровень Th17 клеток не изменялся.

## ASSESSMENT OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF CD4<sup>+</sup> LYMPHOCYTES IN DIRECT CONTACT WITH *H. PYLORI*

Mokhonova E. V., Melent'ev D. A., Lapin V. A., Talaeva M. V.,  
Neumoina N. V., Perfilova K. M.

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia

**Abstract.** *H. pylori* is considered as etiological agent of acute and chronic forms of gastritis, gastric cancer and a number of other pathological conditions. Many patients infected with *H. pylori* have significant increase in the amount of both FoxP3-positive T-reg cells and pro-inflammatory T-lymphocytes (Th17 and Th1). The ambiguity of the processes may be caused due to the involvement of components of the microenvironment of the stomach or the direct bacteria effect on lymphocytes. The aim was to estimate the ability of *H. pylori* to influence CD4<sup>+</sup> cells (T-reg, Th17, Th1 and their products) under conditions of direct contact, without the participation of antigen-presenting cells. We showed that direct contact of CD4 positive lymphocytes with *H. pylori* increases the number of CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> cells by 2.5 times, the concentration of IL-10 more than 200 times, and INF- $\gamma$  80 times. However, the level of Th17 did not change.

**Введение.** *H. pylori* считается этиологическим агентом острых и хронических форм гастрита и рака желудка, а также целого ряда других заболеваний, в том числе аутоиммунных и аллергических [1-3].

Одним из механизмов, благоприятствующих длительному сохранению *H. pylori* в организме хозяина, является повышение содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Т-регуляторных клеток (Т-reg) и продукция ими противовоспалительных цитокинов, играющих значительную роль в контроле аутоиммунитета, аллергии и трансплантационной толерантности [4, 5]. Однако ряд работ свидетельствует о том, что *H. pylori* способен запускать провоспалительный иммунный ответ, характеризующийся избыточной активацией Т-хелперов 17 (Th17) и Т-хелперов 1 (Th1) типа и продукцией ими IL-17A и INF- $\gamma$ , соответственно [6, 7]. Неоднозначность вызываемых процессов, возможно, связана с участием компонентов микроокружения желудка или с прямым действием бактерии на лимфоциты.

**Целью** работы явилась оценка способности *H. pylori* влиять на CD4<sup>+</sup> клетки (Т-reg, Th17, Th1 и их продукты) в условиях прямого контакта, без участия антигенпрезентирующих клеток.

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили образцы цельной периферической крови пациентов (n=15), не имевших *H. pylori*-инфекции. Методом иммуномагнитной сепарации (EasySep, США) выделяли CD4<sup>+</sup> клетки и культивировали с *H. pylori* в соотношении 1:10 в течение 18 часов в микроаэрофильных условиях. Часть лимфоцитов культивировали с бактериями в присутствии дополнительных стимуляторов – моноклональных антител против (CD3, CD3/CD28) и оценивали процентное содержание Т-reg (CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>) и Th17 (CD161<sup>+</sup> или IL-17A<sup>+</sup>) методом проточной цитометрии. Негативными контролями служили лимфоциты без добавления *H. pylori*. Основные секретируемые продукты этих субпопуляций (IL-10 и INF- $\gamma$ ) определяли в культуральной жидкости методом ИФА.

**Результаты и обсуждение.** В контрольных культурах содержание Т-reg (CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>) составило 6,01±1,43% от всех CD4<sup>+</sup> клеток. Культивирование Т-лимфоцитов в присутствии *H. pylori* приводило к статистически значимому повышению числа Т-reg до 15,04±3,93%. Полученные данные совпадали с результатами стимуляции CD4<sup>+</sup> клеток антителами к CD3 или CD3/CD28, модулирующими сигнал, сходный с сигналом от антигенпрезентирующих клеток. После стимуляции антителами к CD3 содержание Т-reg составило 14,00±1,30%, а антителами к CD3/CD28 – 16,54±2,13%. В культуре CD4<sup>+</sup> клеток с добавлением *H. pylori* и дополнительной стимуляцией смесью антител (CD3/CD28) содержание Т-reg составило 16,93±3,74%. Во всех случаях содержание CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток, стимулированных

антителами к CD3/CD28, статистически значимо отличались от содержания не стимулированных лимфоцитов ( $P < 0,05$ ).

Данные цитометрии подтвердили исследованием концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 в культуре клеток. В контрольных образцах концентрация IL-10 составила  $0,75 \pm 1,50$  пг/мл. В то же время при культивировании CD4<sup>+</sup> клеток с *H. pylori* продукция IL-10 увеличивалась до  $160,75 \pm 84,27$  пг/мл. При этом количество IL-10 в культурах с добавлением антител к CD3 и *H. pylori* составило  $227,0 \pm 165,4$  пг/мл, а для культур *H. pylori*/CD3/CD28 –  $275,0 \pm 157,5$  пг/мл. Таким образом, *H. pylori* стимулировал дифференцировку лимфоцитов в сторону T-reg на уровне, сходном с активацией антителами.

Для проверки возможного провоспалительного действия *H. pylori* исследовали содержание CD161<sup>+</sup> и IL-17A<sup>+</sup> клеток, аналогично предыдущим экспериментам. Среднее содержание CD161<sup>+</sup> клеток в культурах без стимуляции бактериями составило  $20,07 \pm 0,72\%$ , а IL-17A<sup>+</sup> –  $0,27 \pm 0,08\%$  от всех CD4<sup>+</sup> клеток. После инкубации с *H. pylori* количество CD161<sup>+</sup> и IL-17A<sup>+</sup> клеток статистически значимо не изменялось. Присутствие *H. pylori* или антител к CD3 или CD3/CD28 в культуре CD4<sup>+</sup> клеток, приводило к повышению содержания CD161<sup>+</sup> клеток на 3–4%, но полученные различия были статистически не значимы. Изменений процентного содержания IL-17A<sup>+</sup> клеток также не было обнаружено. Содержание IL-17A<sup>+</sup> клеток не превышало 0,5% от всех CD4<sup>+</sup> клеток пробы, что не отличалось от нормального содержания IL-17A<sup>+</sup> клеток в крови человека [8, 9].

Активность Th1 клеток определяли по продукции CD4<sup>+</sup> клетками провоспалительного цитокина INF- $\gamma$ . В контрольных образцах продукция INF- $\gamma$  составила  $10,0 \pm 4,1$  пг/мл, а при добавлении *H. pylori* –  $835,0 \pm 351,4$  пг/мл. В присутствии антител к CD3 или CD3/CD28 продукция INF- $\gamma$  так же была повышена и совпадала с вариантом, получившим только бактериальную стимуляцию.

**Заключение.** Таким образом, культивирование Т-лимфоцитов в присутствии *H. pylori* приводит к повышению количества CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T-reg клеток в 2,5 раза и повышению секреции противовоспалительного цитокина IL-10. Так же контакт между *H. pylori* и Т-лимфоцитами вызывает повышение продукции INF- $\gamma$ , что свидетельствует об активации Th1 клеток. В то же время культивирование CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов не приводит к достоверному повышению CD161<sup>+</sup> и IL-17A<sup>+</sup> лимфоцитов в культурах клеток. Полученные данные свидетельствуют, что *H. pylori* вызывает как противовоспалительные, так и воспалительные реакции иммунной системы.

#### Литература:

1. *Helicobacter pylori* polyclonally activates murine CD4<sup>+</sup> T-cells in the absence of antigen-presenting cells / C. Rosenplänter, F. Sommer, P. Kleemann, A. Belkovets, A. Schmidt, M. Lohoff // Eur. J. Immunol. – 2007. – V. 37, № 7. – P. 1905–1915.
2. Microbes and viruses are bugging the gut in celiac disease. Are they friends or foes? / A. Lerner, M. Arleevskaya, A. Schmiedl, T. Matthias // Front Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – P. 1392.
3. *Helicobacter pylori* colonization is inversely associated with childhood asthma / Y. Chen, M.J. Blaser // J. Infect. Dis. – 2008. – V. 198. – P. 553–560.
4. Inflammasome activation by *Helicobacter pylori* and its Implications for persistence and immunity / S.K. Pachathundikandi, A. Müller, S. Backert // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2016. – V. 397. – P. 117–131.
5. *Helicobacter pylori* infection prevents allergic asthma in mouse models through the induction of regulatory T cells / I.C. Arnold, N. Dehzad, S. Reuter, H. Martin, B. Becher, C. Taube, A. Müller // Journal Clin. Invest. – 2011. – V. 121, № 8. – P. 3088–3093.
6. The effect of *Helicobacter pylori* on asthma and allergy / A. Amedei, G. Codolo, G. Del Prete, M. de Bernard, M.M. D'Elis // Journal Asthma. Allergy. – 2010. – V. 3. – P. 139–147.
7. Human peripheral and gastric lymphocyte responses to *Helicobacter pylori* NapA and AphC differ in infected and uninfected individuals. H.J. Windle, Y.S. Ang, V. Athie-Morales, R. McManus, D. Kelleher // Gut. – 2005. – V. 54, № 1. – P. 25–32.



8. Dendritic cell function in the host response to *Helicobacter pylori* infection of the gastric mucosa. J. Shiu, T.G. Blanchard *Pathog. // Dis.*, – 2013. V. 67, № 1, pp. 46–53.
9. Pre-differentiated Th1 and Th17 effector T cells in autoimmune gastritis: ag-specific regulatory T cells are more potent suppressors than polyclonal regulatory T cells / E.N. Huter, G.H. Stummvoll., R.J. DiPaolo D.D. Glass, E.M. Shevach // *Int. Immunopharmacol.* – 2009. – V. 9, № 5. – P. 540–545.

УДК: 61(063)

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ОТВЕТ КЛЕТОК КРОВИ НА НАНОЧАСТИЦЫ МАГНЕТИТА И КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ

Новиков<sup>1,2</sup> Д. В., Селиванова<sup>1</sup> С. Г., Красногорова<sup>2</sup> Н. В., Горшкова<sup>2</sup> Е. Н.,  
Плескова<sup>2</sup> С. Н., Новиков<sup>1,2</sup> В. В.

<sup>1</sup>ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной» Роспотребнадзора,  
Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный  
университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

**Аннотация.** Широкий потенциал применения наноразмерных материалов в медицине ограничен побочными эффектами, связанными с их токсичностью или ответом иммунной системы. Целью настоящей работы явилось исследование транскрипционного ответа лейкоцитов периферической крови человека на присутствие наноразмерных частиц магнетита и квантовых точек (QD-MPA и QD-PTVP). Методом ОТ-ПЦР в реальном времени исследовали изменения уровней мРНК генов, кодирующих интерлейкин-6 (IL6), интерлейкин-10 (IL10), интерлейкин-32 (IL32), фактор некроза опухоли (TNF), молекулы ICAM1, CD38, Fas и CD16 (FCGR3) в лимфоцитах, моноцитах и гранулоцитах периферической крови человека после инкубации с наночастицами. Установлено, что наночастицы вызывали активацию лимфоцитов, выраженную в повышении уровней мРНК ICAM1 и Fas, и повышение экспрессии генов провоспалительных цитокинов (TNF и IL6) в лимфоцитах и моноцитах.

## BLOOD CELLS TRANSCRIPTIONAL RESPONSE TO MAGNETITE AND QUANTUM DOTS NANOPARTICLES

Novikov<sup>1,2</sup> D. V., Selivanova<sup>1</sup> S. G., Krasnogorova<sup>2</sup> N. V., Gorshkova<sup>2</sup> E. N.,  
Pleskova<sup>2</sup> S. N., Novikov<sup>1,2</sup> V. V.

<sup>1</sup>Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>Lobachevsky State University, Nizhny Novgorod, Russia

**Abstract.** The wide potential nano-sized materials limited for use in medicine by the side effects associated with their toxicity or immune system response. The aim of the study was examination of the human peripheral blood leukocytes transcriptional response to the presence of nanoscale magnetite particles and quantum dots (QD-MPA and QD-PTVP). After incubation human peripheral blood lymphocytes, monocytes and granulocytes with nanoparticles the changes in IL6, IL10, IL32, TNF, ICAM1, CD38, Fas and CD16 (FCGR3) mRNA levels was studied by real-time PCR. It has been shown that nanoparticles induce lymphocyte activation that expressed in increasing ICAM1 and Fas mRNA levels, and induce elevation of the proinflammatory cytokines (TNF and IL6) mRNA levels in lymphocytes and monocytes.

**Введение.** Наноразмерные материалы широко используются в здравоохранении, сельском хозяйстве и промышленности. Особый интерес вызывает широкий потенциал применения наноразмерных материалов в медицине для диагностических или терапевтических целей. В диагностике наночастицы используют в качестве флуоресцентных меток для обнаружения патогенов или в качестве контрастных веществ. В терапии наноразмерные материалы применяют для адресной доставки лекарств, фотодинамической

терапии, термическом разрушении опухолей, а также в протезировании. В то же время, показана токсичность наночастиц для живых организмов. Негативное действие наночастиц является основным фактором, ограничивающим их использование в диагностике и лечении. В настоящее время исследователи часто сталкиваются с проблемой баланса между положительным эффектом наночастиц и побочными эффектами, связанными с их токсичностью или с ответом иммунной системы, что определяет важность изучения причин и механизмов их токсического действия [1].

Квантовые точки (QD) это полупроводниковые кристаллы, способные к флуоресценции в различных спектральных областях, что позволяет использовать их для визуализации патогенов, а также для изучения различных процессов в клетках, тканях и в организме в целом. Наночастицы на основе оксида железа (магнетит) используются в качестве контрастных веществ в магнитно-резонансной томографии.

**Целью** настоящей работы явилось исследование транскрипционного ответа лейкоцитов периферической крови человека на присутствие наноразмерных частиц магнетита и квантовых точек.

**Материалы и методы.** Исследование проводили на образцах периферической крови 20 доноров, предоставленных «Нижегородским областным центром крови им. Н. Я. Климовой». Клетки периферической крови разделяли в градиенте плотности фиколла-верографина на моноклеарную и нейтрофильную фракции. Выделение моноцитов проводили методом иммуномагнитной сепарации с использованием антител против CD14 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). В качестве лимфоцитарной фракции использовали моноклеарные клетки, обедненные CD14-положительными клетками. В работе использовали наночастицы производства ООО НТИЦ «Нанотех-Дубна» (Россия), детальная характеристика которых представлена в таблице. Полулетальную концентрацию (ЛК50) определяли по соотношению живых и мертвых клеток методом проточной цитометрии с использованием красителя Zombie Green. Фракции лейкоцитов в концентрации  $10^6$  клеток/мл инкубировали 3 часа в присутствии ЛК50 наночастиц, как описано ранее [2]. Изменение уровней мРНК TNF, IL-6, IL-10, IL32, ICAM1, CD38, Fas и FCGRIII исследовали методом ОТ-ПЦР в реальном времени, с применением праймеров и зондов, описанных ранее [3]. Уровни мРНК рассчитывали относительно мРНК тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы, активационного протеина зета [4], методом  $\Delta\Delta C_t$  с учетом эффективности реакции [5].

**Таблица.** Характеристика наночастиц

Название	Состав кора	Покрытие	Диаметр (нм)	ЛК50 (мг/мл)
Магнетит	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·FeO	–	20 ± 4	0,18
QD-MPA	CdSe/ZnS	Меркапто-пропионовая кислота C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	18.7 ± 2.4	0,25
QD-PTVP	CdSe/CdZnS/ZnS	Поливинилпиралидон гетеробифункциональный полимер с янтарным ангидридом и тиоловыми группами	21.0 ± 0.15	0,4

**Результаты и обсуждение.** Для характеристики изменений транскрипционного профиля генов, связанных с воспалением, нами были исследованы изменения уровней мРНК провоспалительных (TNF, IL6 и IL32) и противовоспалительного (IL10) цитокинов. Под действием магнетита в лимфоцитарной фракции наблюдалось значимое повышение уровня мРНК провоспалительного цитокина IL6 и снижение уровня мРНК противовоспалительного IL10. В ответ на присутствие QD-MPA и QD-PTVP в лимфоцитах регистрировалось значимое повышение уровней мРНК TNF. CD14-позитивные клетки отвечали на присутствие всех наночастиц повышением уровня мРНК IL6. Во фракции нейтрофильных гранулоцитов значимых изменений уровней мРНК исследуемых цитокинов обнаружено не было.

Для оценки изменений экспрессии генов, вовлеченных в активацию лейкоцитов крови в ответ на присутствие наночастиц, нами были исследованы изменения уровней мРНК молекул, принимающих участие в адгезии клеток (ICAM1, CD38), реализации внешнего пути апоптоза (Fas) и антителозависимой цитотоксичности (FCGR3A). Статистически значимые изменения уровней мРНК регистрировались только в лимфоцитарной фракции клеток периферической крови. Магнетит вызывал повышение уровней мРНК Fas. В ответ на присутствие квантовых точек в лимфоцитах регистрировалось повышение уровней мРНК Fas и ICAM1, а также снижение уровня мРНК FCGR3A.

**Заключение.** Таким образом, в ответ на присутствие исследуемых наночастиц лейкоциты периферической периферической крови повышают экспрессию провоспалительных цитокинов и молекул, являющихся маркерами активации. Однако профили экспрессии исследуемых генов отличаются для магнетита и квантовых точек. По-видимому, это связано с химическим составом наночастиц, который определяет сродство к рецепторам, представленным на поверхности различных популяций клеток. Неспецифические взаимодействия с различными мембранными рецепторами, модулируют передачу внутрь клетки отличающихся сигналов, что приводит к различиям в координации экспрессии генов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 16-14-10179.

#### Литература:

1. Sukhanova A. et al. Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties // *Nanoscale Research Letters* (2018) 13:44. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2457-x>.
2. Pleskova S. N. et al. Interactions of quantum dots with donor blood erythrocytes in vitro // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. V. 156, № 3. P. 384–388.
3. Новиков Д.В. и др. Корреляция экспрессии MUC1, ICAM1, IL32, FcγR3A и FoxP3 в опухолевых очагах больных раком молочной железы // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017. Т. 62 (1). С. 35–39.
4. Фомина С.Г. и др. Влияние наночастиц магнетита и квантовых точек на экспрессию референсных генов в клетках периферической крови // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018. № 8. С. 95–98.
5. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method // *Methods*. 2001. V. 25. P. 402–408.

УДК: 578.5

### **РЕАССОРТАНТНЫЕ ШТАММЫ РОТАВИРУСА А ГЕНОТИПА G4-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-N1 В НИЖНЕМ НОВГОРОДЕ**

**Сашина Т. А., Морозова О. В., Епифанова Н. В., Новикова Н. А.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора,  
Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** С использованием полногеномной классификации определены генотипы восьми штаммов ротавируса А, выявленных в 2018 году. Ротавирусы генотипов G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-N1, G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-N1 и G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-N2 имели сочетания генов, типичные для представителей Wa-подобной и DS-1-подобной геногрупп, соответственно. Штаммы генотипа G4-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-N1 имели смешанный набор генов, десять из которых были характерны для Wa-подобных ротавирусов и один ген, кодирующий белок NSP4, – для DS-1-подобных ротавирусов, что позволяет отнести их к межгеногрупповым реассортантам. Выявление таких штаммов свидетельствует о реализации механизма реассортации генов у ротавирусов, что может привести к возникновению вариантов, способных к преодолению коллективного иммунитета, создаваемого вакцинацией.

## GENOTYPE G4-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1 REASSORTANT ROTAVIRUS A STRAINS IN NIZHNY NOVGOROD

Sashina T. A., Morozova O. V., Epifanova N. V., Novikova N. A.

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia

**Abstract.** The genotypes of eight identified in 2018 rotavirus A strains were determined using the full-genome classification. Genotype G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1, G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 and G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 rotaviruses had gene constellations typical of representatives of Wa-like and DS-1-like genogroups, respectively. Genotype G4-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1 strains possessed mixed set of genes, ten of them were characteristic of Wa-like rotaviruses and one gene encoding the NSP4 protein, – of DS-1-like rotaviruses, so they may be attributed to intergenogroup reassortants. The identification of such strains indicates the realization of gene reassortment mechanism among rotaviruses, which may result in emergence of the variants able to overcome the collective immunity created by the vaccination.

**Введение.** Ротавирусы А (РВА, вид *Rotavirus A*, сем. *Reoviridae*) ежегодно вызывают зимне-весенний подъем заболеваемости острым гастроэнтеритом детей младшего возраста в России [1]. РВА характеризуются большим разнообразием циркулирующих вариантов и реализуют несколько молекулярных механизмов, участвующих в его поддержании. Среди них следует отметить способность к реассортации сегментов генома при коинфицировании [7]. Современная полногеномная классификация ротавирусов (генотип Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Eх-Hx) основана на особенностях всех 11 сегментов их генома [12]. В отличие от бинарной (G- и P-генотипы), она позволяет дать детальную характеристику вариантов и выявить реассортантные штаммы. Так, в ряде стран была показана циркуляция реассортантов, которые часто доминировали и вызывали вспышки острого гастроэнтерита [5, 6, 8, 13].

С 2014 года в некоторых регионах России применяют ротавирусную вакцину RotaTeq. Учитывая, что реассортация сегментов генома ротавирусов может привести к возникновению новых вариантов, обладающих потенциалом для уклонения от действия вакцины, актуальной задачей является подробная характеристика штаммов на основе их полного генома.

**Целью** работы явилась идентификация полного генотипа ротавирусов, циркулирующих в Нижнем Новгороде без вакцинного давления, а также проведение филогенетического анализа на основе всех сегментов их генома.

**Материалы и методы.** В работе использовали 219 ротавирус-положительных образцов фекалий, полученных от детей, госпитализированных с диагнозом ОКИ в инфекционный стационар Нижнего Новгорода в 2017–2018 гг. Ротавирусы выявляли с применением ПЦР тест-системы АмплиСенс Rotavirus/Norovirus/Astrovirus-FL (ЦНИИЭ, Россия) в режиме реального времени. G- и P-генотипы ротавирусов определяли методом ПЦР с электрофоретической детекцией результата с применением праймеров, специфичных в отношении генотипов G1-G4, G9 и P[4], P[6], P[8], P[9]. Для идентификации нуклеотидных последовательностей сегментов генома амплифицировали фрагменты кДНК длиной 575-888 п.н. и секвенировали на приборе Beckman Coulter SEQ 8000 (США). Полные генотипы определяли с помощью сервиса RotaC 2.0 либо путем поиска родственных последовательностей в сервисе BLAST. Выборки нуклеотидных последовательностей для построения деревьев собирали в программе MEGA X [11]. Филогенетический анализ проводили с применением пакета программ BEAST 1.8 [2]. Использовали модель эволюции нуклеотидов НКУ. На основе полученных данных строили и визуализировали филогенетические деревья в программах TreeAnnotator 1.8.2 и FigTree 1.4.2.

**Результаты и обсуждение.** В период с июля 2017 г. по июнь 2018 г. спектр генотипов ротавирусов включал G9P[8] (40,6%), G2P[4] (20,1%), G1P[8] (15,1%), G4P[8] (13,2%), G3P[8] (4,6%). Частично типированные ротавирусы и образцы с сочетанным выявлением генотипов составили 6,4% случаев. Доминировал генотип G9P[8], за которым следовал генотип G2P[4], долевого вклад которого в сезон 2017–2018 гг. возрос до 20,1%, при этом ранее, в период с 2006 по 2017 годы, доля данного генотипа в среднем была 5,6%.

По два образца с наиболее распространенными генотипами (G9P[8], G2P[4], G1P[8], G4P[8]), выявленные в 2018 году, были взяты для изучения методом секвенирования. Определены их полные генотипы: G9-P[8]-II-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1, G1-P[8]-II-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1, G4-P[8]-II-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1 и G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2. Штаммы генотипов G9P[8], G1P[8] и G2P[4] несли сочетания генов, соответствующие представителям Wa-подобной и DS-1-подобной геногрупп. Штаммы генотипа G4P[8] имели смешанный набор генов, десять из которых были характерны для Wa-подобных ротавирусов и один ген, кодирующий белок NSP4, – для DS-1-подобных ротавирусов. Следовательно, эти штаммы являются межгеногрупповыми реассортантами.

На основе полученных нуклеотидных последовательностей всех 11 сегментов генома ротавирусов был проведен филогенетический анализ. В случае генов VP7 и VP4, кодирующих белки наружного капсида, нижегородские ротавирусы относились к пяти и трем филогенетическим сублиниям, обозначенным согласно принятой в литературе классификации (G1-I-A, G1-II-C, G4-I-C, G2-a-3, G9-III d и P[8]-3.1, P[8]-3.6, P[4]-IV-b, соответственно) [3,4,9,10,14]. Для остальных сегментов генома нами было выделено от трех (NSP5) до пяти (VP2, NSP2, NSP4) вариантов гена. Наиболее интересными являются результаты анализа на основе гена NSP4. Реассортанты генотипа G4-P[8]-E2 и DS-1-подобные штаммы генотипа G2-P[4]-E2 принадлежали к разным линиям внутри генотипа E2 на дереве (E2-X и E2-XII), что отражает их независимое происхождение. Также в нижегородской популяции показано наличие как минимум трех аллелей гена NSP4 у Wa-подобных ротавирусов с генотипами G9-P[8]-E1 и G1-P[8]-E1.

При исследовании соответствия аллелей разных генов у нижегородских РВА показано, что штаммы генотипа G2P[4] были близкородственны между собой по всем 11 сегментам генома. Реассортанты генотипа G4P[8]-E2 также разделяли одни и те же варианты генов. Wa-подобные штаммы (генотипы G9P[8] и G1P[8]) характеризовались наличием нескольких аллелей каждого гена и разнообразием их сочетаний.

**Заключение.** Таким образом, проведен анализ ротавирусов на основе всех сегментов генома, определены полные генотипы восьми РВА, циркулирующих среди населения Нижнего Новгорода. Обнаружен межгеногрупповой реассортант с генотипом G4-P[8]-II-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1. Ротавирусы используют различные молекулярные механизмы, способствующие поддержанию генетического разнообразия и появлению новых вариантов. В условиях проведения вакцинации населения против ротавирусной инфекции важна подробная характеристика необычных штаммов РВА, которые теоретически могут обладать потенциалом для преодоления иммунологического прессинга, создаваемого вакциной. Исследование G- и [P]-генотипов ротавирусов проведено в рамках государственного задания Роспотребнадзора (№ 141-00063-18-00), идентификация полных генотипов ротавирусов выполнена при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 18-34-00586).

#### Литература:

1. Оценка эпидемиологического риска в системе надзора за актуальными для Российской Федерации острыми кишечными инфекциями / Е.А. Черепанова [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. 2018. № 3. С. 23–28.
2. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7 / A.J. Drummond, M.A. Suchard, D. Xie, A. Rambaut // Mol. Biol. Evol. 2012. V. 29. № 8. P. 1969–1973.
3. Bok K., Matson D.O., Gomez J.A. Genetic variation of capsid protein VP7 in genotype G4 human rotavirus strains: simultaneous emergence and spread of different lineages in Argentina // J. Clin. Microbiol. 2002. V. 40. P. 2016–2022.

4. Detection and genetic characterization of group A rotavirus strains circulating among children with acute gastroenteritis in Japan / T.G. Phan [et al.] // J. Virol. 2007. V. 81. № 9. P. 4645–4653.
5. Emergence and spread of G3P[8] rotaviruses possessing an equine-like VP7 and a DS-1-like genetic backbone in the Basque Country (North of Spain), 2015 / A. Arana [et al.] Infect. Genet. Evol. 2016. V. 44. P. 137–144.
6. Emergence of a novel equine-like G3P[8] inter-genogroup reassortant rotavirus strain associated with gastroenteritis in Australian children / D. Cowley, C.M. Donato, S. Roczo-Farkas, C.D. Kirkwood // J. Gen. Virol. 2016. V. 97. № 2. P. 403–410.
7. Estes M.K, Greenberg H.B. Rotaviruses // Fields Virology, 6th Ed. / eds. Knipe D.M., Howley, P.M., Philadelphia: Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins, 2013. P. 1347–1401.
8. Evolution of DS-1-like G1P[8] double-gene reassortant rotavirus A strains causing gastroenteritis in children in Vietnam in 2012/2013 / T. Nakagomi [et al.] // Arch Virol. 2017. V. 162. № 3. P. 739–748.
9. Evolution of DS-1-like human G2P[4] rotaviruses assessed by complete genome analyses / G.M. Giammanco [et al.] // J Gen Virol. 2014. V. 95. P. 91–109.
10. Genetic heterogeneity, evolution and recombination in emerging G9 rotaviruses / T.G. Phan [et al.] // Infect. Genet. Evol. 2007. V. 7. № 5. P. 656–663.
11. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms / S. Kumar [et al.] // Molecular Biology and Evolution. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
12. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments / J. Matthijssens [et al.] // Arch. Virol. 2008. V. 153. P. 1621–1629.
13. Spread and predominance in Japan of novel G1P[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like genotype constellation typical of G2P[4] strains / Y. Fujii [et al.] // Infect. Genet. Evol. 2014. V. 28. P. 426–433.
14. VP8\*P[8] lineages of group A rotaviruses circulating over 20 years in Brazil: proposal of six different sub-lineages for P[8]-3 clade / M.F. Silva [et al.] // Infect. Genet. Evol. 2013. V. 16. P. 200–205.

УДК: 579.253.2:579.841.112

**КЛЕТКИ *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*, ФОРМИРУЮЩИЕ МЕЛКИЕ КОЛОНИИ, МОГУТ ВОССТАНАВЛИВАТЬ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИКОГО ТИПА**

**Тедиков В. М.**

*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»  
Роспотребнадзора, Оболенск, Россия*

**Аннотация.** *S. maltophilia* – повсеместно свободноживущая грамотрицательная бактерия с множественной лекарственной устойчивостью, вызывающая внутрибольничные и респираторные заболевания. Вариант *S. maltophilia*, формирующий малые колонии (SCV), характеризуется медленным ростом на агаровой среде, малым размером колоний и недостаточной упаковкой клеток по сравнению с диким типом. Этот вариант не обладает способностью к формированию сплошного роста на агаровой среде и к росту в бульоне, что затрудняет определение МИК (MIC) и изучение биохимических свойств. SCV *S. maltophilia* регулярно выявляется в мокроте пациентов с кистозным фиброзом, что указывает на роль этого варианта в патогенезе этого заболевания. В настоящем исследовании SCV *S. maltophilia* и его дикий тип были выделены из клинического материала от пациента с цистостомией. Предложен метод индукции дикого фенотипа из клеток SCV *S. maltophilia in vitro*. Индуцированные клетки восстанавливали ростовые свойства, подвижность и продукцию ЭПС.

## SMALL COLONY VARIANT OF *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* CAN RESTORE WILD PHENOTYPE *IN VITRO*

Tedikov V. M.

State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор,  
Obolensk, Russia

**Abstract.** *S. maltophilia* is an environmental global emerging multi-drug resistant gram-negative bacterium, associated with nosocomial and respiratory infections in humans. Small-colony variant (SCV) of *S. maltophilia* is characterized by slow growth on agar media and small colony size with insufficient packing of cells compared to wild-type. This variant is unable to form confluent growth on agar media and to grow in broth which hamper the MIC determination and biochemical tests. SCV of *S. maltophilia* regularly present in sputum of people affected by cystic fibrosis which imply its role in pathogenicity of this disease. In this investigation, SCV of *S. maltophilia* along with its wild type were isolated from clinical material of patient with cystostomy. *In vitro* method for induction of wild phenotype from cells of SCV *S. maltophilia* was developed. The induced cells restored a good growth properties, motility and exopolysaccharide production.

**Введение.** *S. maltophilia* (*SM*) широко распространена в окружающей среде и занимает третье место среди неферментирующих грамотрицательных бактерий, вызывающих нозокомиальные инфекции. Источниками последних являются контуры аппаратов искусственной вентиляции и диализа, небулайзеры, устройства для ингаляционной терапии, эндоскопы, кожные покровы персонала, растворы для парентерального питания, и даже растворы дезинфектантов и напитки, приготовленные из контаминированной воды и льда [5]. Наибольшую обеспокоенность *SM* вызывает у клиницистов в областях реанимации и интенсивной терапии [2] и заболеваний легких [1, 3, 4].

Экзополисахарид *SM*, облегчает формирование биопленок на биотических и абиотических поверхностях. Бактерия секретирует ДНК-азу, РНК-азу, фибринолизин, липазу, гиалуронидазу, протеазу и эластазу и устойчива к большинству антибиотиков [5]. Секвенированы несколько геномов *SM*, клинические и природные штаммы сравниваются методами генотипирования, многие гены клонированы, но в вопросах эпидемиологии, этиологии и патогенеза заболевания остается много «темных пятен». Это касается и атипичных мелких колоний *SM*, выделяемых из клинических образцов [4].

**Материалы и методы.** Использовались среды на основе гидролизата рыбной муки (питательные среды 1,2,3, агар Эндо-ГРМ, железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной, производство Оболенск), МНА (Himedia, Индия), MacConkey, ВНИ, TSB, LA, NB и США (Difco, США). Клинический материал выделялся от больного с эпицистостомой.

Для наблюдений в проходящем свете и методом фазового контраста использовались микроскопы Микмед-2 (Россия), МБС-9 и Olympus BX41 (Япония). Съемка изображений выполнялась с помощью цифрового окуляра Tour Cam 5.1 MP (Китай), фотоаппарата Canon 1000D EOS и насадки МФН-111-02 (ЛОМО, Россия). Идентификация микроорганизмов проводилась методом MALDI-TOF-MS и с помощью набора MicroLaTest (Pliva-Lachema, Чехия). Турбидиметрию проводили на спектрофотометре Genesys 20 (ThermoSpectronic, США) при длине волны 600 нм.

**Результаты и обсуждение.** Многократные высевы из клинического материала и последующие культивирования выявили вариант со следующими особенностями:

1. Колонии с неровными краями размером от долей до 2–3 мм, субтильные из-за слабой упаковки клеток на агаре, не вызывающей их вытеснение вверх.

2. Морфология колоний сохраняется при пассажах на плотных питательных средах. В частности, после пяти последовательных пассажей методом истощающей петли, сохраняются ростовые и тинкториальные характеристики.

3. Высев суспензий клеток микроорганизма, приготовленных по стандарту мутности, не формирует сплошной бактериальный газон. Увеличение посевной дозы на порядок не изменяет результата, лишь под микроскопом обнаруживается, что пространство между колониями заполнено множеством отдельных клеток и микроколоний.

4. При засеве питательных бульонов и последующем культивировании, с перемешиванием и без него, не происходит помутнения среды. В то же время, перенос аликвот из этих суспензии на плотные питательные среды приводит к характерному субтильному росту, свидетельствуя о том, что микроорганизм не гибнет в среде (что возможно для частично протопластированных микроорганизмов и L-форм), но и не размножается.

5. В мазке обнаруживаются грамотрицательных кокковидные и короткие палочки, растущие в форме цепочек и агрегатов. В «раздавленной» капле клетки неподвижны, либо передвигаются, слабо колеблясь, что напоминает броуновское движение.

Скудный рост мог указывать на неоптимальные условия культивирования микроорганизма, либо мутацию, нарушающую его метаболизм. Наконец, вариант мог представлять собой адаптивную форму на внешние неблагоприятные воздействия, например, на иммунную систему макроорганизма. Такие изменения могут регулироваться через систему кворума посредством растворимых низкомолекулярных сигнальных молекул [6] и часто обратимы.

Эти предположения проверялись с помощью культивирования варианта на различных питательных средах, жидких и плотных, с аэрацией и без и при различных температурах. Оценивалось влияние сывотки, ионов, аминокислот, азотистых оснований и витаминов. Для разблокирования сигнала, возможно препятствующего нормальному делению, изменялась кислотность среды и ее осмолярность. Вариант также выращивался с другими микроорганизмами, засеянными на чашку до, одновременно или после его роста.

В результате была найдена процедура, переводящая атипичный вариант в культуру с обильным ростом. Она состояла из грамотрицательных подвижных палочек, как одиночных, так и филаментированных (но сохраняющих подвижность), идентифицированных как SM. При первых пассажах наблюдалась гиперпродукция экзополисахарида и гидролитических ферментов, которые, однако, не были стабильны.

В работе [4] авторы продемонстрировали процесс получения варианта с мелкими колониями из дикого штамма SM *in vitro*. В настоящем исследовании выявлена возможность обратного процесса, что не менее важно. Согласно одной из гипотез, именно атипичные варианты микроорганизмов с мелкими колониями поддерживают длительную персистенцию в макроорганизме, поскольку медленно растут или вообще не делятся и устойчивы к антибиотикам.

**Заключение.** Таким образом, вариант *S. maltophilia* с мелкими колониями, также как и в работе [4], многократно выделялся из клинического материала. Являясь абберантным, по сравнению с дикой формой SM, вариант при определенных условиях *in vitro*, может восстанавливать фенотипические признаки последнего, с присущими ему атрибутами (синтез фибрий, экзополисахарида и пр.). Вероятно, этот процесс может иметь место и в макроорганизме.

#### Литература:

1. Акшеровова И.К., Монахова С.И., Ершова М.Г., и др. Распространенность и источники возможного инфицирования больных *Achromobacter xylosoxidans* и *S. maltophilia* в региональном центре муковисцедоза Пульмонология. 2012. № 2. С. 65–70.
2. Зубарев А.С. Инфекции, связанные со *S. maltophilia* у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии. «Интенсивная терапия». 2008. № 1.
3. Кушнарева М.В. Мархулия Х. М. Дементьева Г. М. и др. Госпитальная пневмония, ассоциированная с возбудителем *S. maltophilia* у новорожденных детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017. Т. 62. № 3. С. 53–58.



4. Anderson S.W, Stapp J.R., Burns J.L., Xuan Qin Characterization of Small-Colony-Variant *S. maltophilia* Isolated from the Sputum Specimens of Five Patients with Cystic Fibrosis. *J. of Clinical Microbiology* 2007. V. 45. № 2. P. 529–535.
5. Brooke J. S. *S. maltophilia*: an Emerging Global Opportunistic Pathogen *Clinical Microbiology Reviews*. 2012. V. 25. № 1. P. 2–41.
6. Huedo P, Yero D, Martinez-Servat S, et al. Decoding the genetic and functional diversity of the DSF quorum-sensing system in *S. maltophilia*. *Front. Microbiol.* 6:761.2015.

УДК: 577.21:579.864

### **ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ СПЕКТРОВ И ПОЛНОГО ГЕНОМА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *L. FERMENTUM***

**Точилина А. Г., Белова И. В., Соловьева И. В., Жирнов В. А., Молодцова С. Б.**  
*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора,  
Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Рассмотрены результаты изучения штаммов *L. fermentum* 90-ТС-4 и *L. fermentum* 39 методами MALDI TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования. Выявлены особенности белкового профиля и структуры генома штаммов, подтверждена безвредность штаммов, нетрансмиссивный характер антибиотико-резистентности.

### **CHARACTERISTICS OF PROTEIN SPECTRUMS AND WHOLE GENOME OF PROBIOTIC STRAINS *L. FERMENTUM***

**Tochilina A. G., Belova I. V., Soloveva I. V., Zhirnov V. A., Molodtsova S. B.**  
*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The results of the study of *L. fermentum* 90-ТС-4 and *L. fermentum* 39 strains by MALDI TOF mass spectrometry and whole-genome sequencing are considered. The peculiarities of the protein profile and the structure of the genome of the strains were revealed, the harmlessness of the strains and the non transmissible nature of antibiotic resistance were confirmed.

**Введение.** В современных нормативных документах регламентируется полифазный подход к идентификации, паспортизации и типированию пробиотических штаммов микроорганизмов [1, 2]. В распоряжении российских производителей пробиотических препаратов, БАД к пище и пищевых продуктов имеются два хорошо изученных по биохимическим и биологическим свойствам штамма лактобацилл вида *L. fermentum*: 90-ТС-4 и 39. Данные штаммы были выделены А. А. Ленцнером и Х. П. Ленцнер (кафедра микробиологии Тартусского государственного университета, Эстония). На настоящий момент штаммы находятся на хранении во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ), в Научном центре экспертизы средств медицинского назначения, в Государственной коллекции нормальной микрофлоры МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, в Государственной коллекции лактобацилл ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора и в рабочих коллекциях маточных культур филиалов ФГУП НПО «Микроген». Штаммы были переданы в Горьковский НИИЭМ в 1967 г., в 1969 г. был разработан лабораторный регламент сухого лактобактерина с включением *L. fermentum* 90-ТС-4. Штамм *L. fermentum* 39 предложен в качестве производственного в 1987 г.

Оба штамма детально охарактеризованы по биохимическим свойствам, обладают удовлетворительными технологическими характеристиками, регулярно проверяются на наличие антагонистической активности к свежевыделенным условно-патогенным и патогенным микроорганизмам. Однако, молекулярно-генетические свойства и белковые профили данных штаммов до настоящего времени были изучены недостаточно.

**Материалы и методы:** в работе использовали штаммы *L. fermentum* 39 и *L. fermentum* 90TC-4. Масс-спектрометрический анализ осуществляли с помощью времяпролетного MALDI масс-спектрометра Autoflex (Bruker Daltonics, Германия) по стандартному протоколу. Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina), сборку геномов и биоинформационный анализ осуществляли с использованием программ CLC Bio Assembly, геномного сервера RAST (<http://rast.nmpdr.org>), сервера BASys (<https://www.basys.ca>), ResFinder 2.0 и PathogenFinder (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/>), CRISPRFinder.

**Результаты и обсуждение.** На первом этапе работы микроорганизмы идентифицировали методом MALDI TOF масс-спектрометрии, при этом было подтверждено их таксономическое положение. Данный метод позволяет выявлять уникальный набор рибосомальных белков для каждого из исследуемых микроорганизмов. При формировании масс-спектра полученные ионы выстраиваются в порядке возрастания масс, при этом интенсивность (высота) пиков не учитывается. При идентификации микроорганизмов учитывается весь набор пиков, а не отдельные пики [3]. При анализе масс-спектров можно определить родовые и видовые особенности исследуемых культур, а также штаммовые характеристики. С целью поиска индивидуальных особенностей штаммов был проведен анализ полученных масс-спектров, для этого выбирали масс-спектры с максимальным Score (коэффициент совпадения) из полученных достоверных, свидетельствующих об идентификации до вида (более 2,0). В результате установлено, что масс-спектр штамма *L. fermentum* 39 составляют 82 пика, из которых 76 хорошо воспроизводимы, 18 индивидуальных (2623, 3009, 3272, 4464, 4531, 4537, 4545, 4637, 4643, 4655, 4698, 4723, 4731, 5149, 6013, 6853, 7023, 7400 m/z). Масс-спектр штамма *L. fermentum* 90 TC-4 состоит из 85 пиков, 75 из которых хорошо воспроизводимы, из них 22 индивидуальных (2206, 2237, 2275, 2602, 2633, 2988, 3375, 4535, 4549, 4564, 4640, 4651, 4979, 5051, 5167, 5179, 5594, 6358, 6369, 6399, 6436, 6858 m/z).

Для полногеномного секвенирования было отобрано по одной культуре каждого штамма, с изученным профилем рибосомальных белков, известной биохимической активностью, с подтвержденным по 16S рПНК таксономическим статусом, имеющие максимально высокий Score: *L. fermentum* 90 TC-4 – 2,217; *L. fermentum* 39 – 2,166. В результате проведенного секвенирования и анализа полногеномных последовательностей составлены геномные карты исследуемых штаммов, отражающие структуру и характер генома микроорганизмов.

Согласно требованиям нормативных документов штаммы-продуценты пробиотиков не должны быть патогенными. Установлено, что геномы *L. fermentum* 90-TC-4 и 39 не несут детерминант, кодирующих токсины и суперантигены, свободны от генов (островков) патогенности и интегрированных плазмид.

Фенотипически исследуемые штаммы устойчивы к гентамицину, цефотаксиму, ципрофлоксацину, фуразолидону, эритромицину, тетрациклину, ванкомицину и сульфаниламидам [4]. Установлено, что в геноме исследуемых микроорганизмов присутствуют детерминанты пенициллин связывающих белков, молекулярные эффлюксные помпы, принадлежащие к двум семействам: MATE и MFS, что может обуславливать устойчивость к макролидам, аминогликозидам, тетрациклинам и бета-лактамам и другим противомикробным веществам [5]. Также установлено, что обнаруженные гены антибиотикорезистентности не сопряжены с мобильными элементами.

Для типирования исследованных штаммов можно использовать комплекс признаков, одними из которых являются биохимические свойства: биохимический профиль *L. fermentum* 39 наиболее близок типичному профилю данного вида. Отличительный признак этого штамма: способность к гидролизу ацетилглюкозамина и арбутина, так как гидролизовать ацетилглюкозамин способны лишь 6% штаммов данного вида, а гидролиз арбутина виду *L. fermentum* не свойственен. *L. fermentum* 90 TC-4 имеет редуцированный биохимический профиль и не способен ферментировать ряд сахаров, в том числе рибозу и сахарозу,

несмотря на то, что способностью к их утилизации обладают 86-100% штаммов этого вида. При анализе генома штамма *L. fermentum* 39 обнаружены детерминанты метаболизма пирувата, рибофлавина, сахароспиртов (глицерола), утилизации пуринов, ди- и моносахаров, деградации бензоата, отсутствующие у *L. fermentum* 90 ТС-4. Так у штамма *L. fermentum* 90 ТС-4 отсутствуют системы транспорта сахарозы PTS\_ScrA, высокоаффинной пермеазы транспорта рибозы RbsD, система транспорта PTS\_Tre и другие гены метаболизма трегалозы, а также оперон, ответственный за метаболизм арабинозы. Эти особенности являются результатом эволюционной редукции генома микроорганизма, имеющего ограниченный ареал обитания – организм человека. В геноме *L. fermentum* 39 присутствуют все перечисленные детерминанты, а способность к гидролизу арбутина может быть связана с наличием специфичной транспортной системы.

Также проведено мультилокусное сиквенс-типирование штаммов (МЛСТ) по схеме, предложенной Dan T., с соавт. [6]. Выявлено, что изученные штаммы не принадлежат ни к одному из ранее описанных сиквенс-типов и несут новые аллельные варианты ряда генов, что обусловлено наличием ранее не описанных замен. Для штамма *L. fermentum* 90-ТС-4 обнаружена новая аллель гена *murC*, а для штамма *L. fermentum* 39 – генов *recA*, *perX* и *dnaK*.

Изучены особенности CRISPR-кассет обоих штаммов и установлено, что по структурной организации они относятся к I-типу. Уникальные последовательности этого региона также можно рассматривать в качестве «меток» штаммов.

**Заключение.** Таким образом, в результате проведенной работы пробиотические штаммы изучены с использованием комплекса высокотехнологичных методов, проанализированы масс-спектры белков штаммов, определены штаммоспецифичные белковые пики. Установлены особенности биохимических свойств штаммов и структурные особенности их геномов. Показано, что геномы штаммов не содержат генов патогенности, вирулентности и интегрированных плазмид, а антибиотикорезистентность носит нетрансмиссивный характер.

#### Литература:

1. Методические указания по контролю биологических и микробиологических факторов. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: методические указания № 4.2.2602-10. – М.: Роспотребнадзор. – 2011. – 80 с.
2. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов: методические указания № 2.3.2.2789-10 – М.: Роспотребнадзор. – 2010. – 71 с.
3. Lau A.F., Drake S.K., Calhoun L.B., Henderson C.M., Zelazny A.M. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass-spectrometry // J. Clin. Microbiol. 2013; 51(3):828–834.
4. Соловьева И.В., Точилина А.Г., Белова И.В., Ефимов Е.И., Новикова Н.А., Иванова Т.П. Конструирование иммобилизованной формы жидкого пробиотика // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. 2012. № 2, Ч. 3. С. 86–93.
5. Piddock L.J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria // Clin Microbiol Rev. 2006. Vol. 19, № 2. pp. 382–402.
6. Dan T., Liu W., Yuqin Song Y., Xu H., Menghe B., Zhang H., Sun Z. The evolution and population structure of *Lactobacillus fermentum* from different naturally fermented products as determined by multilocus sequence typing (MLST) // BMC Microbiology. 2015; 15: 107. Doi 10.1186/s12866-015-0447-z

## **РАЗДЕЛ 5. МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИЯХ.** **ЭКОЛОГИЯ БИОСИСТЕМ**

УДК: 616.34

### **МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА ГРУПП РИСКА**

**Александина Н. В.**

*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В работе представлены материалы, отражающие особенности кишечного микробиоценоза у 870 детей раннего возраста групп риска. У всех детей были выявлены нарушения микробиоценоза, в 80,5% случаев относящихся ко II и III степени. Отмечено низкое содержание бифидобактерий и большой процент выделения условно-патогенных энтеробактерий в ассоциациях.

### **MICROECOLOGICAL FEATURES OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN YOUNG CHILDREN AT RISK**

**Aleksanina N. V.**

*Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The paper presents materials reflecting the characteristics of intestinal microbiocenosis in 870 young children at risk. All the children showed microbiocenosis violations, in 80,5 % cases related to grade II and III. The low content of bifidobacteria and a large percentage of opportunistic pathogens isolated in associations was marked.

**Введение.** Огромная роль нормальной микрофлоры кишечника во все периоды жизни человека, многосторонние негативные последствия её нарушения доказаны многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных ученых. Научно обосновано участие нормальной микрофлоры в формировании иммунологической реактивности организма, в обмене веществ, в синтезе витаминов и биологически активных соединений, доказана её антагонистическая функция по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре [1, 2]. В современных условиях на фоне частого воздействия неблагоприятных экологических факторов и широкого распространения в повседневной практике противомикробных лекарственных средств, дисбиотические нарушения микрофлоры имеют массовый характер и выявляются у детей с периода новорожденности. Сформировавшиеся нарушения микробиоценоза кишечника у детей раннего возраста приводят к снижению иммунологической реактивности организма, что способствует возникновению у них различных соматических и инфекционных заболеваний, в том числе и острых кишечных инфекций (ОКИ) [3]. В большом проценте случаев у таких детей выделяются из кишечника условно-патогенные энтеробактерии (УПЭ) в монокультурах или ассоциациях, в количествах превышающих допустимые нормы. Продукты метаболизма этих микроорганизмов вызывают воспалительный процесс в кишечнике, аллергизацию организма детей, инициируют и поддерживают дисбиотические состояния [4].

**Цель исследования:** выявить особенности нарушений качественного и количественного состава микробиоценоза кишечника детей раннего возраста групп риска.

**Материалы и методы.** В течение 3-х лет проводили изучение фекальной микрофлоры толстого отдела кишечника 870 детей в возрасте от нескольких недель до трех лет, проживающих в Южном регионе с высокой техногенной нагрузкой (Ростов-на-Дону и Ростовская область). Родители детей обращались в Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии для проведения анализов фекальной микрофлоры на дисбактериоз. Обязательным условием включения детей в исследование было наличие письменного

информированного согласия родителей на его проведение. Все обследованные дети представляли группы риска по общей заболеваемости, в том числе острыми кишечными инфекциями. В группу вошли дети, родившиеся от матерей с различной патологией, осложненной беременностью и родами, имеющие неврологическую патологию и проходившие курсы соответствующего лечения. Обследовано 568 детей в возрасте от нескольких недель до 1 года и 302 детей в возрасте от 1 года до 3-х лет с клиническими проявлениями функциональных нарушений кишечника. 28,5% детей с первых дней после рождения находились на искусственном вскармливании. Обследованные дети периодически получали препараты нормофлоры или молочные смеси, обогащенные бифидо- и лактобактериями. Микрофлору кишечника, выделение и идентификацию энтеробактерий проводили с применением классических бактериологических методов [5], результаты оценивали в соответствии с ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи пакета программ Microsoft Office Excel 2003.

**Результаты.** В результате проведенных исследований, отмечена высокая распространенность кишечных дисбактериозов, особенно у детей первого года жизни. Анализ результатов показал, что практически у всех обследованных детей (100%) выявлены отклонения в составе микрофлоры кишечника относительно общезиологических норм. Частота дисбиотических нарушений у детей, соответствующих второй и третьей степени дисбактериоза, составила 80,5%. У 19,5% детей выявлен дисбактериоз первой степени. Наибольший удельный вес составили дети с дисбактериозом III степени (50,8%), характеризующегося выделением большого количества условно-патогенных микроорганизмов, в том числе в ассоциациях, на фоне дефицита нормальной микрофлоры. Нарушения микробиоценоза кишечника характеризовались статистически значимым от физиологической нормы ( $p < 0,05$ ) снижением или отсутствием облигатной флоры, в основном бифидобактерий, в меньшей степени лактобацилл и типичной кишечной палочки. Ни у одного обследованного ребенка количество бифидобактерий не достигало нормы ( $10^9 - 10^{11}$  КОЕ/г фекалий). У детей с высокой частотой (89,5%) в количествах ( $10^5 - 10^{10}$  КОЕ/г фекалий) обнаруживались УПЭ, как в монокультурах, так и в ассоциациях. На первом месте по частоте выделения были стафилококки и *K. pneumoniae*, затем *P. mirabilis* и *P. vulgaris*, *E. coli* (гемолизирующие и лактозонегативные), *P. aeruginosa*, *Citrobacter*. Монокультуры чаще всего были представлены *S. aureus* и *P. aeruginosa*, а микробные ассоциации *S. aureus* + *K. pneumoniae* или *P. mirabilis* и грибами рода *Candida*. Ассоциации из 2-3 УПЭ определены в биоценозе 28,5% детей, а из 3-4 микроорганизмов – у 50,8% детей. У детей с первых дней жизни, находящихся на искусственном вскармливании, в 2 раза чаще регистрировался дисбактериоз третьей степени, сопровождающийся выделением условно-патогенных энтеробактерий в ассоциациях на фоне дефицита бифидо- и лактофлоры. Вторая и третья степени нарушений микрофлоры кишечника сопровождались клиническими проявлениями дисбактериоза.

**Обсуждение.** Проведенная оценка результатов микробного пейзажа при дисбактериозе кишечника у детей раннего возраста основывалась на современных представлениях о физиологических соотношениях различных видов нормальной микрофлоры. Степень тяжести дисбактериоза является интегративным показателем, который характеризуется нарушением нормальных соотношений основных популяций микроорганизмов кишечника [1]. Важная роль при оценке влияния на состояние здоровья ребенка отводится микробиоте кишечника с учетом особенностей ее формирования, начиная с периода новорожденности. Условиями становления нормальной микрофлоры кишечника детей являются физиологическое течение беременности у здоровой женщины, роды в срок через естественные родовые пути, раннее прикладывание к груди, исключительно грудное вскармливание в первое полугодие жизни, рациональное питание начиная с раннего детского возраста [6, 7]. В нашем исследовании наибольший удельный вес составили дети с дисбактериозом второй и третьей степени (29,7% и 50,8% соответственно). Анализ материала показал, что наиболее выраженные нарушения

микробного пейзажа кишечника характерны для детей первого года жизни, у которых при низком содержании или отсутствии бифидобактерий в 2–3 раза чаще регистрировалась колонизация толстого кишечника стафилококками. По частоте встречаемости и в количественном соотношении *S. aureus* преобладал над коагулазоотрицательными стафилококками. Также, было выявлено высокое содержание дрожжеподобных грибов рода *Candida* у детей от 1 года до 3-х лет и более низкая встречаемость УПЭ и патогенных стафилококков. Во всех возрастных группах наблюдалось статистически значимое (на 1–2 порядка от нормы) угнетение индигенной флоры (бифидобактерий, лактобацилл и кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью). Отмечена зависимость между уровнем обсемененности УПЭ и *S. aureus* и количественным содержанием бифидо- и лактобактерий. По данным литературы, у 50% детей, по разным причинам относящимся к группам риска, нормального становления бифидофлоры не происходит. На фоне дефицита нормофлоры в фекальной микрофлоре обнаруживается более высокое содержание кишечной палочки (более  $10^8$  КОЕ/г), нередко высеваются штаммы со сниженной ферментативной активностью, лактозонегативные и гемолизирующие, часто обнаруживаются грамотрицательные УПЭ, патогенные стафилококки и их ассоциации, грибы рода *Candida* с частотой 20% и более. Глубокие нарушения микрофлоры встречаются у недоношенных детей, у которых нормальный уровень бифидофлоры отмечен с частотой 11,3%, дисбактериоз кишечника в 88,7% случаев [8, 9].

**Заключение.** В результате проведенных исследований выявлены особенности нарушений микробиоты кишечника у детей раннего возраста групп риска. У всех обследованных детей обнаружены дисбиотические нарушения микрофлоры толстого кишечника, в преобладающем большинстве, относящихся ко II и III степени. Наиболее выраженные нарушения микробиоценоза отмечены у детей независимо от возраста, находящихся на искусственном вскармливании с первых дней жизни. Установлено низкое содержание или отсутствие бифидобактерий и большой процент выделения ассоциаций *S. aureus* и условно-патогенных энтеробактерий.

#### Литература:

1. Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Караулова М.И., ред. Микробиоценозы и здоровье человека. М.: Династия, 2015. 548 с.
2. Hunter J.O., Madden J.A. A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics. Br. J. Nutrition 2002; (88): 67–72.
3. Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника у детей. М.: Компания Боргес. 2006. 239 с.
4. Егорова С.А., Макарова М.А., Кафтырева Л.А. Этиологическая значимость условно-патогенных энтеробактерий при острых кишечных заболеваниях и дисбиотических состояниях кишечника. Инфекция и иммунитет. 2011; 1(2): 181–4. DOI: <https://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2011-2-181-184>.
5. Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Иванова С.М., ред. Руководство по медицинской микробиологии. Книга 2. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. М.: БИНОМ, 2015. 1152 с.
6. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Альбицкий В.Ю. Профилактическая медицина – новые вызовы. Вопросы современной педиатрии. 2012, 11(2): 7–10. <https://dx.doi.org/10.15690/vsp.v11i2.204>.
7. Edwards C.A., Parrett A.M. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. Br J Nutrition 2002; (88) 1: S11–8. DOI:10.1079/BJN 2002625.
8. Кафарская Л.И., Ефимов Б.А., Постникова Е.А., Донских Е.Е. Особенности становления микрофлоры у детей раннего возраста. Детские инфекции. 2006; 5(1): 6–11.
9. Печкуров Д.В., Турти Т.В., Беляева И.А., Тяжева А.А. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний. Педиатрическая фармакология. 2016; 13(4): 377–383. DOI:<https://dx.doi.org/10.15690/pf.v13i4.1611>.

**ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ  
БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ**

**Белова<sup>1</sup> И. В., Точилина<sup>1</sup> А. Г., Соловьева<sup>1</sup> И. В., Барболина<sup>2</sup> С. Ф., Репина<sup>2</sup> Н. Б.,  
Жирнов<sup>1</sup> В. А., Молодцова<sup>1</sup> С. Б.**

<sup>1</sup>ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический противотуберкулезный диспансер»,  
Нижний Новгород, Россия

**Аннотация.** Представлены результаты исследования качественного и количественного состава микробиоценоза толстой кишки 120 больных туберкулезом легких, в том числе лекарственно устойчивым. Получены новые знания о видовом составе представителей облигатной и факультативной микрофлоры. Доказано, что массивность и длительность противотуберкулезной терапии оказывает угнетающее действие не только на лакто- и бифидобактерии, но и на условно-патогенные микроорганизмы: снижается видовое разнообразие и частота их выделения.

**THE LARGE INTESTINE MICROBIOTA SPECIES COMPOSITION  
OF THE PATIENTS WITH LUNGS TUBERCULOSIS**

**Belova<sup>1</sup> I. V., Tochilina<sup>1</sup> A. G., Soloveva<sup>1</sup> I. V., Barbolina<sup>2</sup> S. F., Repina<sup>2</sup> N. B.,  
Zhirnov<sup>1</sup> V. A., Molodtsova<sup>1</sup> S. B.**

<sup>1</sup>Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod Regional TB Dispensary, Nizhny Novgorod, Russia

**Abstract.** The study results of the qualitative and quantitative composition of the large intestine microbiocenosis of the 120 patients with pulmonary tuberculosis, including drug-resistant, are presented. New knowledge was obtained about the species composition of representatives of the obligate and optional microflora. It is proved that the massiveness and duration of anti-tuberculosis therapy has inhibitory effect not only on lacto- and bifidobacteria, but also on conditionally pathogenic microorganisms: the species diversity and the frequency of their release are reduced.

**Введение.** Туберкулёз является одной из важнейших проблем современного здравоохранения. Около 1/3 населения планеты инфицированы *Mycobacterium tuberculosis complex*. Ежегодно регистрируют примерно 8,4 миллиона новых случаев и 2 миллиона человек умирают от этого заболевания [1].

В Нижегородской области, несмотря на снижение заболеваемости туберкулезом, показатель заболеваемости остается высоким: в 2017 в РФ – 49,09 на 100 тыс. населения, в Нижегородской области – 28,5 на 100 тыс, в 2018 в Нижегородской области – 26,1 на 100 тыс. Сложность эпидемиологической ситуации подтверждается также все большим распространением форм туберкулеза, обусловленными микобактериями, обладающими множественной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам (МЛУ) – 8,2 на 100 тыс. населения. Особенно настораживает рост лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis complex* (МБТ) у впервые выявленных больных (36,6%) [2].

Известно, что имеется прямая коррелятивная связь между длительностью, массивностью применения антибиотиков и химиотерапевтических препаратов и степенью развития дисбиотических нарушений микробиоценоза желудочно-кишечного тракта. При туберкулезе антибиотики и химиопрепараты используют наиболее длительно (от 3–6 месяцев до 1,5 лет), вследствие этого дисбиоз развивается у 73–89,6% больных и осложняет течение основного заболевания [3–5]. При наличии МЛУ проводят более длительную терапию туберкулезной инфекции (от 18 месяцев и более) с использованием в интенсивной фазе лечения в течение минимум 6 месяцев не менее пяти противотуберкулезных препаратов [5]. Кроме изменений в составе микробиоты, нарушаются ферментативные процессы в кишечнике, что приводит к

развитию устойчивого диарейного синдрома и снижению веса пациента. Дисбиоз желудочно-кишечного тракта также значительно ухудшает переносимость противотуберкулезных препаратов, за счет снижения иммунитета способствует сохранению туберкулезной интоксикации и замедляет инволюцию туберкулезного процесса.

В связи с вышесказанным, **целью** данного исследования явилось изучение микробиоты толстой кишки больных туберкулезом легких, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью для получения новых знаний и разработки алгоритма ее восстановления.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 120 пациентов работоспособного возраста, 60% женщин и 40% мужчин, со следующими диагнозами: инфильтративный туберкулез легких – 58,3%; фиброзно-кавернозный туберкулез легких – 13,3%; диссеминированный туберкулез легких – 10%; туберкулема – по 18,3%; экссудативный плеврит – 2,5%; очаговый туберкулез – 2,5%, первичный туберкулезный комплекс у 1,7%; кавернозный туберкулез лёгких – 0,8%; казеозная пневмония – 0,8%. У 100 обследованных выделялись *Mycobacterium tuberculosis complex*. МЛУ установлена в 56% случаев, в остальных случаях лекарственная чувствительность выделенных МБТ была сохранена. По критерию лекарственной устойчивости МБТ все пациенты были разделены на две группы (1 – с МЛУ туберкулезом, 2 – с туберкулезом с сохраненной чувствительностью МБТ (без МЛУ)), которые были сопоставимы по полу, возрасту, тяжести и формам туберкулезного процесса.

Микробиоценоз просвета толстой кишки больных изучена в соответствии с методическими рекомендациями по унифицированной методике, модифицированной во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора [6]. Видовая идентификация микроорганизмов осуществлялась с использованием MALDI масс-спектрометрии (масс-спектрометр Autoflex speed Bruker, программа BioTyper). Интерпретация результатов анализов проводилась по разработанным нами критериям с учетом ОСТа 91500.11.0004-2003 [6,7]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием критериев Манна-Уитни и Краскала-Уоллиса, критический уровень значимости –  $p=0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Исследование микробиоты кишечника больных показало, что в обеих группах обнаруживаются выраженные дисбиотические нарушения II и III степени: 77,7% – в группе больных с МЛУ и 75,7% больных без МЛУ. У 23,4% пациентов бифидобактерии не выявлялись, а у 35% обследованных бифидобактерии обнаруживались в количествах менее  $10^8$  КОЕ/мл (ниже физиологической нормы). Что касается видового состава, у пациентов в 59% выделялись *B. longum*, в 8,9% – *B. bifidum*, в 1,8% – *B. animalis* и *B. adolescentis*.

Лактобациллы отсутствовали в 16,7% случаев, в 31,7% определялись в количествах ниже  $10^7$  КОЕ/мл. Наиболее часто в микробиоценозе толстой кишки обнаруживались *L. gasseri* (55,3%), *L. salivarius* (28,6%), *L. fermentum* (26,8%), *L. vaginalis* (25%), *L. crispatus* (19,6%), *L. oris* (16%), *L. mucosae* (14,3%), *L. plantarum* (14,3%), *L. ruminis* (12,5%), *L. delbrueckii* (8,9%), *L. paracasei* (7%), *L. acidophilus* (7%), *L. rhamnosus* (5,3%), в единичных случаях выделялись *L. parabuchneri*, *L. ultensis*, *L. amylovorum*, *L. antri*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. buchneri*, *L. kalixensis*, *L. sharpeae*, *L. sakei*. Бактероиды обнаруживались у 85% пациентов и только у 51,6% в пределах нормальных значений –  $10^7$ – $10^9$  КОЕ/мл; *E. coli* выделялись у 78,3% больных, и у 53,3% в количестве  $10^6$ – $10^8$  КОЕ/мл. Также следует отметить, что у больных с МЛУ туберкулезом видовое разнообразие и частота выделения УПМ были ниже, чем у пациентов без МЛУ. Исключение составляют *Candida spp.* 92,5% случаев, из них 62,5% – *C. albicans*, 10,7% *C. norvegensis*, 7,1% *C. glabrata*, 7,1% *C. krusei*, по 3,6% *C. parapsilosis*, *C. robusta*, *C. dublinensis*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*, в единичных случаях – *C. utilis*, *C. catenulata*, *C. koseri*, *C. lusitanae*), а также *Bacillus spp.* (55,5%), частота выделения которых была выше у пациентов с МЛУ. Также в группе с МЛУ туберкулезом ассоциации из 4-х видов микроорганизмов обнаруживались в 11,1% случаев, т. е. чаще в 3,7 раза, чем у пациентов второй группы (таблица).



**Таблица.** Частота выделения различных представителей микробного сообщества просвета толстой кишки больных туберкулезом легких

Наименование микроорганизма	Частота выделения, в %	
	Группа с МЛУ, n=56	Группа без МЛУ, n=44
<i>Bifidobacterium spp.</i>	77,70	75,70
<i>Lactobacillus spp.</i>	81,40	84,80
<i>L. lactis</i>	25,90	18,10
<i>Bacteroides spp.</i>	81,40	87,80
<i>Enterococcus spp.</i>	51,80	45,40
<i>Enterococcus spp. hem+</i>	0,00	0,00
<i>Fusobacterium spp.</i>	0,00	3,00
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	0,00	0,00
<i>Clostridium spp.</i>	11,10	6,00
<i>E.coli</i>	77,70	78,70
<i>E.coli hem+</i>	3,70	3
<i>Klebsiella spp.</i>	3,70	18,10
<i>Enterobacter spp.</i>	7,40	21,20
<i>Hafnia spp.</i>	0,00	6,00
<i>Proteus spp.</i>	0,00	3,00
<i>Morganella spp.</i>	0,00	3,00
<i>Providencia spp.</i>	3,70	0,00
<i>Citrobacter spp.</i>	7,40	6,00
<i>Staphylococcus spp. CoNS</i>	66,60	75,70
<i>S.aureus</i>	0,00	0,00
<i>Streptococcus spp.</i>	0,00	12,10
<i>Pediococcus spp.</i>	3,70	0,00
<i>Candida spp. nonalbicans</i>	33,30	12,10
<i>C. albicans</i>	59,20	15,10
НГОБ	18,50	30,30
<i>Corynebacterium spp.</i>	22,20	33,30
<i>Bacillus spp.</i>	55,50	42,40
Ассоциации микроорганизмов:		
нет	48,10	66,60
2 микроорганизма	25,90	21,20
3 микроорганизма	14,80	9,00
4 микроорганизма и более	11,10	3,00

**Заключение.** В итоге работы установлен видовой состав микробиоценоза толстой кишки больных различными формами туберкулеза легких, в том числе с МЛУ. Показано, что в результате более длительной и массивной антимикробной химиотерапии у больных с лекарственно устойчивым туберкулезом легких снижается видовое разнообразие и частота выделения представителей кишечной микробиоты, при этом условно-патогенные микроорганизмы в 3,7 раза чаще выделяются в ассоциациях по 4 вида и более на фоне резкого угнетения облигатных микроорганизмов, что подтверждает необходимость использования в комплексной терапии пробиотиков на основе пробиотических микроорганизмов с высоким уровнем антагонистической активности к УПМ, циркулирующим в регионе.

#### Литература:

1. Furin J.J., Johnson J.L. Recent Advances in the Diagnosis and Management of Tuberculosis // *Curr Opin Pulm Med* 2005; 11(3):189-194
2. Crofton J., Chaulet P., Maher D. et al. Guidelines for the management of drug-resistant tuberculosis/ WHO, Geneva. 1997. 49 p.
3. Методические рекомендации по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания: утв. Приказом МЗ РФ от 29.12.2014 № 951. – М., 2014. – 47 с.
4. Москалёв А.В., Сбойчаков В.В., Рудой А.С. Общая иммунология с основами клинической иммунологии: учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 352 с.
5. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ: Приказ МЗ РФ от 21.03.2003 № 109 – М., 2003. – 347 с.
6. Точилина А.Г., Белова И.В., Соловьева И.В., Жирнов В.А., Иванова Т.П. Критерии оценки состава биоценоза просвета толстой кишки // *Справочник заведующего КДЛ*, 2016. – № 8. – С. 54-78.
7. Отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004-2003. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: Приказ МЗ РФ № 231. – М., 2003. – 112 с.

УДК: 616.34

### **МИКРОБИОТА НОСОГЛОТКИ У ДЕТЕЙ-НОСИТЕЛЕЙ *S. PNEUMONIAE* С ЧАСТЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

**Валиева<sup>1,2</sup> Р. И., Баязитова<sup>1,2</sup> Л. Т., Тюпкина<sup>1</sup> О. Ф., Чазова<sup>1</sup> Т. А., Исаева<sup>1,2</sup> Г. Ш.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия*

**Аннотация.** В статье изложены результаты микробиологического исследования характера микрофлоры носоглотки у детей – носителей *S. pneumoniae* дошкольного возраста с частыми респираторными инфекциями в Республике Татарстан. Обследовано 182 ребенка в период с сентября 2018 по февраль 2019 года. Изучение носоглоточной микробиоты показало, что доминирующим агентом является *Streptococcus pneumoniae*. В составе ассоциации преобладали *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, с меньшей частотой наблюдалась ко-колонизация с *Moraxella nonliquefaciens* и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*.

### **NASOPHARYNGEAL MICROBIOTA IN CHILDREN, CARRIERS OF *S. PNEUMONIAE* WITH RESPIRATORY INFECTIONS**

**Valieva<sup>1,2</sup> R. I., Bayazitova<sup>1,2</sup> L. T., Tyupkina<sup>1</sup> O. F., Chazova<sup>1</sup> T. A., Isaeva<sup>1,2</sup> G. Sh.**

<sup>1</sup>*Kazan Scientific-Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Kazan, Russia*

<sup>2</sup>*Kazan State Medical University of Health ministry of Russian Federation, Kazan, Russia*

**Abstract.** The results of microbiological research of the nature of the microbiota of the nasopharynx in children, carriers of *S. pneumoniae* in preschool age children with respiratory infections in the Republic of Tatarstan. 182 children were examined from September 2018 to February 2019. The study of the nasopharyngeal microbiota showed that the dominant agent is *Streptococcus pneumoniae*. The Association was dominated by *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, and less by *Moraxella nonliquefaciens* and *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*.

**Введение.** Микробиоценоз верхних дыхательных путей, как составная часть микробиоты макроорганизма, активно участвует в антиинфекционной защите; в формировании патологического процесса [1, 2, 3]. Микробиота носоглотки представляет

собой динамичную систему, в которой пневмококки находятся в состоянии взаимодействия с иммунной системой макроорганизма и микроорганизмами, колонизирующими этот биотоп – преимущественно *Moraxella catarrhalis*, *Hemophilus influenza*, *Staphylococcus aureus* [4, 5, 6, 7]. Между собой бактерии сосуществуют в синергических взаимовыгодных отношениях, но с некоторыми представителями вступают в конкурентные отношения [8]. Наиболее частый представитель микрофлоры верхних дыхательных путей – *S. pneumoniae* – является ключевым фактором в развитии мукозальных респираторных и инвазивных инфекций [9]. Согласно данным исследователей, была выявлена негативная связь между носительством *S. pneumoniae* и *S. aureus* у детей дошкольного возраста [6, 10]. Уровень носительства обоих видов связан с возрастом: наибольшая частота *S. pneumoniae* и наименьшая у *S. aureus* наблюдается в возрасте от 6 месяцев до 3 лет [3, 11, 12], и выраженная колонизация *S. aureus* в возрасте 5–7 лет [12]. Предположения о причинах обратной корреляции между данными патогенами объясняется тем, что перекись водорода, продуцируемая *S. pneumoniae*, обладает бактерицидной активностью в отношении *S. aureus* [12, 13]. В результате широкого использования антипневмококковых вакцин возможно замещение вакцинных серотипов *S. pneumoniae* на невакцинные, и к появлению высоких показателей носительства *S. aureus* у детей дошкольного возраста [14]. Ко-колонизация несколькими возбудителями приводит к суммированию вирулентного потенциала. Наряду с этим в популяциях взаимодействующих микроорганизмов увеличивается число особей, устойчивых к антибиотикам. Исследования, направленные на изучение назофарингеального носительства указанных возбудителей и их взаимосвязь, позволят в каждом конкретном случае провести целенаправленную профилактику и лечение инфекционных процессов с учетом региональных особенностей, в частности вызванных ассоциациями и монокультурами бактерий.

**Цель исследования.** Изучение качественного и количественного состава микрофлоры носоглотки у детей-носителей *S. pneumoniae* дошкольного возраста с частыми респираторными инфекциями в Республике Татарстан.

**Материалы и методы.** Исследование микрофлоры носоглотки проведено у 182 детей в период с сентября 2018 по февраль 2019 года. Распределение по возрасту было следующим: до 2-х лет – 96 детей, 3–4 года – 47 и 5–7 лет – 39 детей. Посев биоматериала производили на питательный агар (Columbia, Bio-Rad, США) с добавлением 3% эритроцитарной массы, маннит-солевой желточный агар, а также на «шоколадный» агар, содержащий 10 мкг/мл НАД, который добавляли в предварительно охлажденную до 50–60°C среду. Идентификацию пневмококка проводили на основании морфологических и культуральных свойств, а также с помощью теста с оптохином и реакции латекс-агглютинации (Slidex Pneumo-Kit). Выделенные культуры идентифицировали по характеру протеомного профиля, который определяли с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

**Результаты исследования.** Изучение носоглоточной микробиоты детей дошкольного возраста с частыми респираторными инфекциями показало, что доминирующим агентом является *Streptococcus pneumoniae* (высокий индекс доминирования Бергера-Паркера – 0,47) [15]. В монокультуре *Streptococcus pneumoniae* выделялся в 28,5% случаев с высокой степенью колонизации ( $10^4$ – $10^6$  КОЕ/мл). В качестве пневмококк – ассоциированного таксона был выделен *Staphylococcus aureus*, который преобладал у детей старше 5 лет (46,1%) в количестве  $10^5$ – $10^6$ , что коррелирует с литературными данными. В составе ассоциации так же преобладали *Moraxella catarrhalis* – 39,3% и *Hemophilus influenza* – 36,8%, с меньшей частотой наблюдалась ко-колонизация с *Moraxella nonliquefaciens* – 23%; *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* – 21,2%. Микробиологический пейзаж слизистых оболочек лиц свободных от носительства *S. pneumoniae* был представлен в основном коагулазонегативными стафилококками (*S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*). Для оценки видового разнообразия с учетом наиболее редких видов бактерий использовали индекс Шеннона (1,7), который показал увеличение роли грамтрицательных бактерий рода *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*

**Заключение.** Микробиоценоз носоглотки детей-носителей пневмококков представлен варибельным многокомпонентным сообществом условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Анализ носительства патогенов, обладающих инвазивными свойствами, необходим для разработки методов профилактики заболеваний с учетом ассоциативного характера назофарингеальной микробиоты.

Литература:

1. Вишнякова Л.А. Некоторые вопросы эпидемиологии пневмококковой инфекции / Л.А. Вишнякова, М.Е. Фаустова, Т.С. Сологуб // Журнал микробиологии 2017. – № 8. – С. 64–68.
2. Козлов Р.С. Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее. / Р.С. Козлов. – Смоленск: Смоленская государственная медицинская академия, 2005. 128 с.
3. García-Rodríguez JA, Fresnadillo Martínez MJ. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. J Antimicrob Chemother. 2002; 50(Suppl S2): 59–73.
4. Мартынова А.В. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг неинвазивных штаммов *S.pneumoniae* / А.В. Мартынова, В.Б. Турку-тюков // Вестник новых медицинских технологий. 2007. – Т. 14. – № 2. – С. 143.
5. Shiri T, Nunes MC, Adrian PV, Van Niekerk N, Klugman KP, Madhi SA. Interrelationship of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus* colonization within and between pneumococcal-vaccine naïve mother-child dyads. BMC Infect Dis 2013; 13: 483.
6. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, Leeuwen W, Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis. 2005; 5(12): 751–762.
7. Romney MG, Hull MW, Gustafson R, Sandhu J, Champagne S, Wong T, Nematallah A, Forsting S, Daly P. Large community outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 5 invasive infection in an impoverished, urban population. Clin Infect Dis. 2008; 47(6): 768–774.
8. Баранова А.А., Намазова-Баранова Д.С., Маянский Н.А., Куличенко Т.В. и др. Роль *Streptococcus pneumoniae* в структуре бактериальных инфекции у детей, госпитализированных в стационары г. Москвы. Педиатрическая фармакология. 2013; 1(5): 6–12.
9. Самсыгина, Г.А. Острые рецидивирующие инфекции респираторного тракта у детей. Педиатрия. – 2015. – Т. 91. – № 2. – С. 6–8.
10. Lynch JP, 3rd, Zhanell GG. *Streptococcus pneumoniae*: does antimicrobial resistance matter? Semin Respir Crit Care Med. 2018; 30(2): 210–238.
11. Bogaert D, Groot R, Hermans PW. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. Lancet Infect Dis. 2014; 4(3): 144–154.
12. Усвятцов Б.Я. Характеристика микробного биоценоза слизистой носа у здоровых людей и стафилококковых бактерионосителей / Б.Я. Усвятцов, Л.И. Паршута, О.В. Бухарин // Журнал микробиологии. – 2002. – № 6. – С. 65–69.
13. Regev-Yochay G, Dagan R, Raz M, Carmeli Y, Shainberg B, Derazne E, Rahav G, Rubinstein E. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in children. JAMA. 2004; 292(6): 716–720.
14. Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш., Зарипова А.З., Пяташина М.А., Авдоница Л.Г., Юзлибаева Л.Р. Внебольничные пневмонии пневмококковой этиологии и микробиологические аспекты назофарингеального носительства *Streptococcus pneumoniae* у детей в республике Татарстан. Инфекция и иммунитет. – 2017. – № 3. – С. 271–278.
15. Лебедева Н.В, Криволицкий Д.А., Пузаченко Ю.Г. и др. География и мониторинг биоразнообразия. М.: Издательство Научного и учебно-методического центра, – 2002. – 432 с.

**СОСТОЯНИЕ МЕСТНОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ  
У БЕРЕМЕННЫХ С ДИСБИОЗОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ КАК ФАКТОР ОЦЕНКИ  
РИСКА РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ  
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ**

**Гапон<sup>1</sup> М. Н., Тагиров<sup>2</sup> З. Т., Костоева<sup>1</sup> М. Г., Логинов<sup>3</sup> И. А.**

<sup>1</sup>*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

<sup>2</sup>*Колледж ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия*

<sup>3</sup>*ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Исследование местной неспецифической резистентности в копрофильтратах беременных в динамике развития беременности выявило тенденцию снижения активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы) и увеличения количества токсического продукта перекисного окисления липидов (малонового диальдегида), что обусловлено несостоятельностью первой линии антиоксидантной защиты при высоком содержании условно-патогенной микрофлоры и свидетельствует об эндоэкологическом неблагополучии, нарастающем к исходу беременности и отягощающем это состояние. Представленные показатели указывают на условия, благоприятствующие развитию микроэкологического дисбаланса и способствующие транслокации условно-патогенных микроорганизмов, а уровень МДА может служить критерием оценки у беременных риска распространения инфекционных агентов.

**THE STATE OF NONSPECIFIC RESISTANCE IN PREGNANT WOMEN WITH COLON  
DYSBIOSIS AS A FACTOR IN ASSESSING THE RISK OF SPREADING INFECTIONS,  
ASSOCIATED WITH THE RENDERING OF MEDICAL AID**

**Gapon<sup>1</sup> M. N., Tagirov<sup>2</sup> Z. T., Kostoyeva<sup>1</sup> M. G., Loginov<sup>3</sup> I. A.**

<sup>1</sup>*Rostov research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

<sup>2</sup>*College of Rostov State Medical University, Ministry of health of Russia, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>3</sup>*Rostov State Medical University, Ministry of health of Russia, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The study of local nonspecific resistance in coprofiltrates of pregnant women in the dynamics of pregnancy showed a tendency to reduce the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase) and increase the amount of toxic lipid peroxidation product (Malonaldehyde), which is due to the failure of the first line of antioxidant protection with a high content of opportunistic microflora and indicates endoecological trouble, increasing to the outcome of pregnancy and aggravating this condition. The presented indicators indicate the conditions conducive to the development of microecological imbalance and contributing to the translocation of opportunistic microorganisms, and the level of MDA can serve as a criterion for assessing the risk of spreading infectious agents in pregnant women.

**Введение.** Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), особенно опасны в родовспомогательных учреждениях. Поэтому раннее выявление инфекционного агента и условий, способствующих его распространению, приобретает огромную значимость. Использование микробиологических методов всегда являлось золотым стандартом для выделения возбудителей, однако, длительность их исполнения и не полный спектр культивируемых микроорганизмов, стали стимулом к поиску более быстрых и эффективных методов диагностики. В последние годы для определения функциональных изменений микроэкологического сообщества всё чаще используют методы метабономики, с помощью которых проводят анализ части метаболитов, что даёт интегральную оценку всей

системы, а не отдельных её составляющих. При этом для получения информации и её обработки используется современное дорогостоящее оборудование, которое, к сожалению, не всегда доступно для использования в практической медицине. В связи с этим остаётся актуальным поиск простых в исполнении и не дорогих способов выявления рисков распространения разного рода инфекций.

Известно, что физиологическое течение беременности проходит на фоне выраженного окислительного стресса [3, 7], который лежит в основе развития любых патологических процессов. При несостоятельности системы антирадикальной защиты происходит повреждение клеточных мембран с множеством вытекающих последствий [6], в связи с чем, важнейшая роль отводится первой линии антиоксидантной защиты (АОЗ), представленной сопряженными ферментами: супероксиддисмутазой (СОД) и каталазой.

Результатами исследований, проводимых в последние годы, было показано, что к последнему сроку гестации в содержимом толстой кишки беременных на фоне снижения численности нормальных зубионтов значительно увеличивается содержание условно-патогенной микрофлоры (УПМ) [9, 10]. Ранее нашими исследованиями было установлено, что количество продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), в частности, малонового диальдегида (МДА) сопряжено с общим числом УПМ в микробиоценозах толстой кишки [2]. В связи с изложенным выше, **целью** настоящей работы стало изучение состояния микробиоценозов толстой кишки, местной АОЗ и ПОЛ беременных женщин на разных сроках гестации.

**Материалы и методы.** Объектом исследования явилось содержимое толстой кишки практически здоровых беременных женщин. В качестве контроля был взят материал от 22 небеременных женщин детородного возраста с нормомикробиоценозом кишечника. Из 100 обследованных женщин, 78 были на разных сроках беременности: 25 человек в первом триместре, 20 – во втором триместре, 33 – в третьем триместре. Используются методы бактериологического исследования содержимого толстой кишки [8] и биохимические методы определения количества промежуточного продукта ПОЛ – МДА [1], активностей СОД [4] и каталазы [5] в копрофильтратах. Полученные результаты обработаны программой EXCEL с использованием библиотеки статистических функций.

**Результаты и обсуждение.** Результаты бактериологического исследования женщин показали, что у всех обследованных независимо от срока беременности, выявлялось нарушение состава микробиоценоза толстой кишки разной степени тяжести [9]. I степень дисбиоза определялась у 35% женщин в первом триместре, у 10% – во втором триместре, у 1% – в третьем триместре. II степень встречалась значительно чаще: у 43% в первом триместре, у 40% – во втором, у 31% – в третьем. III степень дисбиоза была установлена в 22% случаев в первом триместре, в 50% – во втором, в 67% – в третьем. Полученные данные отражают преобладание в большинстве случаев у беременных II и III степени микробиологических нарушений. Отличительной чертой состава микробиоты толстой кишки беременных женщин на последнем сроке гестации стало достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение в 1,7 раз общего числа УПМ в 93% случаев.

Состояние АОЗ в динамике беременности, характеризовалось снижением активностей СОД и каталазы. При этом средние показатели активности СОД в I триместре составили  $9,97 \pm 0,36$  у.е./мин мл, во II –  $7,92 \pm 0,36$  у.е./мин мл, в III –  $2,55 \pm 0,12$  у.е./мин мл; каталазы в I триместре –  $6,68 \pm 0,33$  мккатал/мл/час, во II –  $4,81 \pm 0,19$  мккатал/мл/час, в III –  $0,83 \pm 0,03$  мккатал/мл/час. Сравнение средних значений активностей СОД и каталазы, представленных выше, выявило определенную закономерность. В ходе исследования было установлено нестабильное состояние антиоксидантных ферментов. Чаще всего в копрофильтратах обследованных активность СОД превышала активность каталазы, что указывает на дисбаланс в их работе. Так как СОД катализирует реакцию дисмутации свободных радикалов с образованием гидроперекисей, то полученные данные о низкой относительно контрольных показателей активности каталазы во все сроки гестации свидетельствуют о неспособности утилизировать гидроперекиси, в результате чего возможна деструкция

клеточных мембран и увеличивается вероятность транслокации УПМ. Происходящее снижение активности СОД в динамике беременности свидетельствует о максимальном ослаблении антирадикальной защиты на местном уровне в предродовом периоде.

Анализ данных бактериологического и биохимического исследования биоматериала небеременных женщин с нормомикробиоценозом толстой кишки и беременных с разной степенью микробного дисбаланса позволил представить следующие результаты. Нормальному состоянию кишечного микробиоценоза соответствовала более высокая активность СОД равная  $10,8 \pm 0,53$  у.е./мин мл. При I и II степени дисбиоза активность СОД составляла  $9,24 \pm 0,46$  и  $6,83 \pm 0,3$  у.е./мин мл соответственно, при III степени дисбиоза активность СОД была значительно ниже –  $1,95 \pm 0,09$  у.е./минмл. Средние данные активности каталазы при нормомикробиоценозе в контрольной группе составили  $6,95 \pm 0,28$  мккатал/мл/час, у беременных: при I степени дисбиоза –  $5,68 \pm 0,15$  мккатал/мл/час, при II степени –  $3,41 \pm 0,06$  мккатал/мл/час, при III степени –  $0,72 \pm 0,03$  мккатал/мл/час.

Наряду с этим в динамике беременности был зафиксирован достоверный ( $p < 0,05$ ) рост средних величин МДА: в I триместре среднее количество МДА составляло 2,4 нмоль/мл, во II триместре – 3,4 нмоль/мл, в III триместре – 5,2 нмоль/мл. У обследованных на последнем сроке гестации среднее количество МДА превышало первоначальный уровень более чем в 2 раза, что косвенно указывает на эндозекологическое неблагополучие и несостоятельность детоксикационной системы к исходу беременности. Однако в каждом отдельном случае содержание МДА отражало степень микрорезкологических нарушений в толстой кишке и не зависело от срока беременности. Рост средних величин МДА в копрофильтратах в динамике беременности, коррелирующий ( $p < 0,05$ ) с повышением численности УПМ в кишечном микробиоценозе, позволяет предположить о наличии деструктивных изменений в толстой кишке у беременных с дисбиозом.

В результате нашего исследования установлено, что в динамике развития беременности в толстой кишке обследуемых происходит усиление эндозекологического неблагополучия, проявляющееся в тяжести микрорезкологических нарушений на фоне ослабления местной неспецифической резистентности при снижении АОЗ и усилении эндотоксикоза высоким уровнем МДА. В связи с этим, показатель МДА можно рекомендовать в качестве критерия для выявления среди беременных лиц с дисбиозом, которые могут составлять угрозу по распространению УПМ в родовспомогательных учреждениях. Сравнение микробиологических и биохимических показателей позволило определить комплексные нарушения микробно-тканевого комплекса толстой кишки, возникающие в процессе развития беременности, отягощающие это состояние и создающие предпосылку для распространения ИСМП в родах, что предполагает продолжение исследований, направленных на разработку профилактических мер.

#### Литература:

1. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Гапон М.Н. Показатели местной неспецифической резистентности при дисбактериозе толстого кишечника / М.Н. Гапон, Л.Н. Терновская // Журн. микробиол. 2010. – № 5. – С. 53–57.
3. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: МАИК «Наука/интерпериодика», 2001. – 343 с.
4. Кишкун А.А. Биохимические исследования в клинической практике. Руководство для врачей // МИА. Москва, 2014. – 527 с.
5. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Львовская Е.И., Григорьева Н.М. Процессы перекисного окисления липидов в норме и особенности протекания ПОЛ при физических нагрузках // 2005. – 88 с.

7. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. // М.: фирма «Слово», 2006. – 526 с.
8. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника. Методические рекомендации. М., 2007. – 68 с.
9. Полищук И.С. Характер микробиоценоза толстой кишки беременных / И.С. Полищук, М.Н. Гапон, Л.Н. Терновская // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на юге России», 13–14 октября, Ростов-на-Дону, 2016. – С. 274–278.
10. Рымашевский А.Н. Особенности микробиоценозов влагалища и толстого кишечника у беременных в третьем триместре беременности / А.Н. Рымашевский, Ю.Л. Набока, Э.Г. Свирава, Л.Е. Брагина // Кубанский научный медицинский вестник. 2011. № 6 (129). С. 120–123.
11. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопр. мед. химии, 1999. – № 3. – С. 14–15.

УДК: 579.264

### **АНТИКАНДИДОЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНТЕРОКОККОВ В ВАГИНАЛЬНОМ БИОТОПЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO**

**Заславская М. И., Александрова Н. А., Махрова Т. В.**

*ФГБОУ ВО «Приволжский медицинский исследовательский университет»  
Минздрава России, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В работе изучена взаимосвязь между концентрациями кандид и энтерококков в вагинальной полости у женщин репродуктивного возраста, а также влияние энтерококковых метаболитов на различные виды жизнедеятельности грибов рода *Candida*. Установлено, что энтерококки являются антагонистами кандид: повышение титра энтерококков сопровождается снижением количества микромицетов в вагинальном биотопе. Метаболиты *E. faecalis* и *E. faecium* обладают штамм-зависимым фунгистатическим и фунгицидным действием, способны подавлять формирование кандидами биопленок, а также снижают адгезию *Candida spp.* к мукозальным эпителиоцитам.

### **ANTI-CANDIDA ACTIVITY OF ENTEROCOCCI IN VAGINAL BIOTOPE AND IN VITRO EXPERIMENTS**

**Zaslavskaya M. I., Alexandrova N. A., Makhrova T. V.**

*FSBEI HE «Privolzhsky Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russia,  
Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The paper studies the relationship between the concentration of candida and enterococci in the vaginal cavity of women of reproductive age, as well as the effect of enterococcal metabolites on various types of activity of *Candida* fungi. It has been established that there are antagonistic interactions between enterococci and *Candida* antagonists: an increase in the enterococci titer is accompanied by a decrease in the number of micromycetes in the vaginal biotope. Metabolites of *E. faecalis* and *E. faecium* possess strain-dependent fungistatic and fungicidal action, are able to suppress the formation of *Candida biofilms*, and also reduce the adhesion of *Candida spp.* to mucosal epithelial cells.

**Введение.** Одной из проблем современной медицины является широкая распространенность инфекций, вызываемых грибами рода *Candida*, в частности, вагинального кандидоза [1, 2]. Обязательными этапами развития кандидозной инфекции являются адгезия кандид на эпителиоцитах [3, 4] на реализацию которой могут влиять различные факторы, в том числе, другие представители микробиоценоза. Среди



факультативной микрофлоры мочеполовой системы человека достаточно часто обнаруживаются энтерококки, обладающие выраженной антимикробной активностью [5, 6].

**Целью** работы было определение антикандидозного потенциала энтерококков в вагинальном биоценозе и механизм антифунгального действия их метаболитов.

**Материалы и методы.** Для анализа взаимоотношений энтерококков с кандидами в вагинальном биоценозе были проведены исследования вагинального содержимого у женщин детородного возраста. Были проанализированы результаты микробиологического исследования 552 женщин, у которых во влагалище присутствовала микрофлора в одном из вариантов: а) кандиды, б) энтерококки, в) кандиды и энтерококки. Вагинальное содержимое ( $10^{-1}$  мл) в забуференном физиологическом растворе (ЗФР), полученное от женщин 18–35 лет, засеивали на среды Сабуро (0,1 мл) и энтерококкагар (0,05 мл) «сплошным газоном». Посевы инкубировали (48 ч,  $37^{\circ}\text{C}$ ), подсчитывали количество колоний кандид и энтерококков и вычисляли титр микроорганизмов в 1 мл нативного материала. Взаимосвязь параметров оценивали методом корреляционного анализа, определяя коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Силу корреляционной связи определяли по значению  $r_s$ : ниже 0,3 – слабая, от 0,3 до 0,7 – средняя и от 0,7 до 1,0 – сильная.

В работе использовали штаммы энтерококков и кандид из коллекции кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава РФ (г. Н. Новгород). Буккальные эпителиоциты получали от здоровых доноров 18–45 лет, в экспериментах использовали клетки в концентрации  $10^6$  кл/мл в ЗФР. Метаболиты энтерококков получали путем фильтрации (Sterile syringe filter, 20 мкм, Corning, Germany) культуры бактерий, выращенной ( $37^{\circ}\text{C}$ , 24 ч) в ТСБ.

Совместное культивирование кандид и энтерококков проводили на двухслойном агаре в чашках Петри с использованием метода отсроченного антагонизма [7]. На поверхность МПА с суточной культурой энтерококка наслаивали агар Сабуро, куда засеивали кандиды «сплошным газоном». Контролем служил двухслойный агар без энтерококков. Учитывали количество и размер колоний кандид на поверхности агара после инкубации (24 ч,  $37^{\circ}\text{C}$ ).

Для получения биопленки взвесь *C. albicans* 601 ( $10^7$  кл/мл) в ЗФР наслаивали в лунки планшетов (Costar, USA), добавляли продукты метаболизма энтерококков и инкубировали ( $37^{\circ}\text{C}$ , 48 ч). В контроле использовали стерильный ТСБ. Зрелую биопленку кандид отмывали ЗФР, высушивали, окрашивали 1%-ным раствором кристаллического фиолетового. Краситель элюировали из биопленочной массы смесью этанол-изопропанол (1:1). Оценивали оптическую плотность образцов на фотоэлектроколориметре; результат выражали в относительных световых единицах (отн. свет. ед.).

Для оценки способности кандид к адгезии на эпителиоцитах суспензию *C. albicans* 601 ( $5 \times 10^7$  кл/мл) инкубировали (30 мин,  $37^{\circ}\text{C}$ ) в ЗФР с взвесью буккальных эпителиоцитов ( $1 \times 10^6$  кл/мл). Эпителиоциты отмывали от несвязавшихся кандид, из осадка клеток готовили мазок, окрашенный азуром А (Sigma-Aldrich, USA). Показатель искусственной колонизации определяли как среднее количество адгезированных кандид в пересчете на один эпителиоцит.

**Результаты и обсуждение.** Анализ данных показал, что с увеличением количества энтерококков во влагалище концентрация кандид в исследуемом материале снижалась.

Было установлено наличие обратной зависимости при средней силе корреляционной связи ( $r_s = -0,66$ ) между интравагинальными популяциями энтерококков и кандид. При отсутствии энтерококков в содержимом влагалища у 52,2% пациенток были выделены кандиды в концентрации, не превышающей нормальную ( $10^4$  КОЕ/мл), у 47,8% – число кандид было выше нормы. При обнаружении в вагинальном содержимом энтерококков в концентрации до  $10^3$  КОЕ/мл (норма) у 78,8% женщин кандиды отсутствовали, в 13,5% случаев число микромицетов не превышало  $10^4$  КОЕ/мл, и только у 7,69% пациентов кандиды превышали норму. При повышении количества энтерококков свыше  $10^3$  КОЕ/мл у 89,2% женщин кандиды отсутствовали, у 5,92% пациенток концентрация кандид не превышала норму, и лишь в 4,88% случаев число кандид было выше нормы. Это означало,

что увеличение титра энтерококков в вагинальном содержимом подавляет популяцию кандид в биотопе.

При совместном культивировании *C. albicans* 601 и *Enterococcus spp.* в экспериментах с «отсроченным антагонизмом» было выявлено достоверное снижение размера колоний кандид в 1,23–2,0 раза в зависимости от тестируемого штамма энтерококков ( $p < 0,05$ ). В экспериментах со штаммами *E. faecalis* 4314, *E. faecium* 173-5, *E. faecium* 174-3 дополнительно наблюдалось снижение количества колоний кандид в 2,87; 2,28 и 2,63 раз, соответственно ( $p < 0,05$ ). Таким образом, метаболиты энтерококков обладали фунгистатическим эффектом, а у отдельных штаммов – фунгицидным эффектом.

Способность образовывать биопленки является одним из важнейших факторов патогенности кандид. Снижение активности биопленкообразования микромицетами может иметь большое значение в предупреждении возникновения кандидоза. Было установлено, что продукты метаболизма энтерококков снижают способность кандид к образованию биопленки. Так, при обработке *C. albicans* 601 метаболитами *E. faecalis* 173-5, *E. faecalis* 4314 и *E. faecium* 174-3 показатели оптической плотности составляли  $0,043 \pm 0,0057$  отн. свет. ед.;  $0,046 \pm 0,0087$  отн. свет. ед. и  $0,045 \pm 0,0066$  отн. свет. ед. соответственно и были существенно ниже, чем в контроле –  $0,116 \pm 0,0138$  отн. свет. ед. ( $p < 0,05$ ).

Обработка *C. albicans* 601 ( $37^\circ\text{C}$ , 30 мин) метаболитами энтерококков снижала адгезию кандид к эпителиоцитам. При этом, достоверное снижение ( $p < 0,05$ ) адгезии *C. albicans* наблюдалось после обработки метаболитами следующих штаммов: *E. faecium* L3, *E. faecalis* 4314, *E. faecalis* 4306 и *E. faecalis* 179-2. Было установлено, что метаболиты *E. faecium* L3 способны подавлять адгезию разных видов кандид к эпителиоцитам: *C. glabrata* 44-1, *C. krusei* 583, *C. tropicalis* 127, при этом индекс искусственной колонизации достоверно снижался в  $1,77 \pm 0,29$ ,  $1,63 \pm 0,22$  и  $1,25 \pm 0,09$  раз, соответственно ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Таким образом, энтерококки проявляют выраженный антагонизм в отношении кандид на уровне вагинального биотопа у женщин репродуктивного возраста: повышение титра *Enterococcus spp.* всегда сопровождается снижением титра *Candida spp.* Антикандидозная активность метаболитов энтерококков имеет штамм-зависимый характер. Продукты метаболизма энтерококков обладают фунгистатическим, а у отдельных штаммов – фунгицидным эффектом в отношении кандид разных видов. Метаболиты энтерококков способны подавлять формирование кандидами биопленок, а также адгезию *Candida spp.* на эпителиальных клетках.

#### Литература:

1. *Candida vaginitis*: virulence, host response and vaccine prospects / F. De Bernardis, S. Graziani, F. Tirelli, S. Antonopoulou // *Med. Mycol.* – 2018. – V. 56 (suppl. 1). – P. S26–S31.2.
2. Bradford L.L., Ravel J. The vaginal mycobiome: A contemporary perspective on fungi in women's health and diseases // *Virulence.* – 2016. – V. 8 (3). – P. 342–351.
3. Mayer F.L., Wilson D., Hube D. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms // *Virulence.* – 2013. – V. 4 (2). – P. 119–128.
4. Innate immune cell response upon *Candida albicans* infection / Y. Qin, L. Zhang, Z. Xu, J. Zhang, Y. Jiang, Y. Cao, T. Yan // *Virulence.* – 2016. – V. 7 (5). – P. 512–526.
5. Ермоленко Е.И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы // *Вестник С.-Петербург. ун-та.* – 2009. – С. 11. Медицина. – № 3. – С. 184–201.
6. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family / P. Alvarez-Sieiro, M. Montalbán-López, D. Mu, O.P. Kuipers // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2016. – V. 100 (7). – P. 2939–2951.
7. Оценка антагонистической активности клинических изолятов отделения реанимации / О.Г. Пегушина, Ю.Н. Маслов, И.В. Фельдблум, М.П. Калипарова, Е.П. Кайнова // *Дезинфекционное дело.* – 2016. – № 1 (95). – С. 18–22.

**ПОТЕНЦИАЛ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ  
С ГЛИКОКОНЬЮГАТАМИ БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА:  
СИНЕРГИСТЫ ЛЕКАРСТВ, НОСИТЕЛИ ПРЕБИОТИКОВ, ИСТОЧНИКИ  
ПОСТБИОТИКОВ, ИНГРЕДИЕНТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ,  
ИНСТРУМЕНТЫ ВЛИЯНИЯ НА БИОТОП**

**Лахтин М. В., Лахтин В. М., Афанасьев С. С., Алешкин В. А.**

*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

**Аннотация.** Объектом исследования были высокомолекулярные продукты пробиотиков, взаимодействующие с гликоконъюгатами. Нами изолированы, стандартизированы и исследованы биологические свойства пробиотических лектинов (ПЛ), распознающих и связывающих водорастворимые полимерные поливалентные конформационно адаптируемые синтетические гликоконъюгаты ([www.lectinity.com](http://www.lectinity.com)). Проведена оценка перспектив ПЛ на основе таких ключевых свойств, как: 1. Технологические преимущества в сравнении с пробиотиками: устойчивость при хранении; присутствие в водо- и жирорастворимых формах; совместимость с антибиотиками. 2. Способность имитировать пробиотики. 3. Опережение пробиотических клеток в действии. 4. Разнообразие форм – комплексных и конверсионных. 5. Действие как метаболомбиотиков по принципу «сеть-в-сети». 6. Функционирование как носителей и доставщиков пребиотиков, метабитиков и лекарств гликоконъюгатной природы. 7. Непосредственное и опосредованное участие в действии постбиотиков. 8. Синергизм с антиинфекционными агентами и факторами. 9. Поддержка систем иммунитета: комплемента, цитокиновой, макрофаговой, лейкоцитов крови, других. 10. Поддержка метаболических процессов в биотопах, в которых участвуют ингредиенты готовых формул функционального питания. Результаты указывают на универсальность ПЛ, широкие перспективы их применения в профилактике и сопроводительной терапии болезней, мультиуровневой регуляции биотопов, потенциал использования в качестве распознающих ингредиентов функционального питания.

**POTENTIAL OF THE PROBIOTIC INTERACTING WITH GLYCOCONJUGATES  
PROTEINS IN HUMAN ORGANISM: SYNERGISTS OF DRUGS, CARRIERS  
OF PREBIOTICS, SOURCES OF POSTBIOTICS, INGREDIENTS  
OF THE FUNCTIONAL FOOD, INSTRUMENTS OF INFLUENCE ON BIOTOPE**

**Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Afanasiev S. S., Aleshkin V. A.**

*G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Abstract.** Highly molecular weight probiotic products interacting to glycoconjugates were investigated. We isolated, standardize and investigated probiotic lectins (PL) recognizing and binding polymeric polyvalent synthetic glycoconjugates ([www.lectinity.com](http://www.lectinity.com)). The prospects of PL were evaluated on the basis of the following key properties of PL: 1. Technological advantages in comparison to probiotics: resistance upon storage and in conditions of stress, the presence in watersoluble and in lipid phases, independence on the presence of antibiotics. 2. Capability to imitate probiotics. 3. Advancing probiotic cells in action. 4. Diversity of complexes and conversion forms. 5. Action of PL as metabolomebiotics as «the network-in-the network». 6. Functioning as carriers and suppliers of prebiotics, metabiotics and drugs of glycoconjugate nature. 7. Direct and indirect participation in action of postbiotics. 8. Synergism with antiinfectious agents and factors. 9. Support actions of immune systems (complement, cytokines, macrophages, blood leukocytes, others). 10. Support of the biotope metabolic processes involving action of ingredients of formulas of functional food. The data indicate universal properties of PL, prospects of application of PL in prophylaxis and accompanying therapy, multilevel regulation of biotopes and application as recognizing ingredients of functional food.

В последние годы высокомолекулярные продукты пробиотиков привлекают повышенное внимание исследователей в связи с их мультипотентностью, выявлением у них новых биологических активностей, сигнальных и коммуникационных функций. По нашим данным традиционные мультипробиотики являются источником важных ферментов и других функционально активных белков (в том числе факторов распознавания лектинового типа), природных небелковых полимерных компонентов и их комплексов. Нами изолированы, стандартизированы, исследованы биологические и коммуникационные свойства пробиотических лектинов (ПЛ – естественных составляющих пробиотиков и единой защитной системы организма), распознающих и связывающих водорастворимые конформационно адаптируемые полимерные поливалентные синтетические гликоконъюгаты (ГК с известной химической структурой, [www.lectinity.com](http://www.lectinity.com)) [1-21].

**Цель** – на основании собственных данных оценить перспективы ПЛ.

Ключевые группы свойств ПЛ, обосновывающие потенциал их применения.

1. Технологические преимущества в сравнении с пробиотиками: все преимущества метаболитов в сравнении с клеточными формами, в том числе устойчивость при хранении; присутствие в водо- и жирорастворимых формах; не требуют культивирования (наоборот, добавки ПЛ к культурам обладают потенциалом предсказуемой модуляции направленных изменений метаболического статуса лактобацилл и/или бифидобактерий); нечувствительность к антибиотикам и совместимость с ними.

2. Способность имитировать спектр активностей пробиотиков, в том числе антимикробные против эукариотических (дрожжеподобных грибковых) и грамположительных (стафилококковых) условных патогенов; обеспечивать и поддерживать в биотопах пулы пребиотиков (взаимодействия лактобацилл и бифидобактерий), метабиотиков, постбиотиков и лекарств (ГК-природы); организовывать и поддерживать в слизистых антимикробные (против инфекций) и противоопухолевые (адекватные норме, соответствующие поверхности зрелых/ дифференцированных клеток и тканей) декоры ГК.

3. Опережение пробиотических клеток в действии (не требуются предварительные инициация биосинтеза и накопление продукта в необходимых количествах); возможны надежные дозировки, режимы и процедуры доставки в биотопы.

4. Разнообразие форм – комплексных и конверсионных; обеспечение маневренности в мультифункциональной регуляции биотопов; участие в образовании постбиотиков (в реакциях диссоциации комплексов и/или действия гидролаз, с образованием укороченных полипептидов и модифицированных олигосахаридов); обеспечиваются депонирование, защита, выбор ориентации в пространстве элементов декора и эффекторов ГК-природы.

5. Действие как метаболомбиотиков по принципу «сеть-в-сети»; участие в сетевой каскадной мультиузловой многоуровневой защите организма; вовлечение в формирование и реализацию твердофазных направленных градиентов Клетки–Цитокины; реализация ПЛ-сцепленных активностей на поверхностях внеклеточного матрикса и пор слизистых мукозальных органов при субцитоагглютинирующих дозах ПЛ.

6. Функционирование как носителей и доставщиков пребиотиков, метабиотиков и лекарств ГК-природы; поддержка здорового баланса в синбиотопах; углубление резистентности биотопов к инфекциям; обеспечение более быстрого возврата (в исходный статус здоровья)/ реверсии патологии, достижения скорейшей реабилитации индивидуума.

7. Непосредственное (в результате конверсии) и опосредованное (через синергизм, сцепленность на поверхностях) участие в действии постбиотиков.

8. Синергизм с антимикробными и антиинфекционными агентами (антибиотиками, ГК-распознающими белками, ферментами), факторами физиологически позитивного физического стресса.

9. Поддержка систем иммунитета: комплемента, цитокиновой, макрофаговой, лейкоцитов крови, других (в том числе в рамках функционирующей многоуровневой/ иерархически соподчиненной единой суперсистемы защиты организма).

10. Поддержка (вклад в организацию и направленность) функционирования метаболических процессов в биотопах, сходных с таковыми при участии ингредиентов готовых формул функционального питания.

Результаты указывают на перспективы ПЛ в профилактике и сопроводительной терапии болезней, мультиуровневой регуляции биотопов, применения в качестве распознающих ингредиентов функционального питания.

#### Литература:

1. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Черепанова Ю.В., Алешкин А.В., Криворучко Е.В., Агапова Ю.В., Поспелова В.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Белковый состав в сочетании с экзополисахаридами культуральных жидкостей бифидобактерий человека. Материалы III научно-практической школы-конференции молодых ученых и специалистов НИО Роспотребнадзора «Современные технологии обеспечения биологической безопасности» (31 мая – 2 июня 2011 г., Оболенск, Московская обл.) / Под ред. академика РАМН Г.Г. Онищенко, доктора мед. наук, профессора И.А. Дятлова. – Протвино: А-ПРИНТ ЗАО, 2011: 284–7. ISBN 978-5-9901795-2-3. <https://elibrary.ru/item.asp?id=19502165>
2. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин А.В., Байракова А.Л., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Корсун В.Ф. Пробиотические лектины - потенциальные ингредиенты биопрепаратов, БАД и лекарственных форм. Практическая фитотерапия. 2012; № 1: 4–9.
3. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев М.С. Пептидные формулы культуральных жидкостей мультиштаммового консорциума и его ингредиентных штаммов грамположительных бактерий. *Materiały X Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Strategiczne pytania światowej nauki»*. V.28: 26-30. *Nauk biologicznych: Przemysł. Nauka i studia*, 2014. ISBN 978-966-8736-05-6. DOI: 10.17686/sced\_rusnauka\_2014-1320
4. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Афанасьев М.С. Выявление флюорофорных компонентов культур грамположительных бактерий на гидрофобной пористой поверхности. *Materiály X mezinárodní vědecko - praktická konference «Moderní vymoženosti vědy – 2014»*. – Volume 29: 57–61. *Biologické vědy.*: Praha. Publishing House «Education and Science» s.r.o. DOI: 10.17686/sced\_rusnauka\_2014-1318
5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Разнообразие лектиновых систем пробиотических бактерий. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015; № 5: 79–82.
6. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. Ацилакт – мультиштаммовая антагонистическая система деградации и цитолиза. *Materiały XI Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Nauka i inowacja - 2015»*. V. 9: 66-9. *Nauk biologicznych.: Przemysł. Nauka i studia*. ISBN 978-966-8736-05-6. [http://www.rusnauka.com/38\\_NII\\_2015/Biologia/6\\_201476.doc.htm](http://www.rusnauka.com/38_NII_2015/Biologia/6_201476.doc.htm)
7. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Ранжирование макропараметров культур грамположительных бактерий для конструирования консорциумов и штаммов на примере бифидобактерий и лактобацилл. Современный научный вестник. 2016; 5(2): 81–4.
8. Лахтин М.В., Алешкин В.А., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л. Антипатогенный синергизм лектинов с пробиотическими свойствами: потенциал и перспективы для медицинской биотехнологии. Уральский научный вестник. 2016; Т. 4 (№ 2): 175–80.
9. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Симбиотические лектины – метаболомбиотики и носители метабиотиков. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2016; № 3–4: М15.
10. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Кофункционирование пробиотической лактобациллярной системы лектинов и оксидоредуктаз Ацилакта. Молекулярная диагностика- 2017. Сборник трудов IX Всерос. НПК с межд. участием. Т. 2: 506–7. <http://www.mdx-conf.com/trudy-konferentsii/>
11. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Караулов А.В., Афанасьев М.С., Алешкин В.А. Мобильный синбиотопный микробиоценоз против патогенов. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2016; № 3(часть 2): 168–73.

12. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Байракова А.Л. Лектины пробиотических микроорганизмов человека против условнопатогенных дрожжеподобных грибов: биоритм как универсальный ключ оценки раннего антикандидного действия. Успехи медицинской микологии. 2017; 17(17): 163–7.
13. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Основанная на распознавании гликоконъюгатов стратегия выбора культур клеток защитного ряда, характеризующихся направленными на мишени лектиновыми системами. Всерос. НПК «Инновации в медицинской, фармацевтической, ветеринарной и экологической микробиологии». Под ред. проф. В.Б. Сбойчакова и д.м.н. В.В. Малышева. Сб. материалов. СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2017: 171–3. <https://elibrary.ru/item.asp?id=29789256>
14. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. L-альфа-Фузан-связывающие лектиновые системы пробиотических бактерий человека в оценке коммуникаций пробиотического компартмента микробиоценозов человека. Медицинский алфавит. 2017; Том 3 (№ 26): 33–4.
15. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Лектины пробиотиков против болезней микробиоценозов в организме человека. Уральский научный вестник. 2017; V. 2 (№ 9): 35–45.
16. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Пробиотическая атака: вклад лектинов пробиотиков. Материалы X Всерос. Конгресса по инфекционным болезням с межд. участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (26–28 февраля 2018, Москва): 121. [http://congress-infection.ru/\\_pictures/2018/tezis\\_ib-2018\\_blok.pdf](http://congress-infection.ru/_pictures/2018/tezis_ib-2018_blok.pdf)
17. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Пробиотические лектины для профилактики и терапии детских инфекционных болезней. Журнал инфектологии. 2018; Приложение 1. Т. 10 (№ 4): 94.
18. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Консорциумные и штаммовые пробиотические лектиновые системы мукозального иммунитета против мукозальных инфекций и опухолей: потенциал влияния на микробиоценозы посредством про/синбиотиков. Проблемы научной мысли. 2018; V. 7 (№ 12): 25–44.
19. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Пробиотические лектины для инноваций. News of Science and Education. 2018; V. 3 (№ 10): 117–29.
20. Лахтин М.В., Лахтин В.М. Пробиотические лектиновые системы – перспективы био-контроля здоровья мукозальных органов. Успехи медицинской микологии. 2019; 20: 24–9.
21. Лахтин М.В., Лахтин В.М. Антигрибковая лектиновая базисная суперсистема человека. Успехи медицинской микологии. 2019; 20: 30–5.

УДК: 615.618.15008.8;576856

**АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ МИКРОБИОТЫ  
ВЛАГАЛИЩА К ГЕЛЕВОЙ И ЖИДКОЙ ФОРМЕ  
ПОЛИВАЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ**

**Полищук И. С., Алешукина И. С., Алешукина А. В., Твердохлебова Т. И.**

*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В статье приведены данные о нарушении микробиоты влагалища (V) у 53 женщин. Проведена оценка чувствительности выделенных микроорганизмов к бактериофагам. Для исследования были использованы поливалентные бактериофаги: «Секстафаг», «Пиобактериофаг», «Интестибактериофаг» и гель «Фагогин». В результате обследования было выявлено нарушения микрофлоры V у 100% обследованных. Изучение фагочувствительности показало, что микробиота V более чувствительна к гелевой форме бактериофага 91%, нежели к жидкой форме 47%.

# SENSITIVITY ANALYSIS OF MICROORGANISMS OF THE VAGINAL MICROBIOTA TO THE GEL AND LIQUID FORM OF POLYVALENT BACTERIOPHAGES

Polishchuk I. S., Aleshukina I. S., Aleshukina A. V., Tverdokhlebova T. I.

*Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rospotrebnadzor,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The article presents data on violations of vaginal microbiota (V) in 53 women. The sensitivity of isolated microorganisms to bacteriophages was evaluated. For the study, polyvalent bacteriophages «Sextaphage», «Piobacteriophage», «Intestisbacteriophage» and «Phagogin» gel were used. Violations of microflora V were found in 100% of the women examined. The study of phage sensitivity showed that 91% of microorganisms were sensitive to a gel form of bacteriophage, while the sensitivity to liquid bacteriophage has been found in 47% of microorganisms.

**Введение.** В связи с ростом обнаружения антибиотикорезистентных культур, для лечения инфекционных заболеваний все чаще рекомендуют использовать антибактериальную активность бактериофагов. Бактериофаги – вирусы бактерий – основное действующее вещество антибактериальных препаратов, не дают побочных эффектов по сравнению с антибиотиками и действуют специфично на микроорганизмы, не нанося вреда нормальной микрофлоре. Бактериофаги существуют в разных фармацевтических формах: жидкой, гелевой и таблетированной. Решение вопроса о применении фага для лечения бактериальной инфекции должно базироваться на результатах тестирования активности препарата в лаборатории.

**Методы.** Было обследовано 50 женщин, обратившихся в лабораторию амбулаторно с целью получения бактериологического исследования вагинальной микробиоты. В качестве материала использовали мазки из отделяемого V. Бактериологические исследования проводились в соответствии с общепринятыми рекомендациями. Все пробы исследовались методом источающего штриха на плотные питательные среды: Сабуро, желточно-солевой агар, кровяной агар, среда Эндо (ФБУН ГНЦ ПМ и г. Оболensk) и среда UriSelect 4 (Биомэрье). Для идентификации видов бактерий методом MALDI-TOF MS использовали настольный масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Germany). Подготовку к исследованию чистых культур штаммов и проведение анализа осуществляли по инструкции к прибору. Уровень идентификации бактерий трактовали по критериям, указанным в инструкции: 2.300–3.000 высокая вероятность идентификации вида; 2.000–2.299 надежная идентификация рода, вероятная идентификация вида; 1,700–1.999 вероятная идентификация рода; 0.00–1.699 ненадежная идентификация.

Для определения фагочувствительности использовали агар Мюллер-Хинтон. В качестве тестируемых препаратов применяли поливалентную жидкую и гелевую формы бактериофагов.

Для определения чувствительности к жидкой форме использовали стандартную методику в соответствии с федеральными клиническими методическими рекомендациями (2014 г.). Для гелевой формы бактериофага была разработана модифицированная методика, по которой бактериофаг наносили отпечатком на культуру посредством бактериологической петли  $d=0,5$  см загнутой под углом  $90^\circ$ .

Оценка литической активности фага проводилась по пятибалльной шкале (по количеству «крестов»):

«-» отсутствие литической активности;

«+» низкая активность;

«++» образование зоны лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерии;

«+++» зона лизиса с единичными колониями вторичного роста;

«++++» прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста.

При назначении бактериофага допускается использование препарата, обладающего литической активностью не менее «++++».

**Результаты и обсуждение.** Частота выявления бактериального вагиноза среди обследованного контингента была высока. Так за отведенный период нами было выявлено 45 случаев бактериального вагиноза, что составило 90% от общего числа обследованных, в 10% случаев отмечали нормобиоз влагалища. Чаще всего у обследованных женщин встречался ассоциативный вагиноз – 41 случай (75%), монокомпонентный вагиноз встречался в 4 случаях (15%). В микробиоте V наиболее часто присутствовала кишечная микрофлора: в частности, *E. coli* 16 (39%), *Enterococcus faecalis* 20 (49%) и группа гемолитических стафилококков 5 (12%). Грибы р. *Candida* были обнаружены у 10 женщин (24%). Чувствительность к бактериофагам была определена у 45 женщин с нарушением микробиоты V. При этом чувствительность к жидкой форме бактериофага на «++++» была обнаружена у 6 пациенток (13%).

К гелевой форме чувствительность на «++++» была определена у 39 пациенток (87%), случаи совпадения по чувствительности у обоих бактериофагов не наблюдалось.

Бактериальный вагиноз встречался у 90% обследованных женщин, и в основном был вызван наличием кишечной группы бактерий: *E. coli*, *E. faecalis* и группы гемолитических стафилококков. Нормобиоз наблюдали у 10% обследуемых пациентов.

**Заключение.** Параллельное исследование чувствительности микрофлоры к жидкой и гелевой формам при бактериальном вагинозе показало, что в 87% микроорганизмы были чувствительны к гелевой форме, в то время как чувствительность к жидким бактериофагам была обнаружена у 13% бактерий микробиоты V. Предложенная модификация исследования активности бактериофагов на гелевой основе позволяет дозировать бактериофаги в данной фармацевтической форме и получать сопоставимые результаты с классической методикой.

#### Литература:

1. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические методические рекомендации. – М., 2014. – 39 с.

УДК: 615.612.31:616.9-08

### **АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ РОТОГЛОТКИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ**

**Полищук И. С., Алешукина И. С., Алешукина А. В., Твердохлебова Т. И.**

*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В статье приведены данные о нарушении микробиома ротоглотки у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Анализ видового разнообразия микробиоты ротоглотки среди диспансерных больных, состоящих под наблюдением Южного окружного центра Роспотребнадзора по профилактике и борьбе со СПИДом (ЮОЦПБ со СПИДом) показал, что наиболее часто в ротоглотке встречаются ассоциации бактерий. Была определена высокая частота выявления *Streptococcus spp.* в достоверно превышающих качественно-количественные показатели нормобиоты биотопа, что может быть использовано в качестве маркера ВИЧ-инфекции.

### **OROPHARYNX MICROBIOTA ANALYSIS OF HIV-PATIENTS**

**Polishchuk I. S., Aleshukina I. S., Aleshukina A. V., Tverdokhlebova T. I.**

*Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The article presents data on the violation of the oropharyngeal microbiome in HIV-patients. An analysis of the species diversity of the oropharyngeal microbiota among dispensary AIDS patients of the South district AIDS prevention and control center revealed that associations of bacteria are most common in the oropharynx, and a high frequency of detecting *Streptococcus spp.* was also determined significantly exceeding the qualitative and quantitative indicators of the biotope normnobiota, which can be used as a marker of HIV-infection.



**Введение.** Развитие ВИЧ-инфекции обусловлено инфицированием организма вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). ВИЧ относят к семейству ретровирусов (*Retroviridae*), подсемейству медленных вирусов (*Lentivirus*), выделяют два серотипа: ВИЧ-1 (доминирующий) и ВИЧ-2 [1]. Для ВИЧ-инфекции характерно развитие так называемых оппортунистических заболеваний. Оппортунистическая инфекция вызвана условно-патогенной микрофлорой, которая не представляет угрозы для лиц с нормально функционирующей иммунной системой, однако, вызывает тяжелые поражения в условиях иммунодефицита [2]. На фоне иммунологической недостаточности распространенность воспалительной патологии ЛОР-органов значительно возрастает – банальные заболевания (синуситы, отиты и др.) имеют рецидивирующий характер течения, склонность к хронизации. Чаще чем в популяции у лиц с иммунодефицитом регистрируются новообразования, причем ряд из них связан с неконтролируемой лимфопролиферативной реакцией (лимфомы) [3].

**Материалы и методы.** Было обследовано 47 взрослых пациентов, состоящих на учете в ЮОЦПБ со СПИДом. Исследование микробиоты ротоглотки проводили методом дозированного посева с использованием дифференциально-диагностических сред (кровяной агар, среды Сабуро, Эндо, ЖСА (Оболенск), UriSelect-4 (БИО-RAD) в соответствии с общепринятыми указаниями. Было выделено 113 культур. Идентификация условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) производилась на базе MS Microflex Biotype MALDI-TOF (Bruker Германия). Подготовку к исследованию чистых культур штаммов и проведение анализа осуществляли по инструкции к прибору. Уровень идентификации бактерий трактовали по критериям, указанным в инструкции: 2.300–3.000 высокая вероятность идентификации вида; 2.000–2.299 надежная идентификация рода, вероятная идентификация вида; 1,700–1.999 вероятная идентификация рода; 0.00–1.699 ненадежная идентификация.

**Результаты и обсуждение.** Обнаружено, что в ротоглотке у ВИЧ-инфицированных лиц чаще всего встречаются ассоциации бактерий (49%). 3-х компонентные ассоциации составляют 28% (13 больных), 4-х и более компонентные – 21% (10 пациентов). В 23% случаев (11 пациентов) ассоциация состояла из 2-х микроорганизмов, а в 6-ти случаях (13%) микробиота была представлена монокультурой. У 7 пациентов (15%) рост микрофлоры в ротоглотке отсутствовал. Было определено, что доминирующими УПМ в биотопе были *Staphylococcus aureus* (50%), *Streptococcus salivarius* (12,5%), *Enterococcus faecalis* (12,5%), *Candida albicans* (12,5%). В микробиоте ротоглотки представленной двумя или более культурами, часто встречались *Staphylococcus sp.* (21%), *Neisseria sp.* (12%), *Streptococcus sp.* (46%), *Corinebacterium sp.* (14%), *Candida sp.* (7%). *Staphylococcus sp.* из ассоциаций 2 и более культур был представлен двумя видами: *S. aureus* – 4 (9%) и гемолизирующий *S. epidermidis* – 5 (12%). *Streptococcus sp.* в ассоциациях был представлен: *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. viridans*, *S. oralis*, *S. perori*, *S. pneumonia*, *S. anginosus*.

При этом доминировали бета-гемолитические стрептококки группы А – 14 случаев (30%), альфа-гемолитические стрептококки – 7 случаев (16%). Обнаружены редко встречающиеся в микробиоме ротоглотки *Ervinia sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Aeromonas sp.*, *Agromyces sp.* в диагностически незначимом количестве.

**Заключение.** Анализ видового разнообразия микробиоты ротоглотки среди диспансерных больных ЮОЦПБ со СПИДом выявил высокую частоту выявления *Streptococcus sp.*, достоверно превышающую качественно-количественные показатели нормобиоты биотопа, что может быть использовано в качестве маркера ВИЧ-инфекции.

#### Литература:

1. Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции: руководство для врачей / под ред. М.Л. Доценко, И.А. Карпова. – Минск: Тесей, 2008. – 346 с.
2. Бартлетт, Д. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции / Д. Бартлетт, Д. Галант. – Балтимор: «Издательская бизнес-группа Джонса Хопкинса», 2006. – 455 с.
3. Бессараб, Т.П. Аспекты ВИЧ-инфекции и СПИДа в оториноларингологии // Вестник Оториноларингологии. – 2004. – № 1. – С. 15–23.

**МИКРОФЛОРА ПОРАЖЁННОЙ КОЖИ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ  
ДЕРМАТИТОМ С СЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ К КОНСЕРВАТИВНЫМ ЭПИТОПАМ  
СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А (SEA)**

**Тюрин<sup>1,2</sup> Ю. А., Исаева<sup>1,2</sup> Г. Ш., Григорьева<sup>1</sup> Т. В., Ризванов<sup>3</sup> А. А.**

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»,  
Роспотребнадзора, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России

<sup>3</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)  
Федеральный университет» Минобразования России

**Аннотация.** В исследовании на современном уровне изучено состояние микрофлоры маркёрных участков кожи у больных atopическим дерматитом и контрольной группы здоровых лиц сопоставимых по возрасту и полу. Применены классические методы бактериологического исследования видового состава поражённой кожи и идентификации таксонов на основе масс-спектрометрического метода MALDI-TOF. Установлено, что в составе микробного сообщества кожи у пациентов с atopическим дерматитом выявлены представители отделов: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*. Сенсibilизация к консервативным эпитопам SEA формируется постепенно и нарастает с возрастом. При анализе гомологичности структуры эпитопов SEA, установлено, что изученные консервативные эпитопы высоко гомологичны (67–100%) структуре эпитопов некоторых алергокомпонентов из микроклепей домашней пыли, алергенов плесневых грибов (Pen o, Alt a1), некоторым энтеротоксинам SED, SEC, что может обуславливать формирование перекрестной и сочетанной сенсibilизации при atopическом дерматите.

**MICROFLORA OF DAMAGED SKIN IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS  
WITH SENSITIZATION TO CONSERVATIVE EPITOPES OF ENTEROTOXIN A (SEA)**

**Tyurin<sup>1,2</sup> Yu. A., Isaeva<sup>1,2</sup> G. Sh., Grigorieva<sup>1</sup> T. V., Rizvanov<sup>3</sup> A. A.**

<sup>1</sup>Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Russia

<sup>2</sup>Kazan State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

<sup>3</sup>Institute of Fundamental Medicine and Biology of Kazan (Privolzhsky) Federal University  
Ministry of Education of the Russian Federation

**Abstract.** The study examined the microflora state of the marker skin areas in patients with atopic dermatitis and the control group of healthy individuals matched by age and sex. The classical methods of bacteriological research of the species composition of the affected skin and the identification of taxons based on the MALDI-TOF mass-spectrometric method are used. In the composition of the microbial community of the skin in patients with atopic dermatitis, taxa were identified: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*. Sensitization to conservative epitopes of enterotoxin A is formed gradually and increases with age. When analyzing the homology of the structure of epitopes SEA, it was found that the studied conservative epitopes are highly homologous (67–100%) to the structure of the epitopes of some allergenic components from household dust mite allergy, mold fungi allergens (Pen o, Alt a1), enterotoxins (SED, SEC), which may cause the formation of cross- and combined sensitization with atopic dermatitis.

**Введение.** Атопический дерматит (АтД) – хроническое воспалительное заболевание кожи, которое развивается в раннем детском возрасте, реже рецидивирует у взрослых и негативно отражается на качестве жизни пациентов [1, 2].

Видовой и количественный состав микрофлоры кожи меняется со временем и зависит от локализации, возраста пациента и стадии процесса (обострение или ремиссия) [3]. В большинстве случаев в норме на коже преобладают грамположительные бактерии. Типичными обитателями кожи являются таксоны *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. hominis*), *Micrococcus*, *Brevibacrium*, *Corynebacterium* (составляющие до 70% всей кожной

микробиоты), *Acinetobacter*, *Propionibacterium* [4]. Некоторые виды разрушают выделения сальных желез, образуя липазы, и являются липофильными.

**Цель** исследования: изучение культивируемой микрофлоры поражённой кожи у больных с АтД в зависимости от формы заболевания и сенсибилизации к бактериальному токсину стафилококковой микрофлоры энтеротоксину А (SEA) у этой категории больных.

**Материалы и методы.** Бактериологическими методами изучен бактериоценоз кожи 60 пациентов с АтД в возрасте от 1 года до 35 лет. Все пациенты по современной классификации разделены на подгруппы. В серологическом исследовании участвовало 113 пациентов с различными формами и тяжестью АтД в возрасте от полугода до 36 лет. Контрольная группа состояла из 110 человек здоровых добровольцев, без аллергической патологии в возрасте от 3 лет до 39 лет. Все обследуемые лица давали письменное информированное добровольное согласие.

Бактериологическое исследование кожи проводилось по росту колоний и их количества на питательных средах (мясопептонный агар с маннитом и индикатором, 5% кровяной агар, среда Эндо, ЖСА, среда Сабуро). Идентификацию выросших колоний осуществляли программно-аппаратным комплексом MALDI Biotyper.

Консервативные аминокислотные последовательности SEA определяли методом множественного выравнивания (multiple sequence alignment) используя последовательности 11 форм SEA *S. aureus* (аннотированных в базе данных NCBI и одной аминокислотной последовательности дикого изолята, выделенного с кожи пациента с АтД) с помощью ресурса Uniprot.org/align/A201812246746803381A1F0E0DB47453E021632 (Clustal O 1.2.4).

Поиск линейных В-клеточных эпитопов в консервативных участках энтеротоксина SEA осуществлён с применением алгоритма tools.iedb.org/bcell при значении average: 0.513-0.530.

Профиль генов энтеротоксинов исследован в образцах ДНК, выделенной из 128 изолятов *S. aureus* от больных АтД и 95 штаммов от здоровых бактерионосителей.

Определение сенсибилизации к консервативным эпитопом SEA определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Синтез, очистка (95–98%) полученных пептидов (линейных эпитопов) осуществлён компанией EZBiolab (США).

Статистический анализ: методы параметрической статистики.

**Результаты и обсуждение.** В составе микробного сообщества кожи у пациентов с АтД выявлены представители отделов: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*. В микробном сообществе кожи больных с АтД преобладали представители стафилококков: *S. aureus*, *S. epidermidis*. Частота встречаемости составляла  $68.8 \pm 6.7\%$  и  $34.0 \pm 7.6\%$  соответственно. Также высокая частота встречаемости была у *Candida albicans* –  $24.2 \pm 5.5\%$ , *Malassezia globosa* –  $14.0 \pm 7.8\%$ , *Cryptococcus satoii* –  $12.0 \pm 2.2\%$ .

В зависимости от возрастной группы пациентов с АтД, на маркёрных участках кожи (лицо, верхние конечности) преобладали следующие таксоны:

- у детей до 3-х летнего возраста (младенческая форма заболевания) – *S. aureus* –  $73 \pm 3.0\%$ , *S. epidermidis* –  $12 \pm 1.5\%$ , *S. hominis* –  $6 \pm 0.5\%$ , *Candida albicans* –  $14.2 \pm 1.5\%$ ; в сравнении с здоровыми детьми – *S. aureus* –  $4 \pm 0.5\%$ , *S. epidermidis* –  $16 \pm 1.7\%$ , *S. hominis* –  $76 \pm 3.5\%$ , *Candida albicans* –  $4.2 \pm 5.5\%$ .

- у детей старше 3 лет до 13 лет (детская форма заболевания) – *S. aureus* –  $48\%$ , *S. epidermidis* –  $20.0 \pm 2.5\%$ , *Candida albicans* –  $19.0 \pm 1.5\%$ , *Cryptococcus satoii* –  $10.0 \pm 2.2\%$ ; в сравнении с здоровыми – *S. aureus* –  $2 \pm 0.5\%$ , *S. epidermidis* –  $66 \pm 3.5\%$ , *S. hominis* –  $46 \pm 2.5\%$ , *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* –  $30.0 \pm 1.5\%$ , *Corynebacterium propinquum* –  $32.0 \pm 1.5\%$ .

- у подростков от 14 лет до 19 лет (подростковая форма заболевания) – *S. aureus* –  $58 \pm 2.5\%$ , *S. epidermidis* –  $6.0 \pm 1.0\%$ , *Candida albicans* –  $23.0 \pm 2.5\%$ , *Malassezia globosa* –  $12.0 \pm 3.5\%$ , *Malassezia caprae* –  $11.5 \pm 2.5\%$ , *Cryptococcus satoii* –  $9.0 \pm 2.2\%$ .

При анализе профиля генов энтеротоксинов у изолятов *S. aureus*, выделенных с поражённой кожи пациентов с АтД, в 19 (14.8%) штаммах выявили ген *sea*, а из 100 изолятов *S. aureus*, выделенных с кожи здоровых, только в 3 (3.0%) изолятах.

При анализе сенсибилизации к SEA определены три эпитопа: epitop-1 с 82 по 94 аминокислотных остатка, epitop-2 с 21 по 32 а.о. и epitop-3 с 238 по 253 а.о. к которым определяли специфические анти-IgE. Низкий уровень эпитоп-специфичных IgE характерен для младенческой формы заболевания (дети до 3-х лет), затем он нарастает с возрастом до среднестатистического уровня (таблица). К эпитопу-1 SEA максимальный уровень IgE формируется у подростков и взрослых лиц с АтД, к эпитопу-2 уровень сенсибилизации достигает максимума у детей в возрасте от 4–13 лет (детская форма) и сохраняется в подростковом периоде и у взрослых. К эпитопу-3 максимальный уровень антител выявляется у детей в возрасте от 4 до 13 лет, затем титр снижается у подростков и возрастает у взрослых больных.

**Таблица.** Уровень sIgE к эпитопам SEA в сыворотке крови больных атопическим дерматитом

Форма АтД	Серонегативные к эпитопам SEA %, Абс. ч.	Концентрации sIgE к эпитопам SEA, M±Std Error, ME/мл		
		Epitop-1	Epitop-2	Epitop-3
Младенческая (n=34)	52.9/18	0.8±0.08	0.53±0.03	0.58±0.19
Детская (n=50)	18.0/9	3.6±0.8	2.8±0.6	4.39±0.8
Подростковая (n=18)	16.6/3	5.7±0.8	2.1±0.7	1.8±0.6
Взрослая (n=11)	9.0/1	6.4±0.7	3.7±0.6	3.1±0.7

**Примечание:** epitop-1: 82TNHSWYNDLLVDF94; epitop-2: 21LRKKSELOGAAL32; epitop-3: 238RDNKTINSENMHIDIY253; уровень сенсибилизации: <0.35 ME/мл – клинически не значимая, 0.36–0.5 ME/мл – очень низкий уровень (незначимый), 0.51–1.0 ME/мл – низкий уровень, 1.1–5.0 ME/мл – средний уровень, 5.1–25.0 ME/мл – высокий уровень, >25.0 ME/мл – очень высокий.

Анализ гомологичности структуры эпитопов SEA к значимым эпитопам некоторых аллергенов, показал, что epitop-3 гомологичен структуре аллергокомпонентов микроклещей (Der p 24, Der f 24), эпитопы 1 и 2 гомологичны эпитопам аллергокомпонентов плесневых грибов (Alt a1, Alt a5, Pen o), энтеротоксинам D, C, аллергокомпонентам сои (Gly m), бытовым аллергенам, содержащимся клещах домашней пыли (Der f 21).

**Заключение и выводы.** Таким образом, при формировании атопии и развитии атопического дерматита качественный и количественный состав микрофлоры поражённой и непоражённой кожи изменяется. В микробном сообществе кожи больных с АтД преобладают представители стафилококков – *S. aureus* и *S. epidermidis*. У больных АтД поражённая кожа колонизируется преимущественно энтеротоксигенными штаммами *S. aureus*, что формирует с возрастом сенсибилизацию к энтеротоксинам.

Анализ гомологичности структуры консервативных эпитопов SEA, установил, что эпитопы SEA высоко гомологичны структуре эпитопов аллергокомпонентов микроклещей домашней пыли (Der p 24, Der f 24, Der f 21), плесневых грибов (Alt a 1, Alt a 5, Pen o), энтеротоксину D, C, аллергокомпонентам сои (Gly m), что может обуславливать формирование перекрёстной и сочетанной сенсибилизации между бактериальными энтеротоксинами и аллергокомпонентами из других источников и способствовать при атопическом дерматите хронизации воспаления в дерме и развитию более тяжёлых форм заболевания.

### Литература:

1. David Boothe W., Tarbox J. A., Tarbox M. B. Atopic dermatitis: pathophysiology. *Adv Exp Med Biol.* 2017; 1027: 21–37. DOI: 10.1007/978-3-319-64804-0\_3.
2. Williamson S, Merritt J, De Benedetto A. Atopic Dermatitis in the Elderly: A review of clinical and pathophysiology hallmarks. *Br. J. Dermatol.* 2019 Mar 21. DOI: 10.1111/bjd.17896.
3. Репецкая М.Н., Маслов Ю.Н., Шайдуллина Е.В., Бурдина О.М. Микробиоценоз кожи и слизистых при атопическом дерматите у детей. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2014; № 6: 112–116.
4. Аравийская Е.Р., Соколовский Е.В. Микробиом: новая эра в изучении здоровой и патологически измененной кожи. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2016; № 3: 102–109.

УДК: 579.61:582.28:616.596-002.828

### **МИКОБИОТА НОГТЕВЫХ ПЛАСТИН У ПАЦИЕНТОВ С ОНИХОМИКОЗОМ КИСТЕЙ, ДЛИТЕЛЬНО ПРИМЕНЯВШИХ СТОЙКИЕ МАНИКЮРНЫЕ ПОКРЫТИЯ**

**Халдеева<sup>1</sup> Е. В., Глушко<sup>1</sup> Н. И., Лисовская<sup>1,2</sup> С. А., Хисматулина<sup>2</sup> И. М., Хайдарова<sup>1</sup> Г. Г.**

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»  
Роспотребнадзора, Казань, Россия

<sup>2</sup>Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

**Аннотация.** Проведено изучение состава грибковой микробиоты ногтевых пластин у пациентов с онихомикозом кистей, длительное время применявших стойкие маникюрные покрытия. Установлено преобладание в составе выявленной грибковой микробиоты *Candida albicans* (76,1%), *Trichophyton rubrum* (36,5%), *Aspergillus niger* (29,9%), *Candida parapsilosis* (18%). Отмечена более высокая вероятность выявления ассоциаций нескольких видов грибов (70,1%) у пациентов исследуемой группы, чем у пациентов контрольной группы (33,3%). Выявлено большее (по сравнению с контрольной группой) видовое разнообразие грибковой микробиоты исследуемой группы. Показано, что в исследуемой группе в составе ассоциаций отмечается большее количество видов грибов (от 2 до 6), чем в контрольной (от 2 до 4).

### **MYCOBIOTA OF NAIL PLATES IN PATIENTS WITH ONYCHOMYCOSIS OF HANDS,**

### **AFTER LONG-TIME APPLYING STABLE MANICURE COATINGS**

**Khaldeeva<sup>1</sup> E. V., Glushko<sup>1</sup> N. I., Lisovskaya<sup>1,2</sup> S. A., Khismatulina<sup>2</sup> I. M., Khaidarova<sup>1</sup> G. G.**

<sup>1</sup>Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Kazan, Russia

<sup>2</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia

**Abstract.** The study of the composition of the fungal microbiota of the nail plates in patients with onychomycosis of the hands, for a long time using resistant nail coverings was carried out. The prevalence of *Candida albicans* (76.1%), *Trichophyton rubrum* (36.5%), *Aspergillus niger* (29.9%), *Candida parapsilosis* (18%) was found to be predominant in the composition. There was established a higher probability of identifying associations of several species of fungi (70.1%) in patients of the study group than in patients of the control group (33.3%). A greater (compared with the control group) species diversity of the fungal microbiota of the studied group was revealed. It was shown that in the studied group, in the composition of associations, a greater number of species of fungi are noted (from 2 to 6) than in the control group (from 2 to 4).

**Введение.** Онихомикозы – грибковые заболевания ногтей – являются наиболее широко известным и распространенным проявлением грибковых инфекций. По данным исследований, онихомикозами страдают от 10 до 20% людей [1]. Наряду с онихомикозом

стоп, в последние годы отмечается рост числа случаев онихомикозов кистей. Одной из причин этого является широкое распространение современных маникюрных технологий.

Главной тенденцией последних лет стало применение стойких маникюрных покрытий на основе гелей или акрила, обладающих значительно большей долговечностью и обеспечивающий ногтям ухоженный вид. В то же время, стойкий перманентный маникюр способен спровоцировать возникновение некоторых проблем: отслоение, истончение и ломкость ногтевой пластины, образование пустот. Длительное время это связывали с воздействием на ногти химических соединений, используемых при нанесении и снятии покрытия. Однако возможной причиной этого является грибковое поражение ногтя, поскольку слой акрила создает благоприятные условия для размножения микроорганизмов, а процедура шлифовки приводит к появлению микротрещин, в которые могут попадать возбудители онихомикоза. Распространению инфекции могут способствовать как инструменты, так и сами используемые покрытия.

Возбудителями онихомикозов кистей могут являться дерматомицеты, дрожжеподобные и плесневые грибы. Однако в последнее время все чаще выявляются микозы смешанной этиологии, отличающиеся присутствием нескольких видов грибов. Ранее было отмечено, что у лиц, применявших стойкие маникюрные покрытия, частота выявления ассоциаций нескольких видов грибов в выше, чем у пациентов, никогда их не использовавших [2]. В связи с этим, представляло интерес продолжить исследования и оценить спектр возбудителей онихомикозов кистей в г. Казани.

**Цель работы:** изучить состав грибковой микробиоты у пациентов с онихомикозами кистей, длительное время применявших стойкие маникюрные покрытия.

**Материалы и методы.** Проведено культуральное исследование биоматериала (ногтевой пудры, подногтевого содержимого, мазков со среза ногтевой пластины) у 173 женщин в возрасте от 18 до 60 лет (медиана 38 лет), длительное время (не менее года) применявших стойкие маникюрные покрытия и имевших выраженные патологические изменения ногтевых пластин. В большинстве случаев отмечалась дистальная или дистально-латеральная форма, с вовлечением в процесс 1/3 ногтевой пластины (31,8%) или 2/3 пластины (35,3%), реже – ониходистрофии и онихолизис. В 76,3% случаев отмечалось поражение более 2 ногтевых пластин, в 12,7% случаев – поражение 1 ногтевой пластины. Критериями отбора служили первичность обращения по поводу онихомикоза кистей и отсутствие онихомикоза стоп.

Контрольную группу составили 30 пациентов, ранее не применявшие стойкие маникюрные покрытия, имевшие сходный тип поражения ногтевых пластин кистей.

Перед отбором биоматериала исключали применение противогрибковых средств не менее чем за 14 суток; лаков, жидкостей для снятия лака, кремов, косметических и антисептических средств не менее чем за 2 суток.

Для проведения культурального исследования использовали агар Сабуро с добавлением антибиотика для подавления роста бактериальной флоры. Инкубацию проводили в течение 7–14 дней при 30°C. Проводили морфологическую и биохимическую идентификацию.

**Результаты и обсуждение.** В ходе проведенных исследований у 167 пациентов (96,5%) выявлено присутствие грибковой микробиоты. Среди выделенных видов грибов преобладал вид *Candida albicans* – 127 случаев (76,1%), в том числе, в 35 случаях (21%) в качестве единственного возбудителя. Присутствие *Candida parapsilosis* выявлено в 30 (18%), в т. ч. в 2 случаях в качестве единственного возбудителя, а *Rhodotorula mucilaginosa* – в 23 (13,8%) случаях. Прочие виды дрожжеподобных грибов *Candida tropicalis* (2 случая), *C. krusei* и *C. saitoana* (по 1 случаю)) отмечали в ассоциациях с дерматомицетами или другими видами дрожжеподобных грибов.

Присутствие *Trichophyton rubrum* отмечено в 61 (36,5%) случаях, в том числе, в двух случаях в качестве единственного возбудителя, в 37 случаях (22,2%) совместно с *C. albicans*, в 9 случаях (5,4%) – в ассоциации с *C. albicans* и *C. parapsilosis* или *Rh. mucilaginosa*.

В 2 случаях выявлено присутствие *Trichophyton mentagrophytes*, в одном – *Trichophyton tonsurans*, совместно с дрожжеподобными и плесневыми грибами. На третье место по частоте встречаемости вышел *Aspergillus niger* (29,9%), однако в качестве единственного возбудителя он был отмечен лишь в трех случаях, причем на фоне применения не только стойких покрытий, но и наращивания ногтей. Также выявлены в 10,2% случаев *Penicillium* spp., в 9% – *Rhizopus stolonifer*, в 3,6% – *Alternaria* spp., в 3% – *Fusarium* spp. в ассоциациях с дерматомицетом или дрожжеподобными грибами.

Анализ полученных результатов показал, что присутствие в посевах единственного вида гриба отмечено в 50 случаях (29,9%). В 117 случаях (70,1%) выявлено присутствие грибковых ассоциаций, что может указывать как на полиэтиологичность заболевания, так и на возможность вторичной контаминации уже пораженного участка ногтя. К первому типу, по-видимому, можно отнести ассоциации *T. rubrum* с дрожжеподобными грибами и нескольких видов дрожжеподобных грибов друг с другом. Ко второму – ассоциации *T. rubrum* либо *C. albicans* с несколькими видами плесневых грибов.

В то же время, следует отметить, что частота встречаемости ассоциаций в анализах исследуемой группы (70,1%) значительно превышала аналогичные показатели контрольной группы (33,3%). При этом в контрольной группе *C. albicans* выявлена в 80% случаев (в 40% – в качестве единственного возбудителя), *T. rubrum* – в 33,3% случаев (как единственный возбудитель – в 3 случаях (10%)). Грибковые ассоциации в контрольной группе представлены *T. rubrum* и дрожжеподобными грибами (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *Rh. mucilaginosa*) либо *C. albicans* и плесневыми грибами (*A. niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium* spp.).

Сопоставление результатов показало, что в исследуемой группе в ассоциациях отмечается большее количество видов грибов (от 2 до 6), чем в контрольной (от 2 до 4). Частота выявления ассоциаций для исследуемой и контрольной групп составила: двух видов грибов 40,2% и 20%; трех – 23,3% и 10%; четырех – 4,2% и 3,3% соответственно. Ассоциации пяти видов грибов выявлены у пяти (3%) пациентов исследуемой группы. При этом зависимости между выявлением грибковых ассоциаций и возрастом пациента не наблюдалось.

**Заключение.** Возникновение патологических изменений ногтевых пластин кистей на фоне применения стойких маникюрных покрытий, с большой долей вероятности может быть обусловлено грибковой инфекцией. Большое видовое разнообразие микобиоты у лиц, длительно применяющих стойкие маникюрные покрытия, в сравнении с контрольной группой, что может быть обусловлено как одновременным заражением несколькими видами, источником которого могут служить используемые при маникюре инструменты и материалы, так и присоединением вторичной грибковой инфекции. Это требует более тщательного подхода к анализу состояния ногтей перед нанесением покрытий, контроля состояния применяемых материалов для исключения вероятности заражения и соблюдения рекомендаций по уходу за ногтями.

#### Литература:

1. Соколова Т.В., Мальярчук А.П., Мальярчук Т.А. Клинико-эпидемиологический мониторинг поверхностных микозов в России и совершенствование терапии // Клини. дерм. и венерология. 2011. № 4. С. 27–31.
2. Особенности микробиоты ногтевых пластин у лиц, применявших стойкие маникюрные покрытия / Халдеева Е.В. [и др.] // Успехи мед. микологии. М.: Нац.акад.микол, 2018. Т. 18. С. 317–319.

**РАЗДЕЛ 6. НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА  
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ  
ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

УДК: 615.371

**ПРАКТИКА ВАЛИДАЦИИ СИСТЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДЫ ОЧИЩЕННОЙ  
В ПРОИЗВОДСТВЕ ХОЛЕРНОЙ ВАКЦИНЫ**

**Антонычева М. В., Холматов К. И., Лобовикова О. А., Белоусов А. Д.,  
Чалбушев М. М., Волох О. А.**

*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора, Саратов, Россия*

**Аннотация.** Процедура валидации является обязательным требованием при производстве лекарственных средств и проводится для определения критических точек в работе оборудования и технологических процессов. Предприятие должно определять индивидуальную методику проведения валидации после анализа рисков, исходя из специфики производства, при этом валидационный мастер-план должен корректироваться по результатам контроля изменений на действующем производстве. Приведены результаты валидации водоподготовки в производстве холерной вакцины на участке приготовления питательных сред. Водоподготовка для фармацевтической промышленности играет важную роль в выпуске качественного продукта и воспроизведения должных процессов очистки.

**Ключевые слова:** валидация, вода очищенная, система водоподготовки, анализ риска, вакцина.

**VALIDATION OF WATER PURIFICATION SYSTEM IN THE PRODUCTION  
OF CHOLERA VACCINE**

**Antonycheva M. V., Kholmatorov K. I., Lobovikova O. A., Belousov A. D.,  
Chalbushev M. M., Volokh O. A.**

*FGHI «Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia*

**Abstract.** The validation procedure is a mandatory requirement in the production of medicines and is carried out to determine the critical points in the operation of equipment and processes. The company must determine its individual method of validation after the risk analysis, based on the specifics of the production, while the validation master-plan should be adjusted according to the results of control over changes in the existing production. The results of water treatment validation are presented in the production of cholera vaccine on the site of preparation of nutrient media. Water treatment for the pharmaceutical industry plays an important role in the production of a quality product and the reproduction of proper cleaning processes.

**Key words:** validation, purified water, water treatment system, risk analysis, vaccine.

**Введение.** Правила надлежащей производственной практики подразумевают проведение валидации критических этапов производства лекарственных иммунобиологических препаратов [1, 2].

Очищенная вода является одним из ключевых элементов для обеспечения качества фармацевтической продукции и используется на различных этапах производства, в том числе для приготовления питательных сред и обработки лабораторной посуды. В Российской Федерации требования к качеству очищенной воды сформулированы в Государственной Фармакопее XIV издания, в которой представлены также методы контроля [3].

Очищенную воду получают из питьевой воды [4] методами дистилляции, ионного обмена, обратного осмоса, комбинацией этих методов или другим способом, и применяют для производства или изготовления лекарственных средств, получения воды для инъекций, а также для проведения испытаний лекарственных средств [3].



Проведение работ по валидации (квалификации) оборудования и процесса получения воды очищенной регламентировано в нормативных документах [1, 2, 5, 3]. Однако предприятие должно определять свою методику проведения валидации после анализа рисков, исходя из специфики производства, при этом валидационный мастер-план должен корректироваться по результатам контроля изменений на действующем производстве [6, 7, 8]. Уникальность системы водоподготовки на конкретном участке фармацевтического предприятия обусловлена комплексом факторов и зависит от необходимого количества и качества воды (физико-химических и микробиологических показателей) на выходе системы, от качества исходной воды, и от использованного оборудования для очистки воды. Эти факторы определили необходимость научно-исследовательской работы на этапах проектирования и валидации процесса.

В работе представлен опыт валидации установки по приготовлению воды очищенной на участке приготовления питательных сред в производстве вакцины холерной химической бивалентной [9, 10].

**Цель** валидации системы водоподготовки заключается в документальном подтверждении того, что оборудование подготовки, хранения и распределения воды функционирует как целостная система при эксплуатации в заданном рабочем режиме и постоянно обеспечивает объем и качество воды, необходимой для участка приготовления питательных сред в производстве холерной вакцины.

Работа по валидации системы водоподготовки проведена по общей методологической концепции в соответствии с требованиями Надлежащей производственной практики (GMP), и состояла из обязательных этапов: квалификация проекта (DQ – Design Qualification); квалификация монтажа (IQ – Installation Qualification); квалификация функционирования (OQ – Operational Qualification); квалификация эксплуатации (PQ – Performance Qualification) [2, 5]. Особенность валидации системы водоподготовки заключается в одновременном выполнении IQ и OQ этапов. Это вызвано тем, что после монтажа системы на месте необходимо сразу же начинать ее эксплуатацию из-за повышенного риска микробной контаминации [11].

При составлении валидационного мастер-плана были учтены основные риски, непосредственно связанные с водоподготовкой, которые были объединены в логические группы.

Риски на этапе проектирования обусловлены:

- полнотой охвата нормативной документации, в том числе строительные нормы и требования к материалам трубопровода и накопительных емкостей;
- качеством исходной воды;
- техническими характеристиками установки (производительность; доступность сертифицированных расходных материалов и т. д.);
- доступностью контрольных точек для отбора проб;
- необходимостью резерва воды очищенной, достаточного для непрерывной работы системы водоподготовки во время кратковременного ремонта или замены оборудования;
- возможностью санации системы и емкости-накопителя.

Для решения биотехнологической производственной задачи по получению воды очищенной, используемой для приготовления питательных сред реакторным способом, для мытья лабораторной посуды и оборудования в производстве вакцины холерной, необходимо было оценить качество исходной воды, потребности в воде (л/ч), сравнить способы её получения и провести анализ рисков.

Очистке подлежит водопроводная вода г. Саратова, которая соответствует действующим санитарным нормам [4]. Потребность в воде очищенной составляет – не менее 150 л/ч. Ранее для этих целей был использован дистиллятор паровой ПД-200. Использование дистиллированной воды считается оптимальным вариантом для приготовления питательных сред [12]. Метод дистилляции является старейшим методом получения воды очищенной, основанный на термическом переводе воды в паровую фазу с последующей конденсацией.

С точки зрения экономической целесообразности дистилляция является дорогостоящим методом получения очищенной воды. Из 19 л исходной питьевой воды получают 1 л очищенной [13].

На сегодняшний день актуальны более перспективные и экономичные методы приготовления очищенной воды. Например, комбинация методов обратного осмоса и ионного обмена. Установки на основе этих методов получили огромное развитие и являются энергетически выгодными и безопасными.

Явление осмоса – это переход через полупроницаемую мембрану растворителя из раствора с низкой концентрацией примесей в раствор с более высокой концентрацией. Центральная часть любой обратноосмотической установки – мембрана обратного осмоса. Как правило, мембрана представляет собой спирально свернутые слои из водопитающего слоя, полупроницаемой мембраны и водосборного слоя. Мембрана с диаметром пор 0,01 мкм полностью освобождает воду от растворимых солей, органических веществ, коллоидов и микробов [13].

Ионный обмен происходит на ионообменных колоннах. Конструктивно это колонна, наполненная смесью ионообменных смол. Фильтрат, собранный после обратного осмоса подается через колонку снизу вверх и просачивается через смесь катионита и анионита. Частицы ионообменных смол, попавшие в воду, отфильтровываются. Один килограмм смолы способен очистить не менее 1000 литров воды [13].

Устройства, основанные на сочетании этих способов, относительно просты, имеются в широком ассортименте, экономичности выгодны (из 10 литров исходной воды получают 7,5 литров воды очищенной) и энергоэффективны (затраты энергии идут только на работу насоса, что в 10–16 раз меньше, чем при очистке воды дистилляцией) [13].

Однако при проектировании системы водоподготовки с обратноосмотической мембраной необходимо учесть ряд технических особенностей: выбор мембраны необходимо делать на основе характеристик исходной воды (солесодержания, pH, концентрации хлора и железа), постепенное загрязнение пор мембраны и связанная с этим необходимость регенерация, зарастание мембран «био пленкой» при режиме периодического использования. Следует отметить необходимость предочистки водопроводной воды от примесей (обезжелезивание, умягчение и дехлорирование) перед подачей на обратноосмотическую установку.

Для удержания механических примесей используют автоматические фильтровальные колонны, наполненные кварцевым песком, который собственно и выступает в роле фильтрующего вещества. Размер частиц, которые задерживают песочные фильтры, составляет 20–25 мкм.

Для предотвращения осадкообразования на мембранах и удаления активного свободного хлора, к которому не стойки материалы мембраны, используют автоматические фильтровальные колонны, наполненные активированным углем. Регенерация в таких фильтрах происходит по сигналу встроенного таймера или расходомера. Таким образом, комбинация этих фильтров позволяет обрабатывать воду питьевую перед подачей на обратноосмотическую мембрану.

Обзор литературы по методам подготовки воды очищенной и рыночных предложений оборудования по водоподготовке позволил из широкого ассортимента выбрать установку ЛИССКОН-101-5, действие которой основано на сочетании методов обратного осмоса и ионного обмена. Производителем отмечена надежная работа установки, получение воды высокого качества, простота эксплуатации, автоматизация очистки и обратной промывки и, что немаловажно – низкие эксплуатационные расходы, доступность сертифицированных расходных материалов и гарантированное сервисное обслуживание.

В нашем случае технологическая схема получения очищенной воды на установке ЛИССКОН-101-5 включает в себя пять ступеней.

Первая ступень водоподготовки осуществляется на автоматическом фильтре осветления 1054 / V1” EI FAG. Фильтр засыпан кварцевым песком, с его помощью из воды удаляются примеси размером 20–25 мкм.

Вторая ступень водоподготовки осуществляется на автоматическом угольном фильтре 1054 / V1” EI Carbsorb 30. Фильтр засыпан активированным углем, с его помощью происходит дехлорирование, удаление привкуса, запаха и растворенных примесей, что способствует защите обратноосмотических мембранных элементов и ионообменных смол.

Регенерация первой и второй ступени проводится в автоматическом режиме обратным током в зависимости от прошедшего через них объема воды или в заранее заданное время.

Третья ступень водоподготовки осуществляется через механический фильтр SL20 / Pentek P 5-20. Фильтр изготовлен из 100% полипропилена, с его помощью удаляются примеси размером 5–20 мкм.

Четвертая ступень водоподготовки осуществляется через обратноосмотическую мембрану RE 4040-BLR. Материал мембраны выполнен из тонкопленочного полиамида покрытого стекловолокном. С помощью мембраны происходит удаление из водопроводной воды солей натрия, калия, кальция, магния, железа, марганца, тяжелых металлов, а также хлоридов, нитратов, нитритов, сульфатов, сульфидов, гербицидов, пестицидов и бактерий. Регенерация проводится кислотнo-щелочной промывкой в ручном режиме при ухудшении качества получаемой воды или образовании перепада давления более 0,15 МПа.

Пятая ступень водоподготовки осуществляется на фильтре смешанного действия 0844/N1”990S MB-50. Фильтр засыпан ионообменной смолой смешанного действия, с его помощью происходит очистка воды от всех катионов и анионов. Регенерация фильтра не предусмотрена.

Данная схема имеет производительность 200–250 л/ч и позволяет получить качественную воду очищенную, соответствующую требованиям ФС.2.2.0020.18.

Важной задачей является организация хранения и распределения очищенной воды. При монтаже материальной линии были учтены требования к материалам – их устойчивость к обработке паром под давлением и к раствору перекиси водорода, используемому для санации. Линия транспортировки и раздачи представляет собой систему трубопроводов из PVDF (поливинилиденфторид) со специальной запорной арматурой и позволяет проводить санацию выше приведенными способами. При монтаже были учтены контрольные точки для отбора проб воды очищенной, с организацией доступа к ним.

Главной проблемой при монтаже и последующей эксплуатации системы водоподготовки является потенциальный риск микробной контаминации и образование биопленки на элементах оборудования и трубопровода при консервации или временных отключениях. Биопленка крайне сложно удаляется при санитарной очистке. Поэтому, приступая к монтажу необходимо понимать, что сразу же должна начаться постоянная эксплуатация системы водоподготовки [11]. На этом этапе были выполнены отборы проб воды из контрольных точек (в течение недели) и оформлены приемо-сдаточные и пуско-наладочные акты ввода системы в эксплуатацию. Подготовлены инструкции по эксплуатации системы и разработаны стандартные операционные процедуры (СОП) на работу и обслуживание установки, на отбор проб и проведение контрольных испытаний воды очищенной, на санацию оборудования, емкости-резервуара и трубопровода. В итоге были подготовлены протоколы и отчет квалификации монтажа/эксплуатации (IQ/OQ) и был обучен персонал, обслуживающий систему. Данный этап закончился после подтверждения того, что система эксплуатируется согласно СОП, и постоянно производит очищенную воду в соответствии с ФС.2.2.0020.18.

Оценка рисков на этапе функционирования:

- работа в условиях наихудшего случая (при максимальном разборе воды, при отключении электроэнергии);
- надежность блокировок, сигнализации, записывающих устройств и системы управления;

- устойчивость результатов качества воды (отклонения не более  $\pm 10\%$ );
- учет человеческого фактора - частота отказов сложных технических систем по вине человека колеблется от 20 до 80% [8].

Механизм предотвращения ошибок персонала включает принятие следующих предупредительных мер [8]:

- подготовка простых инструкций, руководств по эксплуатации и техническому обслуживанию СВП;
- защита аппаратуры от ошибочных действий обслуживающего персонала;
- автоматизация процессов;
- подбор технически грамотного персонала;
- продуманная система (первичного, периодического) обучения персонала.

Опыт эксплуатации установки убеждает в необходимости:

- непрерывной эксплуатации оборудования, перерыв в работе не более 24 ч, с последующей санацией;
- своевременной регенерации обратноосмотической мембраны при увеличении перепада давления на входе и выходе более 0,1 МПа;
- своевременной замены фильтров и засыпок фильтрационных колонн согласно рекомендации производителя (песчаный и угольный фильтры – 1 раз в 3 года, механический фильтр – 1 раз в 3 месяца, обратноосмотическая мембрана – 1 раз в 3 года, фильтр с ионообменной смолой смешанного действия – 1 раз 2 года);
- регулярной санации установки, трубопровода и емкостей для хранения воды очищенной, в нашем случае паром под давлением 0,05 МПа (не менее 1 раза за 3 месяца) и в случае ухудшения микробиологического показателя качества воды – обработка 3% раствором перекиси водорода.

Инструментами анализа рисков на этапе функционирования системы водоподготовки являются протоколы квалификации с протоколами контроля качества воды [8]. Ежедневно контролируют показания рН получаемой воды и удельную электропроводность, не менее двух раз в месяц проводят полный анализ воды очищенной. При критических значениях рН или электропроводности необходимо выполнить полный анализ воды очищенной вне графика для выяснения причин ухудшения качества воды с целью разработки корректирующих действий (санация оборудования и емкостей хранения, регенерация или замена фильтра, обучение персонала и т. д.).

Общим для всех этапов валидации системы водоподготовки является понимание того, что риск для любой системы не может быть сведён к нулю. Этот принцип известен как принцип ALARA (As Low As Reasonable Achievable – настолько низко, насколько это разумно достижимо). Цель всех работ по управлению рисками – обеспечить надежность производства.

Работа выполнена по теме НИР 70-2-17 «Разработка и совершенствование биотехнологий промышленного выпуска иммунобиологических средств профилактики и диагностики инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной природы» (2017 – 2019 гг.).

#### Литература:

1. ГОСТ Р 52249-2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. – М.: Изд-во стандартов, 2009. – 132 с.
2. Об утверждении Правил надлежащей производственной практики (с изменениями на 18 декабря 2015 года), утвержденные приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 14 июня 2013 г. № 916: приказ М-ва промышленности и торговли РФ от 14.06.2013. URL: <http://docs.cntd.ru/document/499029882/> (дата обращения: 16.04.19).
3. ФС.2.2.0020.18 Вода очищенная / Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание (Т. III). – М.: ФЭМБ. 2018. С. 3602–3607.

4. СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения».
5. Производство лекарственных средств. Валидация. Основные положения: методические указания / сост. ГУП «ГипроНИИмедпром», ФГУП ГНЦА; М.: Минпромнаука России, 2003. 10 с.
6. Трапкова А.А. Сравнительный анализ требований надлежащей производственной практики Евросоюза и США с требованиями к системе менеджмента качества ИСО 9001 // Менеджмент качества в сфере здравоохранения и социального развития. 2011. № 3. С. 4–15.
7. Дьяконова Е.В., Шарахова О.В., Быстрицкий Л.Д. Методические подходы к организации валидационных мероприятий на предприятии - производителе лекарственных средств. URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/metodicheskie-podhody-k-organizatsii-validatsionnyh-meropriyatij-na-predpriyatii-proizvoditele-lekarstvennyh-sredstv/> (дата обращения: 16.04.19).
8. Смирнов В.Б., Сидорова Е.В., Якименко С.И. Концепция проведения валидации систем водоподготовки. Часть 2. Управление рисками при валидации системы водоподготовки URL: <http://www.medfilter.ru/st7/> (дата обращения: 16.04.19).
9. ФС.3.3.1.0020.18 Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой / Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание (Том IV). – М.: ФЭМБ. 2018. С. 5326–5336.
10. Оральная химическая вакцина против холеры: пат. 2159128 РФ / Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А., Елисеев Ю.Ю., Киреев М.Н., Наумов А.В., Кузьмиченко И.А., Тараненко Т.М.; опубли. 20.11.2000, Бюл. № 33.
11. Александров А.В. Практика валидации процесса подготовки воды в фармпроизводстве // Промышленное обозрение. 2008. № 3 (8). С. 24–26.
12. Дятлов И.А., Кутырев В.В., Храмов М.В. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы. М.: ООО «ТиРу», 2012. 415 с.
13. Водоподготовка: Справочник / Под ред. д.т.н., действительного члена Академии промышленной экологии С.Е. Беликова, М.: Аква-Терм, 2007. 240 с.

УДК: 579.843.1:578.1:616-074

### **УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ НА БИОВАРЫ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ O1 СЕРОГРУППЫ**

**Гаевская Н. Е., Погожова М. П., Кочеткова А. О., Тюрина А. В.**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В настоящее время чувствительность холерных вибрионов к бактериофагам остается ценным специфическим тестом их идентификации и дифференциации, поэтому разработка и усовершенствование препаратов фагодиагностики является актуальной проблемой. Цель исследования – усовершенствование диагностического холерного бактериофага для дифференциации холерных вибрионов O1 серогруппы на биовары. Для конструирования экспериментального диагностического препарата в работе использовали: коммерческий диагностический бактериофаг Эльтор, состоящий из двух фагов Эльтор XII и XV серотипов; экспериментальные диагностические холерные бактериофаги; фаги, выделяемые при мониторинге окружающей среды на наличие холерных вибрионов. В результате исследования проведена биологическая и генетическая характеристика перспективных холерных бактериофагов. Изготовлено 5 экспериментальных серий новых холерных бактериофагов, проведены лабораторные испытания и апробация этих препаратов. Разрабатывается стабильная форма выпуска, усовершенствованного диагностического холерного бактериофага Эльтор.

# IMPROVEMENT OF DIAGNOSTIC PREPARATION ON THE BASIS OF BACTERIOPHAGES FOR DIFFERENTIATION ON BIOVARS OF O1 SEROGROUP CHOLERA VIBRIOS

Gayevskaya N. E., Pogozhova M. P., Kochetkova A. O., Tyurina A. V.

*The Federal Government Health Institution «Rostov-on-Don Plague Control Research Institute» of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** Now the sensitivity of cholera vibrios to bacteriophages remains the valuable specific test of their identification and differentiation therefore development and improvement of preparation of a phagediagnosis is a current problem. Research objective – improvement of a diagnostic cholera bacteriophage for differentiation of cholera vibrios of O1 of a serogruppa on biovars. For constructioning of the experimental diagnostic preparation in work used: commercial diagnostic bacteriophage Eltor consisting of two phages Eltor XII and the XV serotypes; experimental diagnostic cholera bacteriophages; phages, allocated when monitoring a surrounding medium for existence of cholera vibrios. As a result of a research biological and genetic characteristic of perspective cholera bacteriophages is carried out. 5 experimental series of new cholera bacteriophages are made, laboratory researches and approbation of these preparations are carried out. Now in development a stable form of release, an advanced diagnostic cholera bacteriophage Eltor.

**Введение.** В центре внимания специалистов Роспотребнадзора оказалась проблема совершенствования диагностического препарата холерного фага, эффективно лизирующего холерные штаммы при проведении идентификации патогенного микроба. В настоящее время не существует абсолютного теста, позволяющего дифференцировать классические холерные вибрионы и вибрионы Эль Тор. Высокая специфичность феномена бактериофагии, простота постановки пробы, быстрота и четкость результатов определили широкое использование в практике пробы холерным фагом для быстрого метода идентификации и дифференциации холерных вибрионов [1, 2]. Способность возбудителя холеры, в наблюдаемый период, формировать отличающиеся по признаку устойчивости формы позволяет понять всю сложность задачи их фагодиagnostики [3]. Проведен анализ фаголизательности штаммов холерного вибриона, циркулирующих на территории РФ, показавший, что фагоустойчивость штаммов холерных вибрионов остается на высоком уровне в течение длительного времени. Поэтому был произведен отбор из экспериментальных и коммерческих холерных фагов, имеющих наибольший спектр литической активности, с последующим созданием из них коктейля, обладающего высокой диагностической информативностью [4]. С этой же целью проводится постоянный мониторинг фагоустойчивости штаммов холерных вибрионов для дальнейшей корректировки состава диагностического препарата.

**Цель** исследования: разработка диагностического холерного бактериофага для идентификации холерного вибриона Эль Тор.

**Материалы и методы.** Экспериментальные холерные бактериофаги размножали на тест-штаммах *Vibrio cholerae El Tor*, отобранных нами в процессе работы.

Для конструирования экспериментального диагностического препарата в работе использовали:

1. коммерческий диагностический бактериофаг Эльтор, состоящий из двух фагов Эльтор XII и XV серотипов;
2. экспериментальные диагностические холерные бактериофаги (O1, C1, E1 1, E1 2).
3. фаги, выделяемые при мониторинге окружающей среды на наличие холерных вибрионов.

Обнаружение и выделение фага из лизогенных штаммов, серологическую идентификацию, изучение морфологии негативных колоний холерных вибрионов проводили

общепринятыми методами [5]. Строение корпускул фагов исследовали в электронном микроскопе JEM-1011В.

Выделение ДНК фагов проводили в соответствии с ранее описанными методиками [6]. ДНК фагов была секвенирована с помощью полногеномного секвенатора Miseq (Illumina). Сборку геномов осуществляли с использованием ассемблеров, позволяющих объединять риды в контиги. Сравнение собранных геномов бактериофагов с аннотированными последовательностями известных бактериофагов проводили при помощи алгоритма blastn.

Статистическую обработку проводили по общепринятым методам [7].

**Результаты и обсуждение.** Проведена биологическая и генетическая характеристика холерных бактериофагов, перспективных для использования в диагностике холеры. По данным электронно-микроскопического исследования холерные бактериофаги относились по морфологии корпускул: фаг E1 1, фаг XII и фаг XV – к III морфогруппе и типу C семейства *Podoviridae*; фаг E1 2 – к V морфогруппе и типу A семейства *Myoviridae*. Изучены серологические свойства экспериментальных холерных бактериофагов, монофаги E1 1, E1 2, XV относятся к VII серологическому типу холерных бактериофагов, а монофаг XII – к IX серологическому типу холерных бактериофагов. К бактериофагам E1 1 и E1 2 получены антифаговые сыворотки. Установлено, что к действию хлороформа и температуре 56-60°C фаги *V. cholerae* устойчивы, но инактивируются при температуре 65-70°C в течение 30 мин. Специфичность фагов в отношении хозяина подтверждена на большом наборе представителей близкородственных микроорганизмов семейств *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*. Полные геномы фагов Rostov-1 (E1 1) и Rostov-6 (O1) зарегистрированы и доступны в GenBank (NCBI) под номерами MG957431 и MH105773 соответственно.

Изготовлено 5 экспериментальных серий диагностического холерного бактериофага. Подобраны оптимальные режимы и условия лиофилизации экспериментальных диагностических холерных бактериофагов. Разрабатывается стабильная форма препарата усовершенствованного диагностического холерного бактериофага Эльтор.

Проведены лабораторные и межучрежденческие испытания, с апробацией усовершенствованного препарата фага Эльтор в ходе мониторинга объектов окружающей среды на наличие холерного вибриона с оценкой эффективности фагового препарата для дифференциации холерных вибрионов O1 серогруппы. Диапазон литической активности коктейля бактериофагов показал хороший результат и составил 85%. У бактериофагов E1 и XV был увеличен спектр литической активности за счет получения их вирулентных мутантов при пассировании через организм лабораторных животных. Было проведено определение специфической активности вирулентных мутантов фагов E1 и XV на штаммах *V. cholerae*, которые являются контрольными для производства препарата бактериофагов ctx+ и ctx-. Эксперимент свидетельствует о том, что новые фаги на 100% лизировали все взятые в опыт штаммы холерного вибриона биовара Эль Тор на 3-4 креста, в то время как коммерческий препарат Эльтор лизировал неэпидемические штамм в 37,5% случаев, эпидемические на 83%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой диагностической ценности новых фагов, однако требуются дополнительные исследования по стабильности экспериментальных образцов. Полные геномы фагов Rostov-1 и Rostov-7 зарегистрированы и доступны в Genbank (NCBI) под номерами MG957431 и MK575466 соответственно.

#### Литература:

1. Алешкин В.А. Бактериофаги в России: прошлое, настоящее и будущее / В.А. Алешкин, А.В. Алешкин, С.С. Афанасьев / «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности»: Матер. межд. науч.-практ. конф. – Ульяновск, 2013. – Т. 1. – С. 139–144.
2. Дрожевкина М.С. Специфические фаги в диагностике холеры / М.С. Дрожевкина, Ю.И. Арутюнов, Л.Д. Македонова // «Эпидемиология, клиника, диагностика и профилактика антропонозных и зоонозных инфекций»: Матер. конф. – Астрахань, 1982. – С. 204–205.

3. Гаевская Н.Е., Овчинникова М.В., Тюрина А. В., Мазрухо А.Б., Погожова М.П., Каминский Д.И., Коровкина Г.И., Зинина О.С. Испытание новой фаговой композиции для диагностики *V. cholerae* на штаммах, выделенных при мониторинге холеры в 2014–2016 годах // Журн. инфектологии. – 2017. – № 3, Т 9 (прилож.). – С. 24–25.
4. Гаевская Н.Е., Македонова Л.Д. Использование бактериофагов в лабораторной диагностике холеры. // Клин. лаб. диагностика. – 2016. – № 12, Т. 61. – С. 849–852.
5. Адамс М. Бактериофаги / М. Адамс. – М., 1961. – 527 с.
6. Маниатис Т. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук – Пер. с англ. – М., 1984. – 458 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин – М., 1968. – 284 с.

УДК: 579.61:616-078

**ПРОВЕРКА СООТВЕТСТВИЯ ТЕХНИЧЕСКИХ, ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ  
И ЭКСПЛУАТАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СЕРИЙ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ДИАГНОСТИКУМ ЭРИТРОЦИТАРНЫЙ ЧУМНОЙ  
ИММУНОГЛОБУЛИНОВЫЙ ЖИДКИЙ»**

**Кошкидько А. Г., Курчева С. А., Жарникова И. В., Старцева О. Л.**  
*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** На базе ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора разработан препарат «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий», позволяющий обнаружить капсульную и бескапсульную форму чумного микроба *Y. pestis*. Для подтверждения диагностической ценности набора были проведены испытания, позволяющие определить важные физико-химические (внешний вид) и иммунохимические (специфическая активность и специфичность) показатели препарата. Оценку эффективности набора определяли с помощью реакции непрямой геммагглютинации (РНГА) макро- и микрометодами с применением проб чистых культур гомологичных и гетерологичных штаммов в четырех повторностях. Специфическая активность составила не менее  $2,5 \times 10^6$  м.к./мл при отсутствии перекрестных реакций с гетерологичными штаммами, что полностью удовлетворяет требованиям нормативной документации на данный препарат.

**VERIFICATION OF THE CONFORMITY OF TECHNICAL, FUNCTIONAL  
AND OPERATIONAL CHARACTERISTICS OF EXPERIMENTAL SERIES  
OF THE REAGENT KITS «DIAGNOSTICUM ERYTHROCYTE PLAGUE  
IMMUNOGLOBULIN LIQUID»**

**Koshkidko A. G., Kurcheva S. A., Zharnikova I. V., Startseva O. L.**  
*FGHI «Stavropol plague control institute» of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia*

**Abstract.** On the basis of FGHI Stavropol plague control institute of the Rospotrebnadzor developed the drug «Diagnosticum erythrocyte plague immunoglobulin liquid» that allows to detect and capsule form beskapsulnuyu *Y. pestis*. To confirm the diagnostic value of a set of tests were carried out, allowing to determine the important physical and chemical (appearance) and immunohistochemistry (specific activity and specificity) indicators of the drug. Evaluation set efficiency was determined using the reverse passive hemagglutination (RPG) macro- and micromethod using samples of pure cultures of homologous and heterologous strains in quadruplicate. The specific activity was not less than  $2,5 \times 10^6$  microbial cells/ml in the absence of cross-reactivity with heterologous strains that fully satisfies the regulatory requirements active drug.

**Введение.** Лабораторная диагностика чумы построена на выявлении капсульного антигена или антител к нему, так как этот антиген признан одним из «классических» факторов патогенности *Yersinia pestis*. Изучению и использованию капсульного антигена, в



качестве основного компонента большинства коммерческих и экспериментальных препаратов, предназначенных для индикации возбудителя чумы, посвящено наибольшее количество исследований [1, 2, 3]. Однако при снижении эпизоотической активности чумного очага, в организме иммунорезистентных теплокровных носителей, в блохах-переносчиках, обитающих в норах грызунов, могут появляться измененные варианты чумного микроба [4]. Штаммы с нарушенной продукцией капсульного антигена вызывают у чувствительных к ним организмов не острое заболевание чумой, а ее «подострую» форму, которая отличается затяжным инфекционным процессом, в том числе длительным инкубационным периодом или даже вялым скрытым течением. От больных людей были выделены штаммы, которые синтезируют, но не секретируют капсульный антиген, что, с одной стороны подтверждает их опасность, а с другой – затрудняет их детекцию и идентификацию. В связи со сказанным, разработка и внедрение в практику диагностических препаратов, ориентированных на обнаружение штаммов *Y. pestis* (капсульной и бескапсульной форм), является актуальной и в настоящее время [5, 6, 7].

В связи с отсутствием на российском рынке диагностических препаратов, позволяющих обнаружить капсульную и бескапсульную форму чумного микроба, специалистами ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора был сконструирован набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий». Диагностикум представляет собой взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсibilизированных специфическими иммуноглобулинами, выделенными из гипериммунной чумной сыворотки кроликов, иммунизированных комплексом антигенов капсульных и бескапсульных форм чумного микроба.

**Целью** исследования стало определение соответствия параметров, полученных экспериментальных серий набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий», заданным в требованиях технических условий.

Для проверки соответствия технических, функциональных и эксплуатационных характеристик набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий» были проведены лабораторные испытания. Работу проводили в соответствии с СП 1.3.3118-13 и СП 1.3.2322-08 в нормальных климатических условиях [8]. При проведении испытаний контролировали следующие показатели: внешний вид и комплектность набора реагентов (определяли визуально), специфическую активность и специфичность (постановкой реакции непрямой геммаглютинации (РНГА)). Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий 5% представлял собой гомогенную суспензию красно-коричневого цвета; при отстаивании образовывались два слоя: прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета надосадочная жидкость и плотный осадок красно-коричневого цвета. Положительный контрольный образец (F<sup>+</sup>) жидкий и положительный контрольный образец (F<sup>-</sup>) жидкий – гомогенная взвесь белого или светло-желтого цвета, при стоянии – бесцветная или светло-желтого цвета жидкость с белым осадком на дне. Раствор для постановки РНГА (твин-80 в разведении 1:500) – прозрачная бесцветная жидкость.

Контроль специфической активности и специфичности проводили в лабораторных условиях макро- и микрометодами в РНГА с применением тест-штаммов из рабочей коллекции патогенных микроорганизмов. В качестве исследуемого материала, были взяты пробы чистых культур микроорганизмов (бактериальные суспензии: 9 штаммов *Y. pestis* (капсульной и бескапсульной форм) в концентрации  $2,0 \times 10^7$  м.к./мл и 5 штаммов гетерологичных микроорганизмов в концентрации  $4,0 \times 10^8$  м.к./мл). Подготовку набора реагентов проводили следующим образом: диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий 5% для макрометода разводили в два раза 0,9% раствором натрия хлорида для получения 2,5% взвеси эритроцитов; для микрометода 2,5% взвесь дополнительно разводили 0,9% раствором натрия хлорида в 5 раз для получения 0,5% концентрации препарата. Перед проведением анализа диагностикум встряхивали до

образования равномерной взвеси. Раствор для постановки РНГА дополнительно разводили 0,9% раствором натрия хлорида для получения рабочего разведения 1:50000. Положительные контрольные образцы, прилагаемые в наборе, разводили в 50 раз 0,9% раствором натрия хлорида, получая концентрацию  $2,0 \times 10^7$  м.к./мл.

Воспроизводимость метода оценивали одновременно четыре специалиста разных лабораторий института. Учет результатов проводили через ( $2,5 \pm 0,5$ ) ч: предварительный – для макрометода и окончательный – для микрометода. Окончательный учет результатов для макрометода – через ( $21 \pm 3$ ) ч. Результат РНГА считали положительным, если эритроциты выпадали на дно лунок равномерным слоем в виде «зонтика», занимая не менее 2/3 диаметра сферической поверхности в лунке (в ряде случаев отмечалось фестончатое оплывание краев агглютината). При отрицательном результате эритроциты выпадали на дно лунки в виде «пуговики» или узкого колечка с ровным краем. В лунках с положительными контрольными образцами специфическая активность составила  $1,25 \times 10^6$  м.к./мл – в макрометодe,  $2,5 \times 10^6$  м.к./мл – в микрометодe. В отрицательных контрольных лунках результат был отрицательным.

Таким образом, при проверке технических, функциональных и эксплуатационных характеристик набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий» установлено соответствие параметров экспериментальных серий набора реагентов, заданным в технических условиях. Диагностикум специфичен и не дает перекрестных реакций с гетерологичными микроорганизмами. Специфическая активность составила не менее  $2,5 \times 10^6$  м.к./мл, что полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к подобным диагностическим препаратам.

#### Литература:

1. Афанасьев Е.Н. Научно-методические аспекты экспресс-диагностики возбудителей особо опасных зоонозных инфекций: автореф. дис. ... докт. мед. наук / Афанасьев Евгений Николаевич. – Ростов-на-Дону, 2000. – 45 с.
2. Малахаева А.Н. Изучение штаммов *Yersinia pestis*, образующих «атипичные» капсулы: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: 03.00.07 / Малахаева Алина Николаевна – Саратов, 2002. – 22 с.
3. Капсульный антиген чумного микроба / Л.А. Кадникова, П.Х. Копылов, С.В. Дентовская и др. // Инфекция и иммунитет. – 2015. – Т. 5, № 3. – С. 201–218.
4. Баканурская Т.Л. Нетипируемая форма микроба чумы / Т.Л. Баканурская, В.М. Степанов, В.Л. Семиотрочев // Организация эпиднадзора при чуме и меры её профилактики: Материалы межгос. науч.-практ. конф. – Алма-Ата, 1992. – Т. 1. – С. 79–82.
5. Burrows T.W. The effects of loss of different virulence determinants on the virulence and immunogenicity of strains of *Pasteurella pestis* / T.W. Burrows, G.A. Bacon // Brit. J. Exp. Pathol. – 1958. – V. 39. – P. 278–291.
6. Генетический анализ и моделирование вирулентности *Yersinia pestis* / В.В. Кутырев, А.А. Филиппов, Н.Ю. Шавина и др. // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. – 1989. – № 8. – С. 42–47.
7. Базанова Л.П. Сохранение возбудителя чумы в зимний период самками и самцами *Citellophilus tesquorum altaicus* / Л.П. Базанова, А.Я. Никитин, М.П. Маевский // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2007. – № 4. – С. 34–37.
8. ГОСТ 28198-89 (МЭК 68-1-88) Основные методы испытаний на воздействие внешних факторов. Ч. 1. Общие положения и руководство (с Изменением № 1). – М.: Стандартинформ, 2006. – 40 с.

**РАЗРАБОТКА АНТИГЕННОГО БРУЦЕЛЛЕЗНОГО  
ПОЛИСАХАРИДНО-БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА  
ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КЛЕТОЧНЫХ ТЕСТАХ *IN VITRO***

**Курчева С. А., Пономаренко Д. Г., Жарникова И. В., Ковалев Д. А., Кошкидько А. Г.,  
Ракитина Е. Л., Костюченко М. В., Логвиненко О. В.,  
Жданова Е. В., Геогджаян А. С.**

*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора,  
Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Разработан антигенный бруцеллезный полисахаридно-белковый комплекс, для использования в клеточных тестах *in vitro*. Технологический процесс получения антигенного комплекса включает в себя культивирование штамма *Brucella abortus* 19 ВА на плотной питательной среде (4 генерации), обеззараживание, водно-солевую экстракцию, разрушение микробных клеток на гидравлическом прессе, центрифугирование и лиофилизацию препарата. Применение указанного технологического процесса обеспечивает полноценное извлечение из бактериальных клеток антигенного полисахаридно-белкового комплекса, обладающего высокой активностью, специфичностью в условиях *in vitro*.

**DEVELOPMENT OF ANTIGENIC BRUCELLOSIS POLYSACCHARIDE-PROTEIN  
COMPLEX FOR USE IN THE CELL TESTS *IN VITRO***

**Kurcheva S. A., Ponomarenko D. G., Zharnikova I. V., Kovalev D. A., Koshkidko A. G.,  
Rakitina E. L., Kostyuchenko M. V., Logvinenko O. V.,  
Zhdanova E. V., Geogdzhayan A. S.**

*FGHI «Stavropol plague control institute» of the Rosпотребнадзор, Stavropol, Russia*

**Abstract.** An antigenic brucellosis polysaccharide-protein complex has been developed for use in *in vitro* cellular tests. The technological process of obtaining antigenic complex includes the cultivation of the strain *Brucella abortus* 19 VA on a dense nutrient medium (4 generations), disinfection, water-salt extraction, destruction of microbial cells on a hydraulic press, centrifugation and lyophilization of the drug. The use of this technological process provides a complete extraction of antigenic polysaccharide-protein complex from bacterial cells, which has high activity and specificity *in vitro*.

**Введение.** В настоящее время в лабораторную практику активно внедряются диагностические тесты, основанные на антиген-специфических клеточных реакциях *in vitro*, позволяющие выявить интенсивность экспрессии иммунокомпетентными клетками различных рецепторов активации [1].

Для разработки информативных методик оценки иммунологической эффективности вакцинации против бруцеллеза на ранних сроках после иммунизации, с использованием технологий проточной цитометрии в антиген-стимулированных клеточных тестах *in vitro* необходим тщательный подбор стимулирующего агента, обладающим достаточным активирующим потенциалом в отношении Т-лимфоцитов и обеспечивающим специфичность реакции в условиях *in vitro*. В настоящее время для данных целей отсутствует коммерчески доступный препарат [2, 3].

**Задача исследований** – получение бруцеллезного антигена для использования в лейкоцитарных клеточных тестах *in vitro*, обеспечивающего специфическую активацию Т-лимфоцитов в условиях *in vitro*.

Поставленная задача была решена путем получения посевных культур *B. abortus* 19 ВА четырех генераций, обеззараживания, охлажденным до минус 40°C ацетоном, с последующим высушиванием. Выделение активного действующего вещества – бруцеллезного полисахаридно-белкового комплекса (БПБК) осуществляли с использованием

водно-солевой экстракции 2,5% раствором натрия хлорида 1:1 в течение 24 ч, с дальнейшим разрушением микробных клеток на гидравлическом прессе и центрифугированием. Полученные экспериментальные серии препарата разливали в ампулы и подвергали сублимационному высушиванию.

Следующим этапом исследования с применением методов спектрофотометрии, капиллярного электрофореза на чипе, специфической флуориметрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии был определён качественный биохимический состав БПБК. В ходе изучения экспериментальных серий БПБК, используемых для оценки поствакцинального иммунитета *in vitro*, были получены точные физико-химические характеристики, которые указывали на стабильность и чистоту препарата разных серий. Характерные хроматографические профили показали наличие в образцах двух моносахаридов (рамнозы и D-глюкозы). В результате анализа образцов БПБК методом капиллярного электрофореза был охарактеризован состав входящих в него белковых фракций. Установлено, что анализируемые образцы имеют в составе 17 белков с молекулярной массой в диапазоне от 7 до 85 kDa, основная белковая фракция с молекулярной массой 33 kDa.

Проверку активности полученного БПБК осуществляли в реакции иммунодиффузии, титр составил – 1:128. При контроле специфичности с применением иммуноферментного анализа отмечено отсутствие перекрестных реакций со штаммами гетерологичных микроорганизмов: *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Для контроля специфической активности антигена в клеточных тестах *in vitro* использовали белых лабораторных мышей (n=10), иммунизированных вакциной против бруцеллёза в дозе  $3,4 \times 10^8 - 4,6 \times 10^8$  живых м.к. в 0,5 мл физиологического раствора (ФР). Контрольной группе мышей (n=10) вводили 0,5 мл стерильного ФР. Взятие крови у иммунизированных и контрольных биомоделей осуществляли до вакцинации и на 14 сутки после иммунизации. Исследования проводили, используя моноклональные антитела к рецепторам активации Т-лимфоцитов – CD25 и CD69, меченные, соответственно FITC и PE. Анализ результатов цитофлуориметрического исследования показал, что БПБК, обладает выраженной специфической активностью в условиях *in vitro*. Уровень антиген-индуцированной экспрессии молекул активации увеличился в два и более раз CD25 –  $8,65 \pm 1,85\%$  (контроль –  $3,73 \pm 0,40\%$ ), CD69 –  $46,81 \pm 4,53\%$  (контроль –  $23,07 \pm 1,87\%$ ).

На основании данных, полученных в период использования препарата (7 мес.) можно сделать вывод о сохранении качественных показателей БПБК в течение указанного срока.

Таким образом, в результате исследований разработана методика получения белково-полисахаридного антигенного комплекса на основе штамма *Brucella abortus* 19 ВА. Полученный антиген не вызывает неспецифических реакций (неспецифической активации) Т-лимфоцитов *in vitro*, обладает выраженной специфической активностью в условиях *in vitro*. Бруцеллезный антиген будет использован для разработки дополнительных методов лабораторной диагностики бруцеллёза и оценки фактической привитости контингентов риска после вакцинации против бруцеллёза.

#### Литература:

1. Использование антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* для оценки формирования поствакцинального противочумного иммунитета / А.Н. Куличенко, Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева и др. // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 203–208.
2. Перспектива оценки антигенреактивности лимфоцитов *in vitro* для диагностики острого бруцеллёза / М.В. Костюченко, Д.Г. Пономаренко, Е.Л. Ракитина и др. // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т. 7, № 1. – С. 91–96.
3. Новицкий А.А. Роль реакции иммунодиффузии с О-полисахаридным антигеном в поствакцинальной диагностике бруцеллёза / А.А. Новицкий, В.И. Околелов // Вестник ОмГАУ. – 2016. – № 4. – С. 172–177.

**ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И УСТАНОВЛЕНИЕ СРОКОВ ГОДНОСТИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ДИАГНОСТИКУМ ЭРИТРОЦИТАРНЫЙ ЧУМНОЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВЫЙ ЖИДКИЙ»**

**Старцева О. Л., Зуенко А. А., Курчева С. А., Богданова Ю. В., Гридина Т. М.**  
*ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия*

**Аннотация.** Описаны результаты изучения стабильности основных показателей качества набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный иммуноглобулиновый жидкий», для обоснования срока годности и рекомендации условий хранения при использовании. Проведено изучение стабильности не только в первичной упаковке промышленного выпуска, но и после первого вскрытия упаковки, в период использования восстановленного препарата. На основании полученных данных рекомендован срок годности в течение 12 мес. Экспериментально доказано, что в течение этого периода времени качественные показатели препарата остаются на уровне, соответствующем требованиям эксплуатационной документации. В процессе применения рабочие разведения компонентов препарата характеризуются стабильностью своих свойств в течение 10 суток при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$ .

**STUDY OF STABILITY AND SHELF-LIFE ESTIMATION OF A REAGENT KIT «DIAGNOSTICUM ERYTHROCYTE PLAGUE IMMUNOGLOBULIN LIQUID»**

**Startseva O. L., Zuenko A. A., Kurcheva S. A., Bogdanova Yu. V., Gridina T. M.**  
*FGHI «Stavropol plague control institute» of the Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia*

**Abstract.** The results of the study of the stability of the main indicators of the quality of the «Diagnosticum erythrocyte immunoglobulin liquid» reagent kit are described, to justify the shelf life and to recommend storage conditions for use. A study was conducted of stability not only in the primary packaging of industrial output, but also after the first opening of the package, during the period of use of the reconstituted preparation. Based on the data obtained, a shelf life of 12 months is recommended. It was experimentally proved that during this period of time, the quality indicators of the drug remain at a level that meets the requirements of the operational documentation. In the process of application, working dilutions of the components of the preparation are characterized by the stability of their properties for 10 days at a temperature of  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$ .

**Введение.** Заболевание чумой имеет международное значение в области общественного здравоохранения. Природные очаги чумы существуют на всех континентах мира, кроме Австралии и Антарктиды. На территории стран Содружества Независимых Государств расположено 45 природных очагов чумы, в том числе 11 – в Российской Федерации. Поэтому, эпидемическую обстановку по чуме в России можно считать неустойчивой в связи с выделением чумного микроба в резервуарах инфекции и реальной опасностью завоза чумы из-за рубежа [1].

Лабораторная диагностика, в комплексе мероприятий по контролю активности природных очагов чумы, включает в себя серологические исследования, эффективность которых во многом определяется качеством и возможностями применяемых медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП).

Специалистами ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора разработан Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий». Препарат предназначен для качественного одновременного выявления возбудителя чумы (капсульной и бескапсульной форм) в биологическом материале с помощью реакции непрямой гемагглютинации (РНГА). В состав набора входят: диагностикум эритроцитарный чумной иммуноглобулиновый жидкий, положительный контрольный образец ( $F^+$ ), положительный контрольный образец ( $F^-$ ), раствор для постановки РНГА, инструкция по применению, скарификатор ампульный. Область

применения набора – клиническая лабораторная диагностика, научные исследования, эпидемиологический надзор.

Испытания стабильности и определение сроков годности являются обязательным пунктом при разработке новых диагностических препаратов. В ходе данных исследований выявляются качественные изменения, возникшие под действием внешних факторов, на основании чего формируются требования к условиям и срокам хранения [2]. Это имеет особую значимость для качества эритроцитарных диагностикумов, так как несоблюдение температурных режимов при хранении и транспортировке может сопровождаться коагуляцией суспензии, снижением агглютинабельных свойств эритроцитов, что приводит к полной утрате их диагностической ценности [3, 4].

**Целью** работы стало изучение стабильности основных показателей качества Набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный иммуноглобулиновых жидкий» и получение данных о возможном изменении качества препарата с течением времени, установление рекомендуемых условий хранения и срока годности.

Согласно требованиям, изложенным в ГОСТ Р ИСО 23640-2015 [5], изучение стабильности и установление сроков годности препарата целесообразно проводить не только в первичной упаковке промышленного выпуска, но и после первого вскрытия упаковки, в период использования восстановленного препарата. Для изучения стабильности использован метод долгосрочных испытаний.

Для получения данных о возможном изменении качества после вскрытия компонентов набора, приготовления рабочих разведений и прогнозирования срока годности использовано три серии препарата для каждого исследования. Испытуемые образцы хранили в холодильнике при температуре  $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$  (температурный интервал соответствует предполагаемому). Для контроля использовали по три образца из каждой серии. За один образец принимали содержимое одного набора.

Для прогнозирования сроков годности образцы хранили в течение 18 мес. Исследования проводили через каждые три месяца на протяжении всего периода испытаний.

Образцы набора после вскрытия компонентов и приготовления рабочих разведений в процессе использования исследовали через каждые 24 ч, начиная с третьих суток хранения.

По окончании каждого установленного временного интервала препарат контролировали по следующим параметрам: внешний вид, специфическая активность, специфичность.

Внешний вид контролировали визуально при естественном освещении. Контроль показателей специфической активности и специфичности проводили методом постановки реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) в двух вариациях. Учет результатов проводили через  $(2,5\pm 0,5)$  ч: предварительный – для макрометода и окончательный – для микрометода; окончательный учет результатов для макрометода – через  $(21\pm 3)$  ч.

Результат РНГА считали положительным, если эритроциты выпадали на дно лунок равномерным слоем в виде «зонтика», занимая не менее  $2/3$  диаметра сферической поверхности в лунке (в ряде случаев возможно фестончатое оплывание краев агглютината). При отрицательном результате эритроциты выпадают на дно лунки в виде «пуговки» или узкого колечка с ровным краем. В контрольных лунках результат должен быть отрицательным.

При установлении срока годности испытуемые образцы сохраняли стабильность без изменения внешнего вида, специфичности и специфической активности в течение 15 месяцев наблюдения при температуре хранения  $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$ . По окончании 18 месяцев хранения при указанной температуре в образцах двух серий набора наблюдалось изменение внешнего вида компонентов, проявляющееся в уплотнении осадка положительных контролей.

Рабочие разведения препарата при температуре хранения  $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$  сохраняли стабильность без изменения внешнего вида, специфичности и специфической активности в течение 11 суток наблюдения. По окончании 12 суток хранения при указанной температуре

во всех образцах наблюдалось изменение внешнего вида раствора для постановки РНГА, проявляющееся в помутнении раствора с образованием осадка на дне флакона.

Таким образом, исследования критериев стабильности показали, что Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный иммуноглобулиновый жидкий» в течение 15 месяцев хранения при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  стабильно сохраняет свои физико-химические и биологические свойства, а после вскрытия компонентов и приготовления рабочих разведений в процессе применения – в течение 10 суток.

По совокупности полученных результатов установлено, что Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный иммуноглобулиновый жидкий» соответствует гарантийному сроку хранения – 12 месяцев при соблюдении условий хранения и транспортирования, изложенных в технической и эксплуатационной документации производителя. Рабочие разведения компонентов препарата допускается хранить при температуре  $(5\pm 3)^\circ\text{C}$  не более 10 суток.

#### Литература:

1. Характеристика молекулярно-генетических свойств штаммов возбудителя чумы, перспективных для использования в учебном процессе / Е.В. Сазанова, В.Е. Куклев, Т.А. Малюкова и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – В. 2. – С. 83–86.
2. Мешковский, А.П. Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных препаратов / Фарматека. – 2000. – № 2. – С. 25–34.
3. Жарникова, И.В. Методологические подходы и разработка биотехнологии иммунобиологических препаратов для диагностики инфекционных особо опасных заболеваний и детекции их возбудителей: автореф. дис...докт. биол. наук / Жарникова Ирина Викторовна. – Ставрополь, 2004. – 40 с.
4. Эритроцитарные диагностикумы и применение в ветеринарии / Н.В. Мельник, Е.Н. Крюкова, О.Ю Федорова. и др. // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 3. – С. 15–17.
5. ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*. – Москва: Стандартинформ, 2015. – 8 с.

УДК: 578.843.1:577.115.3:57.083.13

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕКТРА ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ *VIBRIO CHOLERAE* O139 СЕРОГРУППЫ ПРИ СТАНДАРТНЫХ И ВАРИАБЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

**Шипко Е. С., Дуванова О. В., Писанов Р. В.**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Изучен спектр жирных кислот клеток штамма *Vibrio cholerae* O139 серогруппы (ctxΔ tcpΔ), выращенных при стандартных и переменных условиях культивирования. Отмечена разница в жирнокислотном составе клеток холерного вибриона при изменении температуры и pH среды культивирования.

### **THE DEFINITION OF THE FATTY ACIDS SPECTRUM IN THE CELLS OF *VIBRIO CHOLERAE* O139 SEROGROUP IN STANDARD AND VARIABLE CULTIVATION CONDITIONS**

**Shipko E. S., Duvanova O. V., Pisanov R. V.**

*Rostov-on-Don research anti-plague Institute of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae* O139 serogroup cells (ctxΔ tcpΔ) grown under standard and variable cultivation conditions was studied. The difference in the fatty acid composition of cholera *Vibrio* cells was noted in the temperature and pH of the culture medium.

**Введение.** Микроорганизмы в окружающей среде подвергаются воздействию разнообразных факторов. Будучи пойкилотермными организмами, они весьма уязвимы к воздействию физических и химических стимулов таких, например, как изменения температуры и pH среды. Известно, что липиды клеточных мембран способны минимизировать отрицательное воздействие факторов среды за счет изменения соотношения насыщенных жирных кислот (НЖК) к ненасыщенным (ННЖК), путем синтеза разветвленных, циклических жирных кислот, что приводит к изменению вязкости липидного бислоя и соответственно проницаемости клеточной мембраны [4]. Кроме данного общеизвестного факта последние исследования показали, что жирные кислоты (ЖК), являясь одними из наиболее важных липидных сигнальных молекул, активируют защитные реакции на транскрипционном уровне и способны модулировать конформацию и активность внутриклеточных белков и метаболитов [3]. Таким образом, на сегодняшний день является актуальным изучение физиологической значимости изменения спектра ЖК в адаптационном /персистентном потенциале микроорганизмов.

**Целью** данной работы было определение спектра жирных кислот клеток *Vibrio cholerae* O139 серогруппы, выращенных при стандартных (37°C, pH 7,8) и переменных условиях культивирования.

**Материалы и методы.** В работе использовали штамм *V. cholerae* O139 серогруппы 17786 (ctxΔ tcrΔ, выделенный из воды р. Инья), полученный из музея живых культур, с центром патогенных вибрионов, Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора. Клетки выращивали в 1% пептонной воде при температуре 10°, 28°, 37°, 42°C (pH 7,8) и в 1% пептонной воде pH 4,0; 6,0; 7,8; 9,0 (37°C).

Приготовление образцов для анализа ЖК включало в себя сбор клеток бактерий, метилирование жирных кислот, экстракцию эфиров и их силирование. После чего триметилсилил производные жирных кислот, анализировали методом газовой хроматографии масс-спектрометрии на приборе Маэстро 2-7802 (ИнтерЛаб, Россия), при помощи программного обеспечения «MSD ChemStation» и библиотеки масс-спектров NIST16.

**Результаты и обсуждение.** Штамм *V. cholerae* 17786 при стандартных условиях культивирования (37°C, pH 7,8) характеризовался следующим составом ЖК: 52% от общего числа липидных компонентов клетки составляли насыщенные ЖК, прежде всего пальмитиновая (37,8%) и стеариновая ЖК (8,8%), и 20% составляли ННЖК: пальмитолеиновая, олеиновая и цис-вакценовая. При 28°C и pH 6,0 значительных изменений в соотношении НЖК к ННЖК отмечено не было – НЖК оставались приоритетными. При понижении температуры культивирования до 10°C, а также при подкислении среды до значения pH 4,0 или подщелачивании до pH 9,0 отмечались значительные изменения, как в качественном, так и в количественном составе ЖК, что свидетельствовало об изменении текучести клеточной мембраны, включая метаболизм клеток холерного вибриона. Так, при не оптимальных условиях культивирования снижался процент содержания НЖК, увеличивался процент разветвленных ЖК (при низких температурах), увеличивалась доля ННЖК (при низких и высоких значениях pH), циклических ЖК (при pH 4,0), гидроксидных ЖК (при pH 9,0). В клетках бактерий выращенных при низких температурах, и кислых значениях pH детектировалась арахидоновая ЖК (C20:0), которая при стандартных условиях и при щелочных значениях pH отсутствовала. В клетках, культивируемых при температуре 42°C, а также при кислых и щелочных значениях pH отмечалось появление транс-изомеров ННЖК, которые при повышенной температуре и при pH 4,0 составляли более 10% от общего количества жирнокислотного состава клетки. При неоптимальных условиях роста изменения также затрагивали содержание углеводов и спиртов в клетке (отмечалось их увеличение при низких температурах, появление диоловых спиртов при pH 9,0).

При изменении условий культивирования клеток холерного вибриона (температуры и pH среды) был отмечен синтез ароматических соединений терпенового ряда, отсутствующих при стандартных условиях. Как известно из данных литературы, терпены и терпеноиды



характеризуются высоким уровнем видовой специфичности, а в ряде случаев могут служить хемотаксономическими маркерами. Будучи вторичными метаболитами микроорганизмов терпеновые соединения принимают участие в формировании ряда жизненных функций организма-продуцента, его межвидовых связей и защитных систем, направленных против хищников, конкурентов, служат сигналами тревоги в системе кворум-сенсинга [1]. Полиненасыщенные соединения терпенового ряда обладают антиоксидантной и антимуутагенной активностью осуществляемой на уровне мембран за счет их высокой липофильности [2].

**Заключение.** Таким образом, представляется перспективным продолжение исследований в области липидомики холерных вибрионов, выделенных из различных источников и с разным набором детерминант вирулентности, с целью изучения жирнокислотного состава клеток при разных аспектах жизнедеятельности микроорганизмов.

Литература:

1. Гольдин Е.Б., Гольдина В.Г. Эколого-биологическое значение терпенов и их практическое использование: методологические аспекты // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2011. № 4. С. 104–111.
2. Племенков В.В., Тевс О.А. Медико-биологические свойства и перспективы терпеноидов (изопреноидов) // Химия растительного сырья. 2014. № 4. С. 5–20.
3. Hou Q., Ufer G., Bartels D. Lipid signaling in plant response to abiotic stress // Plant Cell Environ. 2015. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/pce.12666> (дата обращения 24.03.19).
4. Los D.A., Murata N. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals // Biochimica et Biophysica Acta. 2004. V. 1666. P. 142–157.

## **РАЗДЕЛ 7. СОВРЕМЕННЫЕ ВАКЦИННЫЕ СТРАТЕГИИ, НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ВАКЦИН И ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ**

УДК: 376.8.097.3:616.915

### **ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВАКЦИНАЦИЮ ПРОТИВ КОРИ У ВЗРОСЛЫХ**

**Андреев Ю. Ю., Топтыгина А. П.**

*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

**Аннотация.** Массовая вакцинация против кори является единственным способом решить поставленную ВОЗ задачу элиминации кори. С целью проанализировать особенности гуморального и клеточного иммунитета в ответ на вакцинацию против вируса кори у 19 серонегативных взрослых оценивали специфический клеточный иммунитет к вирусу кори по экспрессии CD107a на CD8<sup>+</sup> лимфоцитах в реакции специфической дегрануляции. У 57,89% обследованных специфический клеточный иммунитет к вирусу кори был выявлен. Тем не менее, все 19 человек были привиты живой коревой вакциной. Через 6 недель после вакцинации методом ИФА у всех привитых были обнаружены защитные уровни специфических IgG – 3,0 (1,36–4,1) МЕ/мл (Me (LQ-UQ)), а также специфические IgA. По уровню avidности антител и соотношению субклассов IgG1 и IgG3 привитых разделили на отвечающих первичным иммунным ответом (9 человек) и вторичным иммунным ответом (10 человек). Сопоставление полученных данных с результатами оценки специфического клеточного иммунного ответа на вакцинацию позволило заключить, что 63,15% исследуемых имели иммунологические свидетельства, подтверждающие наличие прививок против кори в детстве, но потеряли защитные уровни антител в процессе жизни. В то же время 36,85% обследованных не имели ни гуморального, ни клеточного иммунитета против кори до вакцинации и ответили на прививку первичным типом иммунного ответа, что свидетельствует либо об отсутствии прививок от кори, либо о полной потере как гуморального, так и клеточного противокорьевого иммунитета. Эти люди формируют группу риска восприимчивую к вирусу кори.

### **THE IMMUNE RESPONSE TO MEASLES VACCINATION IN ADULTS**

**Andreev Yu. Yu., Topotygina A. P.**

*G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Abstract.** Mass vaccination against measles is the only way to tackle WHO's goal of eliminating measles. In order to analyze the features of humoral and cellular immunity in response to vaccination against measles virus, we assessed specific cellular immunity by CD107a expression on CD8<sup>+</sup> lymphocytes in specific degranulation reaction in a group of 19 seronegative adults. Specific cellular immunity to measles virus was detected in 57.89% of the examined adults. All 19 people were vaccinated with live measles vaccine. At 6 weeks after vaccination, all immunized demonstrated protective levels of specific IgG antibodies – 3.0 (1.36–4.1) IU / ml (Me (LQ-UQ)), as well as specific IgA revealed by ELISA. According to the level of antibody avidity and the ratio of subclasses of IgG1 and IgG3, the vaccinated were divided into groups with a primary immune response (9 people) and a secondary immune response (10 people). Comparison of the obtained data with the results of the evaluation of a specific cellular immune response to vaccination led to the conclusion that 63.15% of the examined had immunological evidence of measles vaccinations in childhood, but protective levels of antibodies were lost during life. At the same time, 36.85% of the examined had neither humoral, nor cellular immunity against measles before the vaccination and responded to the vaccination with a primary type of immune response, which indicates either absence of measles vaccination in childhood or a complete loss of both humoral and cellular anti-measles immunity. These people form a high-risk group susceptible to the measles virus.

**Введение.** Корь является высоко контагиозным, тяжелым заболеванием. Ежегодно от кори погибает более 100 000 человек. Вспышки коревой инфекции зачастую принимают форму эпидемий. Благодаря выполнению программы ВОЗ по элиминации кори, включающей массовую вакцинацию против кори, сформировался позитивный, устойчивый тренд на снижение заболеваемости корью. Однако добиться полной элиминации этой инфекции не удаётся. Напротив, в 2016–2018 гг. был зарегистрирован значительный подъём заболеваемости как среди не привитых детей, так и среди взрослых [1]. Ухудшение эпидемиологической картины привело к активизации работы по серомониторингу населения. В результате была выявлена группа потенциально восприимчивых к инфекции вызываемой вирусом кори [2]. Эту группу составили люди в возрасте 18–30 лет, которые были привиты и ревакцинированы в детстве, однако более 30% из них не имели протективного уровня IgG. Наблюдаемый эпидемиологический сдвиг заболеваемости, заслуживает дополнительного анализа так как он выступает в качестве негативного фактора, поддерживающего эпидемиологическую нестабильность в регионе, и препятствует элиминации инфекции кори.

**Целью** работы явилось изучение иммунного ответа на вакцинацию против кори у здоровых серонегативных взрослых.

**Материалы и методы.** Девятнадцать здоровых взрослых, не имевших антител против кори в возрасте 18–30 лет были обследованы на наличие специфического клеточного иммунитета на антигены вируса кори до вакцинации, затем все эти люди были привиты против кори вакциной коревой культуральной живой («Вектор», Россия, серия М231, годность 11.2019), согласно инструкции 0,5 мл подкожно однократно. Через 6 недель после вакцинации было проведено повторное исследование уровня специфических антител и специфического клеточного иммунитета против вирусов кори. Работа была одобрена локальным этическим комитетом ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, обследованные подписывали информированное согласие на участие в исследованиях. Взятие крови осуществляли из локтевой вены в количестве 4 мл в пробирки с гелем и с гепарином натрия. Сыворотку крови, полученную центрифугированием, разливали в пробирки типа Эппендорф, замораживали и хранили до использования при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Специфические IgG-антитела в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью тест-систем фирмы Вектор-Бест (Россия) «ВектоКорь IgG», и оценивали согласно инструкции производителя. Субклассы специфических IgG-антител и специфические IgA-антитела определяли также методом ИФА в модификации [3]. Оценку специфического клеточного иммунитета к антигенам вируса кори осуществляли по ранее описанному методу [4]. Фракцию мононуклеаров выделяли методом градиентного центрифугирования. Полученные лимфоциты культивировали в среде RPMI-1640 с 10% эмбриональной телячьей сывороткой с добавлением, или без (контроль) антигенов вирусов кори при  $37^{\circ}\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  и 100% влажности. Клетки окрашивали FITC-мечеными антителами к CD8 и CD107a-PE-Cy5. С помощью анализа на проточном цитометре FACSCantoII (технологии и программное обеспечение Becton Dickinson, США) выявляли процент дважды положительных клеток, которые соответствовали дегранулировавшим цитотоксическим Т-лимфоцитам, распознавшим коревой антиген. Уровень спонтанной дегрануляции не превышал 1%. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке.

**Результаты и обсуждение.** Все обследованные не имели защитного уровня антител против вируса кори ( $<0,2$  МЕ/мл). У 10 человек имелись анамнестические данные о вакцинации против кори в детском возрасте. Специфический клеточный ответ на антигены вирусов кори до вакцинации был выявлен у 57,89% обследованных лиц, у 31,58% специфического клеточного иммунного ответа на антигены кори обнаружено не было, а у 10,52% ответ был расценен как сомнительный.

Через 6 недель после вакцинации все привитые выработали специфические антитела против вируса кори в защитном количестве. Средний уровень антител против вируса кори составил для IgG-антител 3,0 (1,36–4,1) МЕ/мл (Ме (LQ-UQ)). Примерно у половины исследуемых (52,6%) иммунный ответ характеризовался повышенным уровнем продукции

высокоавидных антител (81,96%) преимущественно IgG1 субкласса, что типично для вторичного типа иммунного ответа (группа 2) [5]. У 47,4% наблюдалось превалирование синтеза субкласса IgG3 над IgG1 при низкой авидности (40,44%), что характерно для первичного иммунного ответа (группа 1) [5]. Также были выявлены специфические IgA-антитела, составившие 0,72 (0,47–1,04) МЕ/мл (Ме (LQ-UQ)) для группы 1 и 0,52 (0,40–1,34) МЕ/мл (Ме (LQ-UQ)) для группы 2.

В группе 2 у всех обследованных через 6 недель после вакцинации обнаружен специфический клеточный иммунный ответ на антигены вирусов кори. При этом до вакцинации этот параметр составлял 2,1%, а через 6 недель после прививки – 3,1%. В группе 1 у 75% привитых был выявлен специфический клеточный иммунный ответ на антигены вируса кори, который составил 1,93%, а у 25% клеточный ответ был расценен как сомнительный. Полученные результаты свидетельствуют, что люди, вошедшие в группу 2, по-видимому, были действительно привиты в детстве от кори, но в процессе жизни потеряли пул долгоживущих плазматических клеток, продуцировавших противокоревые антитела, однако 90% из них сохранили специфические Т-клетки памяти и все они сохранили специфические В-клетки памяти, имевшие перестроенные ВСР. Именно поэтому при ответе на коревую вакцину мы получили хороший Т-клеточный иммунный ответ и высокоавидные антитела преимущественно IgG1 субкласса. В то же время, люди, вошедшие в группу 1, не имели ни долгоживущих плазматических клеток, специфичных к антигенам вируса кори, ни соответствующих В-клеток памяти, поэтому они продемонстрировали первичный тип иммунного ответа на прививку. Можно думать, что они не были привиты в детстве от кори, но у половины из них имелись сведения о такой прививке. Интересно, что у двух человек этой группы до вакцинации был обнаружен специфический клеточный иммунный ответ на антигены вируса кори, что может свидетельствовать о наличии прививки от кори в детском возрасте. По-видимому, эти два человека утратили в процессе жизни и плазматические клетки, производившие противокоревые антитела, и В-клетки памяти, но сохранили специфические Т-клетки памяти, поэтому они продемонстрировали первичный гуморальный иммунный ответ, развившийся *de novo*, и бустировали специфический клеточный иммунный ответ (1,64% против 1,24%).

**Заключение.** Таким образом, в результате проведенной работы было показано, что группа серонегативных к антигенам вируса кори взрослых неоднородна по своей структуре. Так 63,15% имели иммунологические свидетельства, подтверждающие наличие прививок против кори в детстве, но потеряли защитные уровни антител в процессе жизни. В то же время 36,85% обследованных не имели ни гуморального, ни клеточного иммунитета против кори до вакцинации и ответили на прививку первичным типом иммунного ответа, что свидетельствует либо об отсутствии прививок от кори, либо о полной потере как гуморального, так и клеточного противокорьевого иммунитета. В любом случае эти 36,85% обследованных взрослых не были защищены от кори и были потенциально восприимчивы к вирусу кори.

#### Литература:

1. Голубкова А.А. Эпидемический процесс коревой инфекции в период ее элиминации и стратегические направления контроля в условиях реального времени / А.А. Голубкова, Т.А. Платонова, А.Н. Харитонов, А.Г. Сергеев, Е.В. Леленкова, Т.С. Южанина // Пермский медицинский журнал. – 2017. – Т 34. № 4. – С. 67–73.
2. Ноздрачева А.В. Распространенность антител к вирусам кори, краснухи и эпидемического паротита в организованных коллективах взрослых. / А.В. Ноздрачева, С.Н. Кузин, В.В. Рыбин, А.А. Грицик, В.А. Заволожин, Т.А. Семенов // Инфекция и иммунитет. – 2017. № 19. – С. 284.
3. Топтыгина А.П. Спектр субклассов противокоревых иммуноглобулинов G у лиц, перенесших корь / А.П. Топтыгина, А.Л. Пухальский, Т.А. Мамаева, В.А. Алешкин // Бюлл. экспер. биол. – 2004. – Т. 137. № 3. – С. 293–295.

4. Топтыгина А.П. Формирование и поддержание специфического клеточного ответа на вакцинацию «Приорикс» / А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, В.А. Алешкин // Иммунология. – 2013. – Т. 34. № 5. – С. 257–261.
5. Топтыгина А.П. Сопоставление первичного и вторичного гуморального иммунного ответа на вакцинацию «Приорикс» / А.П. Топтыгина, В.А. Алешкин // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3. № 4. – С. 359–364.

УДК: 57.088.1

**КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭНДОЦИТОЗА  
РАЗЛИЧНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ**  
**Бабайкина О. Н., Талаев В. Ю., Заиченко И. Е., Талаева М. В., Воронина Е. В.,  
Соловьева И. В., Белова И. В., Точилина А. Г.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Данная работа посвящена изучению взаимодействия микроорганизмов с дендритными клетками с целью подбора потенциальных бактериальных векторов для пероральных вакцин. Для отбора таких микроорганизмов сравнивали их поглощение дендритными клетками в моделях *in vitro*, воспроизводящих первый этап индуктивной фазы иммунного ответа. Эндоцитоз оценивали по поглощению флуоресцентно меченых инактивированных микроорганизмов незрелыми дендритными клетками с помощью лазерной проточной цитометрии. Было показано, что *B. cereus* эффективно поглощается дендритными клетками, *C. albicans* существенно уступает *B. cereus* по эффективности эндоцитоза, *S. boulardii* обладает умеренной способностью поглощаться дендритными клетками, *E. coli* и *E. faecalis* практически не поглощаются ими. При эндоцитозе лактобактерии поглощаются большим количеством дендритных клеток, но приносят в клетки малое количество микробного материала.

**QUANTIFICATION OF ENDOCYTOSIS OF VARIOUS MICROORGANISMS  
BY DENDRITIC CELLS**

**Babaykina O. N., Talayev V. Yu., Zaichenko I. E., Talayeva M. V., Voronina E. V.,  
Soloveva I. V., Belova I. V., Tochilina A. G.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** This paper is devoted to the study of the interaction of microorganisms with dendritic cells in order to select potential bacterial vectors for oral vaccines. For the selection of such microorganisms, their uptake by dendritic cells in *in vitro* models reproducing the first stage of the inductive phase of the immune response was compared. Endocytosis was assessed by uptake of fluorescently labeled microorganisms by immature dendritic cells using laser flow cytometry. It was shown that *B. cereus* is effectively absorbed by dendritic cells, *C. albicans* is significantly inferior to *B. cereus* in terms of the efficiency of endocytosis, *S. boulardii* has a moderate ability to be absorbed by dendritic cells, *E. coli* and *E. faecalis* are practically not. Lactobacilli are absorbed by a large number of DCs, but with endocytosis they bring small amounts of microbial material into the cells.

**Введение.** Исследование молекулярных механизмов представления антигена иммунной системе позволяет проводить поиск адъювантов вакцин не эмпирически, а на основании знания фундаментальных принципов биологии. Дендритные клетки (ДК) играют ключевую роль на стадии инициации первичного иммунного ответа на инфекцию или вакцину – незрелые ДК собирают антигены с помощью эндоцитоза, проходят процесс функционального созревания и приобретают способность вовлекать наивные Т-лимфоциты в иммунный ответ.

Слизистые оболочки являются входными воротами для большинства инфекций, и вакцины, индуцирующие эффективную защиту слизистых, теоретически могут

предотвращать развитие инфекции на самом раннем этапе патогенеза – этапе адгезии микроорганизмов. Сложность разработки таких вакцин обусловлена невозможностью индуцировать протективный мукозальный иммунитет парентеральным введением вакцин или нанесением антигенов на поверхность слизистой. До недавнего времени единственным способом индукции мукозального иммунитета являлось инфицирование слизистых живыми микроорганизмами вакцинных штаммов патогенов. Однако получение вакцинных штаммов является трудоемкой, а для некоторых патогенов – практически неразрешимой задачей. Достижения молекулярной биологии позволяют использовать для этой цели векторы – практически безвредные вирусы или бактерии, содержащие генетический материал от другого микроорганизма, являющегося причинно-значимым для развития заболевания, к которому необходимо создание протективного иммунитета. Подобные исследования проводятся с ослабленными бактериями, в частности, сальмонеллами, как носителями частиц вируса гепатита В. Хотя в настоящее время рекомбинантные векторные вакцины еще не получили широкого распространения, данное направление является перспективным.

По нашему мнению, критериями отбора потенциальных векторов для пероральных вакцин должны быть: отсутствие патогенных свойств, способность к персистенции в кишечнике, способность индуцировать иммунную реакцию, отсутствие выраженных толерогенных свойств, а также – доступность для поглощения антигенпрезентирующими клетками. **Цель** данной работы – оценить эффективность эндоцитоза различных микроорганизмов ДК – наиболее активными антигенпрезентирующими клетками нашего организма [1-4].

**Материалы и методы.** В работе использовали микроорганизмы, способные к временной или длительной персистенции в кишечнике: *Escherichia coli* штамм M17, *Bacillus cereus* штамм IP5832, *Lactobacillus fermentum* штамм 39, *L. fermentum* штамм 90 TC-4, *L. plantarum* штамм 8RA-3, *Enterococcus faecalis* штамм B114, *Saccharomyces boulardii* штамм CNCMI-745, *Candida albicans*. *E. coli* выращивали на среде Эндо, затем пересекали на среду Олькеницкого. *B. cereus* и *E. faecalis* выращивали на МПА, *S. boulardii* и *C. albicans* – на среде Сабуро без антибиотиков, микроорганизмы рода *Lactobacillus* – в среде MPC-1. Микроорганизмы собирали из односуточных культур, отмывали. Концентрацию микроорганизмов определяли по стандарту мутности МакФарланда и с помощью камеры Горяева. Также производили высев на соответствующие среды для уточнения концентрации. Клетки разводили на PBS до концентрации  $10^8$  кл/мл и окрашивали флуорофором CFSE (eBioscience, США). Затем бактерии отмывали от красителя и проводили убивку максимально щадящим методом, сохраняющим их целостность. *E. coli*, *S. boulardii* и *C. albicans* инактивировали прогреванием при  $65^\circ\text{C}$  в течение 30 мин., *B. cereus* и *E. faecalis* – автоклавированием при 1,2 атм. 8 мин, *L. fermentum* и *L. plantarum* – нагреванием при  $70^\circ\text{C}$  в течение 45 мин. Эффективность инактивации определяли путем контрольного высева на питательные среды.

Незрелые ДК получали из моноцитов периферической крови взрослых здоровых доноров с помощью 7-суточного культивирования с рекомбинантными человеческими цитокинами – интерлейкином-4 и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором. Использованная модификация метода подробно описана нами ранее [5]. Незрелые ДК собирали и пересекали в лунки 96-луночных планшетов в среде RPMI-1640 (Gibco, Великобритания) с 10% эмбриональной телячьей сывороткой. Флуоресцентно меченые микроорганизмы вносили в конечной концентрации  $10^5$ ,  $10^6$  и  $10^7$  кл/мл в лунки с ДК и инкубировали 2 часа при  $37^\circ\text{C}$  и 5%  $\text{CO}_2$ . Контролем служили лунки с ДК без микроорганизмов. Затем ДК собирали, переводили в буферный раствор для цитометрии и анализировали на лазерном проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD, США).

**Результаты и обсуждение.** Оценку эндоцитоза микроорганизмов проводили по двум параметрам: количеству ДК, поглотивших микроорганизмы, и среднему количеству микробного материала, поглощенного каждой активной клеткой (геометрической средней

интенсивности флуоресценции ДК). Для большинства использованных микроорганизмов эндоцитоз демонстрировал дозозависимый характер. При инкубировании ДК с высокой концентрацией микроорганизмов ( $10^7$  кл/мл) большинство ДК поглощает *B. cereus* и *L. fermentum* штамм 39, более половины ДК поглощает *L. fermentum* штамм 90 ТС-4, *L. plantarum* эндоцитируется меньшим количеством клеток. Грибы *C. albicans* и, особенно, *S. boulardii* поглощались существенным количеством ДК. Так, при концентрации этих микроорганизмов  $10^6$  кл/мл их поглотили около половины ДК культур. Однако эндоцитоз *C. albicans* не приводил к достоверному изменению флуоресценции каждой клетки, что свидетельствует о том, что каждая ДК поглощает малое количество микробного материала. Наконец, ДК практически не эндоцитируют *E. coli* и *E. faecalis*. Инкубирование ДК с *E. faecalis* в концентрации  $10^5$  кл/мл не приводило к поглощению бактерий и лишь при концентрации этих микроорганизмов  $10^6$  кл/мл обнаруживалось небольшое количество ДК, поглотивших микроорганизмы. Интенсивность эндоцитоза *E. coli* и *E. faecalis* была столь слаба, что не приводила к приросту средней геометрической интенсивности флуоресценции ДК. При использовании *B. cereus* рост интенсивности флуоресценции достоверен при всех использованных концентрациях микроорганизма и носит выраженный дозозависимый характер. Хотя *B. cereus* за 2 ч. инкубации поглощает относительно небольшая часть дендритных клеток, но каждая активная в этом отношении дендритная клетка поглощает большое число бактерий. Этот результат свидетельствует о гетерогенности незрелых ДК по эффективности эндоцитоза *B. cereus*, которая может быть связана с различиями в экспрессии рецепторов, ассоциированных с фагоцитозом. *L. plantarum* и, особенно, *L. fermentum* эндоцитируется большим количеством ДК, однако количество микробного (антигенного) материала, поступающего при этом в ДК существенно меньше, чем при эндоцитозе *B. cereus* и *S. boulardii*. Представляется вероятным, что ограничение эндоцитоза микроорганизмов антигенпрезентирующими клетками являются одним из механизмов, обеспечивающих иммунную толерантность к бактериям нормофлоры.

**Заключение.** Таким образом, показано, что представители нормальной микрофлоры кишечника *E. coli* и *E. faecalis* слабо поглощаются ДК и не могут быть использованы для доставки антигенного материала векторных вакцин. *L. plantarum*, *L. fermentum* и грибы *C. albicans* эндоцитируются большим количеством ДК, однако количество материала, доставляемого этими микроорганизмами в каждую клетку, невелико. *B. cereus* и *S. boulardii* эффективно поглощаются дендритными клетками. Пул ДК получает наибольшее количество микробного материала при эндоцитозе *B. cereus*, однако распределение этого материала между дендритными клетками отличается выраженной неравномерностью. На основании полученных данных мы планируем продолжить поиск потенциальных векторов среди бактерий рода *Bacillus*, расширив список исследуемых микроорганизмов и оцениваемых параметров их активности.

#### Литература:

1. Steinman R.M. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 1991. V. 9. P. 271–296.
2. Mellman I., Steinman R.M. Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines. *Cell.* 2001. V. 106. P. 255–258.
3. Savina A., Amigorena S. Phagocytosis and antigen presentation in dendritic cells. *Immunol. Rev.* 2007. V. 219. P. 143–156.
4. Пащенко М.В., Пинегин Б.В. Физиология клеток врожденной иммунной системы: дендритные клетки. *Иммунология.* 2006. Т. 27. № 6. С. 368–378.
5. Плеханова М.В., Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Заиченко И.Е., Ефимов Е.И. Действие вакцин против туберкулеза и гепатита В на фенотипические и функциональные свойства дендритных клеток новорожденных *in vitro*. *Иммунология.* 2012. Т. 33. № 6. С. 311–318.

**ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ АДЬЮВАНТОВ  
НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ С ВАКЦИННЫМ ШТАММОМ *YERSINIA PESTIS* EV  
НИИЭГ НА КЛЕТКИ APUD-СИСТЕМЫ В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ  
БИМОДЕЛИ**

**Бугоркова С. А., Ключева С. Н., Кравцов А. Л., Щуковская Т. Н.**

*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора, Саратов, Россия*

**Аннотация.** Изучена реакция клеток APUD-системы лимфоидных органов мышей при сочетанном введении вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ с различными иммуномодуляторами. Вакцинный процесс моделировали на мышах линии BALB/c, в качестве иммуномодуляторов использовали Полиоксидоний (азоксимера бромид) или Даларгин (гексапептид Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg). Изучена реакция апудоцитов в лимфатических узлах и селезенке биомоделей в условиях моделирования вакцинного процесса. Определена динамика изменения количества клеток APUD-системы в разные периоды иммуногенеза при использовании различных схем сочетанного применения вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ с иммуномодуляторами. Установлена заинтересованность этого сегмента APUD-системы при противочумной вакцинации и информативность количественной оценки апудоцитов при сравнении эффективности применения различных схем иммунизации.

**CHARACTERIZATION OF THE EFFECT OF THE COMBINED USING NEW  
GENERATION ADJUVANTS AND VACCINE STRAIN *YERSINIA PESTIS* EV NIEG  
ON THE APUD-SYSTEM CELLS OF THE LYMPHOID ORGANS**

**Bugorkova S. A., Klyueva S. N., Kravtsov A. L., Shchukovskaya T. N.**

*Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** Was studied the reaction of the APUD-system cells lymphoid organs of mice with the combined administration of the vaccine strain *Yersinia pestis* EV NIEG and various immunomodulators. The vaccine process was modeled in mice line BALB/c, as immunomodulators used polyoxidonium (azoxemera bromide) or dalarginum (Hexapeptide Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg). Studied the reaction of apudocytes in lymph nodes and spleen of modeling the vaccine process in mice. Was determined dynamics of changes in the number of APUD system cells in different periods of immunogenesis using various schemes of combined use of the immunomodulators and vaccine strain *Y. pestis* EV NIEG. Shown the interest of this segment of the APUD-system in anti-plague vaccination and informative quantitative evaluation of apudocytes in comparing the effectiveness of different immunization schemes.

**Введение.** APUD-система – это одна из систем реагирования, контроля и защиты организма [5]. Поиск структурных и функциональных взаимосвязей между клетками APUD- и иммунной системами обусловлен данными об участии продуктов секреции апудоцитов в модуляции иммунных реакций, протекающих в эффекторном звене иммунного ответа.

Для иммунопрофилактики чумы на территории Российской Федерации применяют вакцину живую чумную (ВЧЖ) на основе вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Одним из способов воздействия на механизмы пролонгации напряженного иммунитета при чуме является включение в схему специфической профилактики иммуномодуляторов [2]. Ведущее значение в защите от чумы играет клеточное звено иммунитета, но роль неспецифического – нейрогуморального пути регуляции иммунного ответа при противочумной вакцинации уточняется [1].

**Цель** – оценить реакцию клеток APUD-системы лимфоидных органов биомодели на сочетанное введение вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ с различными иммуномодуляторами.



**Материалы и методы.** Мышей (30 особей) линии BALB/c иммунизировали двухсуточной агаровой культурой вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ подкожным способом в дозе  $2,5 \times 10^4$  КОЕ в объеме 0,2 мл отдельно и в сочетании с иммуномодуляторами: Полиоксидоний (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия) в дозе 4 мкг или Даларгин (НПО Микроген, Россия) в дозе 2 мкг. За животными наблюдали 21 день, забирая гистологический материал на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки после иммунизации. В качестве контроля были взяты интактные мыши (10 особей). Кусочки селезенки и регионарные лимфатические узлы фиксировали в 10% водном нейтральном растворе формалина, выполняли стандартную процедуру подготовки гистологического материала [3], полутонкие парафиновые срезы импрегнировали серебром по Гримелиусу – для выявления аргирофильных клеток [4]. Статистическую обработку результатов производили с помощью пакета компьютерных программ «Microsoft Excel 2010».

**Результаты и обсуждение.** Количественная характеристика реакции апудоцитов на иммунизацию в сочетании с иммуномодуляторами представлена в таблице.

**Таблица.** Динамика реакции клеток APUD-системы мышей, иммунизированных культурой вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ в дозе  $2,5 \times 10^4$  м.к.

Орган	Вид обработки	Сутки наблюдения			
		3	7	14	21
Лимфатический узел	<i>Y. pestis</i> EV	4,1±1,30	4,9±0,64	5,5±1,20*	4,4±1,10
	<i>Y. pestis</i> EV и Полиоксидоний	3,8±0,75	5,6±1,20*	6,2±1,40*	7,8±1,07*
	<i>Y. pestis</i> EV и даларгин	3,6±0,62	4,5±0,82	4,2±0,92	4,7±0,64
	Интактный контроль	2,9±1,85	2,8±1,42	2,9±0,89	2,7±0,64
Селезенка	<i>Y. pestis</i> EV	5,0±1,90	7,5±0,92*	8,4±1,20*	9,7±1,62*
	<i>Y. pestis</i> EV и Полиоксидоний	7,1±1,04*	9,5±1,40*	7,5±0,89*	8,6±1,69*
	<i>Y. pestis</i> EV и даларгин	4,9±0,94	7,2±0,80*	7,1±0,67*	9,4±0,32*
	Интактный контроль	2,8±0,65	2,7±0,32	2,7±0,64	2,9±0,89

\* – достоверность различий по отношению к интактному контролю ( $p < 0,05$ )

В лимфатических узлах иммунизированных мышей гиперпластическую реакцию в кортикальной и паракортикальной зонах начиная с 3-х суток сопровождало планомерное увеличение количества апудоцитов. В среднем количество клеток APUD-системы у иммунизированных мышей увеличивалось в 1,5–2,9 раза по сравнению с интактным контролем. Выраженную реакцию апудоцитов отмечали с 14-х суток иммуногенеза, максимальной она была в группе мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV линии НИИЭГ в сочетании с Полиоксидонием.

В селезенке на фоне умеренной реакции в Т-зонах и нарастающей гиперплазией клеток белой и красной пульпы после 7-х суток наблюдения, более раннее и достоверное увеличение количества апудоцитов отмечали только при сочетанной иммунизации *Y. pestis* EV с Полиоксидонием. Начиная с 14-х суток значимого отличия в реакции апудоцитов в опытных группах не регистрировали.

**Заключение.** Характеристика состояния апудоцитов в лимфоидных органах мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV в сочетании с иммуномодуляторами, свидетельствует о заинтересованности этого сегмента APUD-системы в иммуногенезе, позволяет сравнивать реакцию апудоцитов при использовании различных по механизму иммуномодулирующего воздействия препаратов и отбирать на этом основании наиболее эффективные схемы их применения.

#### Литература:

1. Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Морфофункциональная оценка состояния клеток APUD-системы биомодели при характеристике противочумного вакцинного процесса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 4. – С. 49–55.

2. Бугоркова С.А., Курьлина А.Ф., Щуковская Т.Н. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентных органов мышей линии BALB/c при иммунизации вакцинным штаммом *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 2. – С. 58–62.
3. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. – СПб., 2010. – 95 с.
4. Микроскопическая техника. Руководство / под редакцией Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М., 1996. – 544 с.
5. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. – М., 2008. – 512 с.

УДК: 616.98:578.824.11

**СОВРЕМЕННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА  
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПОСТЭКСПОЗИЦИОННОЙ  
ПРОФИЛАКТИКИ БЕШЕНСТВА – АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА**

**Генералов С. В., Абрамова Е. Г., Гаврилова Ю. К., Жулидов И. М., Никифоров А. К.**  
*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора, Саратов, Россия*

**Аннотация.** Проведен анализ современных направлений в области совершенствования биотехнологии получения антирабического иммуноглобулина. Показана перспектива применения различных схем получения препаратов, содержащих антирабические антитела. Обозначена необходимость модернизации методов, используемых при проведении контрольных испытаний препарата.

**CURRENT BIOTECHNOLOGIES OF IMMUNOBIOLOGICAL PRODUCTION  
FOR THE POSTEXPOSITION PREVENTION OF RABIES – ANTIRABIC  
IMMUNOGLOBULIN**

**Generalov S. V., Abramova E. G., Gavrilova Yu. K., Zhulidov I. M., Nikiforov A. K.**  
*Russian Anti-Plague Research Institute «Microbe», Saratov, Russia*

**Abstract.** The analysis of modern trends in the field of improving biotechnology for obtaining rabies immunoglobulin has been carried out. Shows the prospect of using different schemes for obtaining drugs containing rabies antibodies. Indicated the need to modernize the methods used in the control tests of the drug.

Бешенство – опасная природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся поражением центральной нервной системы и абсолютной летальностью. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), бешенство занимает одно из первых мест среди зоонозных инфекций, наносящих наибольший экономический ущерб. В совокупности наносимый ущерб складывается из потерь от падежа животных; затрат на отлов бродячих животных; вакцинацию животных; проведение диагностических исследований; постэкспозиционное лечение пациентов, контактировавших с больными или подозрительными на бешенство животными; проведение профилактических и карантинных мероприятий. Ежегодно от бешенства в мире погибает до 60 тыс. человек. Российская Федерация относится к странам с относительно высоким уровнем риска заражения человека вирусом бешенства посредством контактов с животными [14].

Единой мировой тактикой предотвращения заболевания людей бешенством является своевременное введение пациенту антирабических препаратов – вакцины и антирабического иммуноглобулина (АИГ) при укусах опасной локализации бешенства. Введение АИГ решает задачу формирования защитного эффекта в промежутке между введением антирабической вакцины и проявлением собственного активного иммунитета [4].

Впервые противовирусная активность антирабической сыворотки была установлена В. Бабешом и М. Леппом в 1889 г. Результаты ее применения носили недостаточно

убедительный характер. Полученные образцы сыворотки имели низкий титр специфических антител, в результате чего для лечения могли быть использованы большие объемы антирабической сыворотки от 80 до 160 мл. В 1945 г. К. Habel методом осаждения сульфатом аммония получил препарат с высокой концентрацией антирабических антител и установил эффективность применения антирабической сыворотки для предупреждения заболевания бешенством [4, 7]. Спустя десятилетие М.А. Селимовым разработана технология производства очищенной гамма-глобулиновой фракции антирабической сыворотки. Эффективность препарата, полученного по указанной технологии, была подтверждена испытаниями по программе ВОЗ, проведенными в Иране в 50-е годы прошлого века. Результаты этих испытаний легли в основу современного комбинированного метода лечения для предупреждения бешенства у людей после укусов животных [1, 7].

В России единственным производителем гетерологичного АИГ является ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, объем производства которого на 70% удовлетворяет потребности Российской Федерации [5]. В Государственном Реестре лекарственных средств Российской Федерации на сегодняшний день также зарегистрированы препарат гетерологичного АИГ ЗАО «Биолек» (Украина) и два препарата гомологичного АИГ (ООО «Сычуаньская Юанда Шуян Фармацевтическая компания», Китай; «Kamada ltd», Израиль). Гомологичный препарат антирабического иммуноглобулина считается более безопасным в иммунологическом отношении по сравнению с гетерологичным препаратом. Однако, недостатком гомологичного препарата является его высокая стоимость, связанная с поиском доноров человеческой сыворотки, небольшими объемами производимого препарата, а также необходимостью проведения контрольных испытаний на вирусные заболевания, такие как ВИЧ, вирусные гепатиты и др [4].

По мнению экспертов ВОЗ, гетерологичный АИГ, получаемый из сыворотки животных, преимущественно лошадей, является достойной альтернативой гомологичному препарату. Использование гетерологичного АИГ ежегодно спасает сотни тысяч жизней по всему миру. Современные методы очистки, применяемые при производстве препарата, позволяют снизить процент нежелательных побочных реакций у пациентов, тем не менее, проблема реактогенности гетерологичного АИГ диктует развитие целого ряда направлений совершенствования комбинированной профилактики бешенства.

Для снижения реактогенности гетерологичного АИГ получили развитие несколько направлений: совершенствование методов очистки; получение препарата на основе F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов высокоочищенного гетерологичного иммуноглобулина. К настоящему времени в мировой и отечественной биотехнологической практике, в том числе в институте «Микроб» разработана технология получения высокоочищенного гетерологичного АИГ на основе F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов с низкими анафилактическими свойствами [3]. За рубежом препарат на основе F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов АИГ Favirab эффективно применяют для постэкспозиционной профилактики бешенства у людей на Филиппинах [12].

Одним из направлений совершенствования качества гетерологичного АИГ является применение для иммунизации животных-продуцентов рабического антигена на основе культурального вируса. Антирабическую сыворотку от лошадей с применением в качестве антигена культуральных вакцин получают в Индии. Для этих целей используют вакцины из клеток куриных эмбрионов Rabipur (Индия) и вакцину PVRV (Франция) на основе virus fixe, репродуцированного на перевиваемых клетках Vero [8]. Применение клеток Vero и культурального вируса бешенства экспериментально обосновано и для производства гетерологичного АИГ в РосНИПЧИ «Микроб» [2].

Как способ снижения реактогенности препарата, рассматриваются способы получения антирабических гетерологичных сывороток от животных других видов [9, 13]. Получены препараты кроличьего и овечьего АИГ со сниженной реактогенностью, также предложена технология получения авианизированных антител из желтка яиц иммунизированных кур [10].

Важным вопросом является исследование эффективности использования моноклональных антител для постэкспозиционной профилактики бешенства в качестве альтернативы антирабическому иммуноглобулину. Эксперты ВОЗ для постэкспозиционной профилактики бешенства рекомендуют использовать коктейль из моноклональных антител, содержащий по меньшей мере два антитела против вируса бешенства [11, 14].

Альтернативным путем получения антирабических антител является использование рекомбинантных технологий. Разработаны подходы к конструированию рекомбинантных антигенсвязывающих фрагментов антирабических антител, которые могут являться прототипом терапевтического средства для профилактики бешенства [6]. Тем не менее, рекомбинантные антирабические антитела не используются в клинической практике ни в одной стране мира. Причинами отсутствия практической базы являются использование сложных методов получения больших объемов препарата и необходимость проведения контрольных испытаний, что также сказывается на их стоимости.

Рассматривая вопросы, связанные с совершенствованием биотехнологии российского производства АИГ, следует отметить актуальность модернизации методов, применяемых для проведения контрольных исследований в производстве. Данное обстоятельство связано и с возрастанием требований к лекарственным препаратам, а также необходимостью гармонизации отечественных и зарубежных фармакопейных документов. Основные задачи связаны с разработкой и внедрением методов *in vitro* для определения специфической активности АИГ и активности вируса бешенства, обоснованием, а также экспериментальным обоснованием расширения перечня показателей качества готового препарата по показателям «молекулярные параметры» и «осмолярность».

Достигнутые успехи открывают новые перспективы и задают вектор последующих исследований по конструированию новых эффективных и безопасных препаратов для предупреждения бешенства, а также методов их контроля. Расширение спектра антирабических иммунобиологических препаратов, внедренных в медицинскую практику, будет способствовать полной ликвидации смертности людей от бешенства.

#### Литература:

1. Ботвинкин А.Д., Михайловский Е.М. М.А. Селимов: вклад в разработку вопросов профилактики бешенства, личность как ученого и человека (к 100-летию со дня рождения, 1918–2001) // Вопросы вирусологии. 2018. № 6. С. 281–284.
2. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В. и др. Культуральный антиген в технологии получения антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. № 4. С. 65–68.
3. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К. и др. Получение препарата F(ab)<sub>2</sub>-фрагментов антирабического иммуноглобулина с использованием иммобилизованного пепсина // Проблемы особо опасных инфекций. 2008. В. 97. С. 53–56.
4. Мовсесянц А.А., Бутырский А.Ю., Бондарев В.П. и др. К вопросу о применении гетерологичного антирабического иммуноглобулина для специфической профилактики бешенства у людей // Вакцинопрофилактика. 2015. № 5. С. 85–89.
5. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б. и др. Эпидемиологическая обстановка и вопросы идентификации вируса бешенства среди людей на территории Российской Федерации в период 2002–2015 гг. // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 3. С. 27–32.
6. Свешников П.Г., Ягудин Т.А., Морозкина Е.В. и др. Получение гуманизованного Fab-фрагмента нейтрализующего антитела против вируса бешенства // Вестн. Моск. Ун-та. С. 2. Химия. 2010. №3. С. 185–190.
7. Селимов М.А. Бешенство. М.: Медицина, 1978. 336 с.
8. Goel S.K., Sharma S., Singh U. et al. Antibody response to purified chick embryo cell vaccine in equines for production of equine rabies immune globulin // Biologicals. 2003. Vol. 31. P. 233–236.
9. Liu X., Liu Q., Feng X., Tang Q. et al. Rabbit anti-rabies immunoglobulins production and evaluation // Tropical Biomedicine. 2011. V. 28 (1). P. 138–148.

10. Motoi Y., Sato K., Hatta H. et al. Production of rabies neutralizing antibody in hen's eggs using a part of the G protein expressed in Escherichia coli // *Vaccine*. 2005. – V. 23 – P. 3026–3032.
11. Müller T., Dietzschold B., Ertl H. et. al. Development of a mouse monoclonal antibody cocktail for post-exposure rabies prophylaxis in humans // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009. V. 3. P. 1–10.
12. Quiambao B.P., Dytioco H.Z., Dizon R.M. et al. Rabies post-exposure prophylaxis in the Philippines: health status of patients having received purified equine F(ab')(2) fragment rabies immunoglobulin (Favirab) // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2008. V. 28, № 2 (5). P. 243
13. Redwan el-RM, Fahmy A, El Hanafy A. et al. Ovine anti-rabies antibody production and evaluation // *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2009. V. 32. P. 9–19.
14. WHO Expert Consultation on Rabies: third report. WHO technical report series 982. Geneva. 2018. 183 p.

УДК: 57.088.1

### **ВЛИЯНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ НА СОЗРЕВАНИЕ И МИГРАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК**

**Заиченко И. Е., Талаев В. Ю., Талаева М. В., Бабайкина О. Н., Воронина Е. В., Соловьева И. В., Белова И. В., Точилина А. Г.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Основной целью исследования являлась оценка способности микроорганизмов индуцировать фенотипическое созревание и миграционные свойства дендритных клеток. Миграционные возможности оценивались по экспрессии хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5, направляющих дендритные клетки в Т-клеточные или В-клеточные зоны лимфоидных органов. Оценка фенотипического созревания велась по экспрессии мембранных молекул CD83 и CD86, необходимых для взаимодействия дендритных клеток с Т-лимфоцитами. Было установлено, что исследуемые микроорганизмы имеют существенные различия в эффективности взаимодействия с дендритными клетками. *B. cereus* демонстрировали промежуточную эффективность при стимуляции созревания и миграции дендритных клеток. *S. boulardii* и лактобактерии уступали *B. cereus* по способности индуцировать фенотипическое созревание дендритных клеток. *E. coli* чрезвычайно эффективно запускала созревание дендритных клеток, но, при этом, слабо стимулировала экспрессию CCR7. Грибы *C. albicans* наиболее эффективно стимулировали созревание и миграционные свойства, индуцируя экспрессию не только CCR7, но и CXCR5.

### **EFFECT OF MICROORGANISMS ON THE MATURATION AND MIGRATION PROPERTIES OF DENDRITIC CELLS**

**Zaichenko I. E., Talayev V. Yu., Talaeyva M. V., Babaykina O. N., Voronina E. V., Soloveva I. V., Belova I. V., Tochilina A. G.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** Main objective of a research was assessment of ability of microorganisms to induce phenotypical maturing and migration properties of dendritic cells. Migration opportunities were estimated on an expression the chemokine receptors of CCR7 and CXCR5, directing dendritic cells to T-cellular or B-cellular zones of lymphoid organs. Assessment of phenotypical maturing was given on an expression of the membrane molecules CD83 and CD86 necessary for interaction of dendritic cells with T-lymphocytes. It was determined that microorganisms of various groups have essential differences in efficiency of interaction with dendritic cells. Showed to *B. cereus* intermediate efficiency at stimulation of maturing and migration of dendritic cells. *S. boulardii* and lactobacilli inferior to *B. cereus* on ability to induce phenotypical maturing of dendritic cells. *E. coli* extremely effectively promoted the maturation of dendritic cells, but at the same time, poorly stimulated CCR7 expression. *C. albicans* most effectively stimulated maturing and migration properties, inducing an expression not only CCR7 but also CXCR5.

**Введение.** В последнее время особую актуальность приобрели работы, позволяющие оценить способность микроорганизмов служить векторами для живых пероральных вакцин. Для эффективного использования бактериальные векторы должны не только активно доставлять антиген, но и обладать свойствами живых адъювантов – стимуляторов иммунного ответа. В связи с этим, мы изучали способность микроорганизмов воздействовать на начальные этапы иммунного ответа в культуральных моделях.

Ключевую роль в запуске первичного иммунного ответа на инфекцию или вакцинацию играет особая группа антигенпрезентирующих клеток – дендритные клетки (ДК). Эти клетки собирают антигены, транспортируют их в лимфоидные органы и представляют антигены Т-лимфоцитам. Также они снабжают распознанные антиген наивные Т-лимфоциты дополнительными сигналами, которые обеспечивают выживание, размножение и созревание Т-клеток, выбор пути дифференцировки Т-хелперов, что, в конечном итоге определяет тип иммунного ответа [1-4]. Уникальная способность вовлекать наивные Т-лимфоциты в иммунный ответ обусловлена функциональными особенностями ДК. Так называемые незрелые ДК способны эффективно собирать и процессировать антигенный материал, а при распознавании отдельных молекул патогенов быстро менять свои свойства, превращаясь в зрелые ДК [1-6]. Переход в стадию зрелых ДК ведет к ослаблению сбора новых антигенов, но усиливает способность представлять собранные ранее антигены и стимулировать Т-клетки. При этом зрелые ДК экспрессируют большое количество молекул главного комплекса гистосовместимости, а также синтезируют молекулы, необходимые для дополнительной стимуляции рекрутируемых Т-лимфоцитов. К этим молекулам относятся CD80, CD83 и CD86 и др. Кроме того, в ходе созревания ДК утрачивают рецепторы к хемокинам, секретлируемым в зоне воспаления, и приобретают к хемокинам, характерным для лимфоидной ткани [6, 7]. В частности, ДК приобретают хемокиновый рецептор CCR7, направляющий их в Т-клеточные зоны лимфоидных органов [5-8], а в определенных условиях стимуляции дополнительно экспрессируют рецептор CXCR5, отвечающий за миграцию в В-клеточные зоны [9-11]. В результате изменения набора хемокиновых рецепторов клетки покидают очаг инфекции и транспортируют собранные антигены в региональные лимфоидные органы, которые являются местом инициации адаптивного иммунного ответа.

В соответствии с вышеизложенным, в данной работе мы исследовали способность микроорганизмов индуцировать фенотипическое созревание дендритных клеток по экспрессии CD83 и CD86 и приобретение дендритными клетками способности мигрировать в лимфоидные органы, по экспрессии хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5.

**Материалы и методы.** Незрелые ДК получали из моноцитов традиционным способом с помощью культивирования с ИЛ-4 и ГМ-КСФ [10, 11]. На 7 день в культуры незрелых ДК вносили убитые микроорганизмы в концентрациях от  $10^4$  до  $10^8$  кл/мл. Через 2 суток инкубации оценивали экспрессию молекул CD83 и CD86, а также хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5. Изменение экспрессии исследуемых маркеров сравнивали с показателями контрольных нДК, инкубированных в среде без стимуляторов, и зрелых ДК-ЦТК, стимулированных коктейлем провоспалительных медиаторов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , простагландин E2). Для оценки использовали флуоресцентно меченные моноклональные антитела к молекулам CD83, CD86, CCR7 и CXCR5 (eBioscience, США), а также меченые антитела к молекуле HLA-DR (Сорбент, Россия) для выделения гейта ДК. Экспрессия оценивалась с помощью проточного цитофлуориметра FACS Calibur (BD, США).

В работе использовали микроорганизмы видов *E. coli* штамм M17, *B. cereus* штамм IP5832, *S. bouvardii* CNCMI-745, *C. albicans*, *L. fermentum* штамм 39, *L. fermentum* штамм 90 TC-4, *L. plantarum* штамм 8RA-3.

*E. coli* выращивали на среде Эндо с последующим пересевом на среду Олькеницкого. *B. cereus* выращивали на мясо-пептонном агаре, *S. bouvardii* и *C. albicans* на среде Сабуро без добавления антибиотиков. Микроорганизмы рода *Lactobacillus* были в среде МРС-1. Микроорганизмы собирали, разводили в физиологическом растворе, затем определяли

концентрацию по стандарту мутности МакФарланда и в камере Горяева, а затем инактивировали. Инактивацию микроорганизмов проводили наиболее щадящими способами, позволяющими сохранять целостность и морфологию. *E. coli*, *S. boulardii* и *C. albicans* убивали прогреванием при 65°C в течение 30 мин, *B. cereus* – автоклавированием при 1,2 атм. в течение 8 мин. Лактобактерии – нагреванием при 70°C – 45 мин. Эффективность инактивации контролировали с помощью высева на питательные среды.

**Результаты и обсуждение.** В ходе исследования было показано, что все микроорганизмы в максимальных использованных концентрациях индуцируют экспрессию молекул CD83 и CD86, соответствующую показателям ДК-ЦТК, т. е. индуцируют фенотипическое созревание ДК. Для корректного сравнения микроорганизмов использовался расчет концентрации микроорганизмов, вызывающей полумаксимальный прирост экспрессии исследуемых молекул. Для этого строили графики дозовой зависимости экспрессии маркера от концентрации микроорганизма и вычисляли полумаксимальную эффективную концентрацию (EC50) по формуле: (значение ДК-ЦТК – значение нДК)/2+значение нДК. Также рассчитывался показатель активности микроорганизмов по формуле  $10^9/EC50$ .

Полумаксимальный эффект прироста экспрессии маркера созревания CD83 достигается при использовании малых концентраций *E. coli* и *C. albicans*, не превышающих  $10^5$  кл/мл. Эти микроорганизмы имеют наибольшие показатели активности по индукции CD83. *B. cereus* и *S. boulardii* существенно уступают по показателю активности, их EC50 больше  $10^6$  кл/мл. *Lactobacillus* обладают наименьшей способностью индуцировать экспрессию CD83 на ДК.

При оценке действия на экспрессию CD86 наибольшую активность продемонстрировали *E. coli*, с EC50 –  $2,95 \times 10^3$  кл/мл. Следующим по активности оказались *C. albicans* EC50 –  $1,04 \times 10^5$  кл/мл. *B. cereus* обладал промежуточной активностью с EC50 –  $3,04 \times 10^5$  кл/мл. Наименьшая активность была у *S. boulardii* и лактобактерий.

Приобретение дендритными клетками способности мигрировать в лимфоидные органы оценивали по экспрессии хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5. Показано, что для эффективной стимуляции экспрессии CCR7 требуется контакт с большим количеством микроорганизмов, чем при индукции маркеров созревания ДК. Тем не менее, максимальная использованная концентрация *E. coli*, *B. cereus* и *C. albicans* индуцировала экспрессию этого хемокинового рецептора, соответствующую или превышающую уровень зрелых ДК-ЦТК. Сравнение EC50 и показателя активности показало, что наибольшей способностью индуцировать экспрессию CCR7 обладают грибы *C. albicans*. Бактерии *E. coli* и *B. cereus* обладали промежуточной способностью к индукции этого хемокинового рецептора. Наименьшей активностью обладали *S. boulardii* и лактобактерии, которые вызывали полумаксимальный прирост экспрессии лишь в концентрации  $10^8$  кл/мл.

Двухсуточное инкубирование незрелых ДК с убитыми *C. albicans* вызывало значительный рост экспрессии CXCR5 на ДК во всех экспериментах. Максимальный эффект вызывали концентрации микроорганизма  $10^7$  и  $10^8$  кл/мл. *E. coli*, *S. boulardii* и лактобактерии в концентрациях от  $10^4$  до  $10^8$  кл/мл не приводили к экспрессии CXCR5 на ДК. *B. cereus* вызвал прирост экспрессии CXCR5 лишь однажды и только в максимальной концентрации микробов ( $10^8$ ). Таким образом, *C. albicans* обладали наибольшими показателями активности по мобилизации ДК к миграции в лимфоидные органы и единственные из всех исследованных микроорганизмов стимулировали экспрессию CXCR5.

**Заключение.** Таким образом, проведенное исследование демонстрирует существенные различия в способности микроорганизмов индуцировать созревание дендритных клеток, что необходимо учитывать при поиске потенциальных векторов для новых вакцин.

#### Литература:

1. Mellman I., Steinman, R.M. Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines. Cell. – 2001. – V. 106. – P. 255–258.

2. Hart D.N. Dendritic cells: unique leukocyte population which control the primary immune response. *Blood*. – 1997. – V. 90. – P. 3245–3287.
3. Пащенко М.В., Пинегин Б.В. Физиология клеток врожденной иммунной системы: дендритные клетки. *Иммунология*. – 2006. – Т. 27. – № 6. – С. 368–378.
4. Ярилин, А.А. *Иммунология*: М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 749 с.
5. Талаев, В.Ю. Механизмы управления миграцией миелоидных дендритных клеток и клеток Лангерганса. *Иммунология*. – 2012. – Т. 33. – № 2. – С. 104–112.
6. Alvarez D., Vollmann E.H., von Andrian U.H. Mechanisms and Consequences of Dendritic Cell Migration. *Immunity*. – 2008. – V. 29. – № 3. – P. 325–342.
7. Randolph, G.J., Ochoa J., Patrida–Sanchez S. Migration of dendritic cell subsets and their precursors. *Annu. Rev. Immunol.* – 2008. – V. 26. – P. 293–316.
8. Johnson L.A., Jackson D.G. Cell Traffic and the Lymphatic Endothelium. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2008. V. 1131. – P. 119–133.
9. León B., Ballesteros–Tato A., Browning J.L., Dunn R., Randall T.D., Lund F.E. Regulation of TH2 development by CXCR5+ dendritic cells and lymphotoxin–expressing B cells. *Nat. Immunol.* – 2012. – V. 13. – № 7. – P. 681–90.
10. Талаев В.Ю. Талаева М.В., Воронина Е.В., Бабайкина О.Н. Миграция дендритных клеток человека *in vitro*, индуцированная вакцинами, стимулирующими гуморальный и клеточный иммунитет. *Современные технологии в медицине*. – 2016. – Т. 8. – № 3. – С. 91–99.
11. Талаев В.Ю., Талаева М.В., Бабайкина О.Н., Воронина Е.В., Заиченко И.Е. Два варианта экспрессии хемокиновых рецепторов на классических дендритных клетках крови человека, стимулированных вакцинами *in vitro*. *Иммунология*. – 2017 – Т. 38. – № 3. – С. 155–159.

УДК: 616.921.5

**ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К СЕЗОННОМУ ГРИППУ  
НАКАНУНЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА И ТЯЖЕЛЫЕ СЛУЧАИ  
ЗАБОЛЕВАНИЯ В 2018–2019 гг.**

**Ильичева Т. Н., Дурыманов А. Г., Святченко С. В., Буланович Ю. А., Рыжиков А. Б.**  
*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Роспотребнадзора, Кольцово, Новосибирская область, Россия*

**Аннотация.** Оценка популяционного иммунитета к гриппу накануне эпидемического сезона 2018–2019 и характеристика вирусов гриппа, выделенных в данном сезоне от людей с тяжелым течением заболевания и от лиц, привитых осенью 2018. **Материалы и методы.** Исследование сывороток крови в реакции торможения гемагглютинации. Выделение изолятов вирусов гриппа, антигенный и генетический анализ выделенных штаммов. **Результаты.** Накануне эпидемического сезона от 43% до 53% сывороток крови, собранных в разных регионах РФ, имели защитные титры антител к вакцинным сезонным штаммам вируса гриппа А. К вирусу В/Victoria защитные титры имели около 25% обследованных. В эпидемическом сезоне 2018–2019 нами выделено 75 изолятов вирусов гриппа А и В, по антигенным свойствам они не отличались от вакцинных штаммов соответствующих подтипов. Один штамм А(H1N1)pdm09 с аминокислотной заменой N275Y в нейраминидазе, был устойчив к осельтамивиру. Все остальные штаммы были чувствительны к ингибиторам нейраминидазы. **Заключение.** Иммунизация актуальными гриппозными вакцинами и лечение антинейраминидазными препаратами при первых клинических проявлениях заболевания остаются наиболее эффективными средствами защиты населения.

Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-1/16.



## HUMORAL IMMUNITY TO SEASONAL INFLUENZA AND SEVERE FLU CASES IN 2018–2019

Ilyicheva T. N., Durymanov A. G., Svyatchenko S. V., Bulanovich Yu. A., Ryzhikov A. B.  
*State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR», Koltsovo, Novosibirsk region*

**Abstract.** Evaluation of herd immunity prior to the 2018-2019 influenza season, and characterization of influenza viruses isolated from severe or fatal influenza cases and from influenza cases in people vaccinated in the fall of 2018. **Materials and methods.** Evaluation of herd immunity in hemagglutination inhibition assay. Isolation of influenza viruses. Antigenic and genetic analysis. **Results.** Prior to epidemic season 43% – 53% of blood sera samples collected on the territory of Russia showed presence of protective antibody titers against vaccine strains of influenza A, 25% of samples – against B/Victoria. During 2018–2019 epidemic season 75 influenza A and B viruses were isolated, they were antigenically similar to corresponding vaccine strains. One strain of influenza virus A(H1N1pdm09) was resistant to oseltamivir and had H275Y amino acid substitution in neuraminidase. All other isolates were susceptible to neuraminidase inhibitors. **Conclusions.** Influenza vaccination with vaccine effective against current circulating strains and treatment with neuraminidase inhibitor drugs at first manifestation of clinical signs of influenza disease are effective means of population protection against influenza.

This work was supported by State Assignment no. 1/16 (SRC VB «Vector»).

**Введение.** Эпидемический сезон по гриппу в 2018–2019 гг. начался на 3–4 неделях 2019 г., имел умеренную географическую распространенность и интенсивность. В течение всего сезона наблюдалась одновременная циркуляция вирусов гриппа А/Н1N1 pdm09 и А/Н3N2, вирус гриппа выявлялся значительно реже, в отличие от предыдущих сезонов [1]. Накануне эпидемического сезона были вакцинированы 70,8 млн. человек (49 % от численности населения страны) [1], что, несомненно, значительно снизило заболеваемость населения гриппом и социально-значимые последствия от эпидемии.

**Цель работы.** Изучение популяционного иммунитета к гриппу накануне эпидемического сезона, выделение и характеристика штаммов вируса гриппа в случаях тяжелого течения заболевания в эпидемическом сезоне 2018–2019 гг.

**Методы.** Накануне эпидемического сезона был организован сбор сывороток крови от жителей всех регионов Российской Федерации (по 100–200 образцов из региона). Все сыворотки тестировали в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с вакцинными штаммами вируса гриппа и высокопатогенными вируса гриппа птиц [2].

В 2018–2019 гг. в ФБУН ГНЦ ВБ Вектор Роспотребнадзора поступило 202 аутопсийных образца от умерших предположительно от гриппа, и 727 клинических образцов от пациентов с тяжелым течением заболевания с благоприятным исходом или от лиц, вакцинированных накануне эпидемического сезона. Все присланные образцы были положительны в ПЦР на присутствие РНК вируса гриппа А или В. Из полученного материала выделяли изоляты вируса гриппа в культуре клеток MDCK, типировали в РТГА и ПЦР [2], проводили генетический анализ и тестировали на чувствительность к антинейраминидазным препаратам озелтамивиру и занамивиру [3].

**Результаты и обсуждение.** При исследовании в РТГА 5680 образцов сыворотки крови антител к высокопатогенным вирусам гриппа птиц не обнаружено. Количество образцов, положительных к вакцинным штаммам было на уровне около 25% против вируса гриппа В/Виктория, около 45% – 52% против вируса А/Н3N2 и около 43% – 53% против вируса А/Н1N1 pdm09, в зависимости от региона. По рекомендациям Всемирной организации здравоохранения в регионе должно быть привито не менее 50% населения, а в группах риска (медицинские работники, учащиеся и педагогический персонал, пожилые люди, младенцы, беременные женщины, лица с хроническими заболеваниями) не менее 75%, что позволяет значительно снизить вероятность распространение эпидемии. Как показывают наши данные,

кампания вакцинации накануне эпидемического сезона позволила вплотную приблизиться рекомендованным показателям, по крайней мере, в отношении вируса гриппа А.

Не смотря на то, что в сезоне 2018–2019 гг. среди циркулирующих штаммов вируса гриппа А не было доминировавшего субтипа, в случаях тяжелого гриппа чаще в определялся вирус А/Н1N1 pdm09. Так, по данным ПЦР-анализа 57% всех образцов (аутопсийных и клинических) были положительными на РНК вируса гриппа А/Н1N1 pdm09, 28% – А/Н3N2, 16% – вируса гриппа В. Остальные образцы не типировались. В культуре клеток было выделено 45 штаммов вируса гриппа А/Н1N1 pdm09, 29 штаммов А/Н3N2, 3 штамма вируса гриппа В.

Среди умерших от гриппа 7 человек были вакцинированы осенью 2018 г. По сравнению с предыдущими годами этот показатель находится на уровне предыдущего сезона. Так, из 588 случаев гриппа с летальным исходом в эпидемическом сезоне 2015–2016 гг. было 2% людей, вакцинированных накануне эпидемии [4]. В эпидемическом сезоне 2016–2017 гг. смертельных исходов среди вакцинированных не было [5]. В эпидемическом сезоне 2017–2018 гг. среди вакцинированных было 4 случая тяжелого гриппа с летальным исходом.

За три эпидемических сезона, с 2016 по 2019 гг., из клинического и аутопсийного материала было выделено только три штамма вируса гриппа (менее 1%), устойчивых к антинейраминидазному препарату озелтамивиру, все штаммы относились к субтипу А(Н1N1)pdm09.

**Заключение.** Полученные результаты подтверждают необходимость вакцинации от гриппа, в первую очередь лиц из групп риска, а также применения антинейраминидазных препаратов для лечения гриппа, начиная с первых дней заболевания.

Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-1/16.

#### Литература:

1. [https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news\\_details.php?ELEMENT\\_ID=11806](https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=11806)
2. World Health Organization surveillance network: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: WHO Press, 2011.
3. SOP WHO-025 Fluorometric Neuraminidase Inhibition Assay [http://www.nisn.org/documents/A.Hurt\\_Protocol\\_for\\_NA\\_fluorescence.pdf](http://www.nisn.org/documents/A.Hurt_Protocol_for_NA_fluorescence.pdf)
4. Plyicheva T., Durymanov A., Susloparov I. et al. Fatal cases of seasonal influenza in Russia in 2015–2016. PLoS One. 2016, 11(10): e0165332.
5. Plyicheva T.N., Durymanov A.G., Svyatchenko S.V. et al. Humoral immunity to influenza in an at-risk population and severe influenza cases in Russia in 2016–2017. Arch.Virol. 2018. doi: 10.1007/s00705-018-3904-9.

УДК: 606:578.74

## **РАЗРАБОТКА И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ИСКУССТВЕННЫХ ПОЛИЭПИТОПНЫХ ИММУНОГЕНОВ ВИРУСА ЭБОЛА**

**Карпенко Л. И., Бажан С. И., Антонен Д. В., Дудко С. Г., Каплина О. Н., Ильичев А. А.**

*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Роспотребнадзора, Кольцово, Новосибирская область, Россия*

**Аннотация.** Геморрагическая лихорадка Эбола является одним из самых опасных инфекционных заболеваний с высокой летальностью. Вспышка лихорадки Эбола в 2014–2015 гг. с более чем 11 тыс. погибших способствовала принятию мер по противодействию этой инфекции, в том числе активизировала работы по созданию вакцин. В данной работе представлены результаты разработки кандидатных ДНК-вакцин, кодирующих два искусственных полиэпитопных Т-клеточных иммуногена, один из которых содержит цитотоксические (CTL), а другой Т-хелперные (Th) эпитопы, идентифицированные в белках вируса Эбола: GP, VP24, VP30, VP35, L, VP40, и NP. Мы показали, что созданные ДНК-вакцины обеспечивают синтез целевых мРНК и соответствующих белков в эукариотических клетках, а также индуцируют вирус-специфические ответы CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у иммунизированных мышей. Полученные ДНК-вакцинные конструкции являются перспективными кандидатами для дальнейших исследований их иммуногенных и протективных свойств.

## DEVELOPMENT AND STUDY OF PROPERTIES OF EBOLA VIRUS ARTIFICIAL POLYEPITOPIC IMMUNOGENES

Karpenko L. I., Bazhan S. I., Antonets D. V., Dudko S. G., Kaplina O. N., Ilyichev A. A.

*State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo,  
Novosibirsk Region, Russia*

**Abstract.** Ebola haemorrhagic fever is one of the most dangerous infectious diseases with high mortality. Outbreak of Ebola in 2014–2015 with more than 11 thousand deaths led to the taking action to combat this infection, including beginning of work on the creation of vaccines. This paper presents the results of the development of candidate DNA vaccines encoding two artificial polyepitopic T-cell immunogens, one of which contains cytotoxic (CTL) and the other T-helper (Th) epitopes, which were identified in Ebola proteins: GP, VP24, VP30, VP35, L, VP40, and NP. We were shown that created DNA vaccines provide the synthesis of target mRNA and corresponding proteins in eukaryotic cell culture and also induce virus-specific responses of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes in immunized mice. The obtained DNA vaccine constructs are promising candidates for further research on their immunogenic and protective properties.

**Введение.** Геморрагическая лихорадка Эбола является одним из самых опасных инфекционных заболеваний с высокой летальностью. Вспышка лихорадки Эбола в 2014–2015 гг. с более чем 11 тыс. погибших способствовала принятию мер по противодействию этой инфекции, в том числе активизировала работы по созданию вакцин [1]. На сегодняшний день существует ряд вакцин против вируса Эбола, находящихся в разных стадиях клинических испытаний. Пока только одна вакцина rVSV-ZEBOV (разработка компании Мерк) была одобрена ВОЗ для проведения вакцинации групп населения высокого риска против болезни, вызванной вирусом Эбола, в Демократической Республике Конго. Следует отметить, что большинство разрабатываемых экспериментальных вакцин сконструированы на основе генетически модифицированных вирусов, что может явиться причиной нежелательного иммунного ответа на их введение пациенту. Для создания более безопасных профилактических препаратов необходимо использование новых подходов основанных, в частности, на использовании генетической иммунизации. Одним из них является конструирование искусственных полиэпитопных (мозаичных) иммуногенов, представляющих собой комбинацию нескольких эпитопов, собранных в одной молекуле [2].

**Целью** настоящей работы являлось конструирование и биологическое тестирование искусственных полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов – кандидатов ДНК-вакцины против вируса Эбола.

**Материалы и методы.** Дизайн двух искусственных полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов был проведен с использованием оригинального программного обеспечения TEpredict/PolyCTLDesigner [3]. Один из иммуногенов содержал цитотоксические (CTL), а другой Т-хелперные (Th) эпитопы, идентифицированные в белках вируса Эбола: GP, VP24, VP30, VP35, L, VP40, и NP. Гены, кодирующие спроектированные антигены, были клонированы в эукариотическом векторе pcDNA3.1. Экспрессию генов в составе плазмид pEV.CTL и pEV.Th оценивали двумя методами: по синтезу специфической мРНК и с помощью иммуноокрашивания трансфицированных клеток.

Иммуногенность полученных конструкций оценивали на модели мышей. Для иммунизации использовались 5–6-недельные мыши BALB/c (самки) весом 16–18 г. Мышей иммунизировали внутримышечно трехкратно с интервалом две недели дозой 100 мкг ДНК-вакцины. Через две недели после последней иммунизации у животных удалили селезенки, из которых выделяли спленоциты для анализа иммунного ответа Т-клеток.

Для оценки иммунного ответа мышей после иммунизации ДНК-вакцинами использовали два метода: ELISpot и ICS. Стимуляцию спленоцитов осуществляли с использованием смеси синтетических пептидов, входящих в состав сконструированных антигенов. Анализ IFN $\gamma$  ELISpot проводили с использованием набора Becton Dickinson

(США) в соответствии с инструкцией производителя. ICS выполняли в соответствии со стандартным протоколом BD Biosciences.

**Результаты и обсуждение.** Для проектирования целевого поли-CTL-эпитопного антигена (EV.CTL) в базе данных Immune Epitope Database (<http://iedb.org>) был проведен поиск известных Т-клеточных эпитопов и пептидных фрагментов антигенов различных штаммов вирусов Эбола, для которых способность связываться с различными алломорфами молекул МНС была доказана экспериментально. Всего было выбрано 44 пептида, которые в совокупности рестриктированы 34 аллельными вариантами молекул HLA I класса, в том числе наиболее распространенными в мировой популяции. На основе выбранных Т-клеточных эпитопов проводился дизайн поли-CTL-эпитопного антигена EV.CTL с использованием программного обеспечения TEpredict/PolyCTLDesigner. Длина сконструированного полиэпитопа EV.CTL составляла 547 а.о., на долю спейсерных последовательностей приходилось 12.76%. Для нацеливания полиэпитопного иммуногена в протеасому к N-концу итоговой поли-CTL-эпитопной конструкции была добавлена последовательность убиквитина.

Для наиболее эффективной индукции Т-клеточного иммунного ответа необходимо стимулировать ответ не только CD8<sup>+</sup>, но и CD4<sup>+</sup>Т-лимфоцитов. Поэтому на следующем этапе было проведено конструирование поли-Th-эпитопного фрагмента (EV.Th). Для этого с помощью программы TEpredict [3] проводился поиск Th-эпитопов в составе белков вируса Эбола. С помощью PolyCTLDesigner было выбрано 8 фрагментов длиной от 35 до 40 а.о., содержащих наибольшее количество Th-эпитопов с наиболее широкой специфичностью по отношению к различным алломорфам HLA II класса. Дизайн поли-Th-эпитопного антигена EV.Th был проведен с использованием спейсерных последовательностей [K/R][K/R], которые формируют сайты расщепления лизосомными катепсинами.

Обратная трансляция аминокислотных последовательностей проводилась с учетом частот встречаемости кодонов у человека. Спроектированные гены *EV.CTL* и *EV.Th* были синтезированы и клонированы в составе векторной плазмиды pcDNA 3.1. В результате были сконструированы две рекомбинантные плазмиды: *pEV.CTL* и *pEV.Th* – кандидаты ДНК-вакцины против вируса Эбола.

В ходе проделанной работы получены рекомбинантные плазмиды *pEV.CTL* и *pEV.Th* – кандидаты ДНК-вакцины против вируса Эбола, кодирующие спроектированные антигены. Экспрессию генов в составе плазмид *pEV.CTL* и *pEV.Th* оценивали двумя методами: по синтезу специфической мРНК и с помощью иммуноокрашивания трансфицированных клеток. Показано, что плазмиды *pEV.CTL* и *pEV.Th* обеспечивают синтез целевых мРНК и белков в культуре эукариотических клеток.

Для исследования иммуногенности полученных конструкций проводили иммунизацию плазмидами *pEV.CTL* и *pEV.Th* мышей BALB/c и оценку клеточного ответа.

Результаты, полученные с помощью IFN- $\gamma$  ELISpot показали, что индукция специфического Т-клеточного ответа происходит в группах мышей, иммунизированных как смесью ДНК-вакцинных конструкций [*pEV.CTL*+*pEV.Th*], так и конструкцией *pEV.CTL*, кодирующей поли-CTL-эпитопный антиген. Наиболее значимые статистические отличия от обоих отрицательных контролей (неиммунизированные мыши и мыши, иммунизированные векторной плазмидой pcDNA3.1) наблюдались в группе [*pEV.CTL*+*pEV.Th*]. При этом результаты, полученные с помощью ICS показали, что в отношении индукции IFN $\gamma$ -продуцирующих CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов статистически значимые отличия от контроля были обнаружены в группах животных, иммунизированных как *pEV.CTL*, так и смесью [*pEV.CTL*+*pEV.Th*] вакцинных конструкций, тогда как в отношении индукции IFN $\gamma$ -продуцирующих CD4<sup>+</sup> Т-хелперов достоверный ответ наблюдался только в группе, иммунизированной смесью вакцинных конструкций [*pEV.CTL*+*pEV.Th*]. Тот факт, что максимальные ответы IFN $\gamma$ -продуцирующих CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов ( $p=0,024$ ) и CD4<sup>+</sup> Т-клеток ( $p=0,012$ ) были зарегистрированы в группе животных, иммунизированных смесью

вакцинных конструкций, возможно, обусловлен синергетическим эффектом CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

**Заключение.** Полученные ДНК-вакцинные конструкции являются перспективными кандидатами для дальнейших исследований по повышению их иммуногенности, а также изучению протективных свойств на модели морских свинок.

Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-25/16.

Литература:

1. Agua-Agum J., Ariyarajah A., Aylward B., et al. West African Ebola epidemic after one year-slows but not yet under control. *New England J. Medicine*, 2015, 372 (6), 584–587. doi: 10.1056/NEJMcl414992.
2. Karpenko L.I., Bazhan S.I., Antonets D.V., Belaykov I.M. Novel approaches in polyepitope T-cell vaccine development against HIV-1. *Expert Rev. Vaccine*, 2014, 13 (1), 155–173. doi: 10.1586/14760584.2014.861748.
3. Antonets D.V., Bazhan S.I. PolyCTLDesigner: a computational tool for constructing polyepitope T-cell antigens. *BMC Res. Notes*, 2013, 10 (6), 407. doi: 10.1186/1756-0500-6-4.

УДК: 616.98:579.842.23

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ  
ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C ПО ОТНОШЕНИЮ  
К ЧУМНОМУ МИКРОБУ**

**Клюева С. Н., Кравцов А. Л., Бугоркова С. А., Кожевников В. А., Гончарова А. Ю.**  
*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,  
Саратов, Россия*

**Аннотация.** Полиоксидоний (ПО) повышает иммуногенность и протективность живой чумной вакцины, но клеточные механизмы, лежащие в основе его иммуномодулирующего эффекта, недостаточно изучены. С помощью проточной цитометрии исследовали фагоцитарные индексы (ФИ) гранулоцитов крови привитых и не привитых против чумы мышей BALB/c по отношению к *Yersinia pestis*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Установлено, что у интактных мышей ФИ гранулоцитов крови в отношении клеток *Y. pestis* вдвое ниже, чем в опытах с *E. coli* и *S. aureus*. Противочумная вакцинация специфически активировала *in vitro* поглотительную способность фагоцитов крови только по отношению к чумному микробу. На фоне иммуномодулирующего эффекта ПО повышались ФИ в опытах с *Y. pestis* уже на 3 сутки иммуногенеза.

**INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM ON THE BALB/C MICE BLOOD GRANULOCYTE  
PHAGOCYtic ACTIVITY WITH RESPECT TO PLAGUE MICROBE**

**Klyueva S. N., Kravtsov A. L., Bugorkova S. A., Kozhevnikov V. A., Goncharova A. Yu.**  
*Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** Polyoxidonium (PO) increases the immunogenicity and protectivity of the live plague vaccine, but the cellular mechanisms underlying its immunomodulating effect are not well understood. Using flow cytometry, blood granulocyte phagocytic indices (PI) of grafted and not vaccinated against the plague BALB/c mice were examined in respect of *Yersinia pestis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In intact mice, the PI of granulocytes was found to be twice as low for *Y. pestis* cells as in experiments with *E. coli* and *S. aureus*. Anti-plague vaccination specifically activated *in vitro* the blood phagocyte absorptive capacity only in relation to plague microbes. Against the background of the immunomodulatory effect of PO, the values of PI increased in experiments with *Y. pestis* already on the 3rd day of immunogenesis.

**Введение.** Известно, что на внутрикожное введение в организм живых клеток *Yersinia pestis* первыми отвечают нейтрофильные гранулоциты, принимающие активное участие в обезвреживании чумного микроба, а эффективность киллинга микробных клеток

нейтрофилами существенно повышается в присутствии сыворотки крови мышей, иммунизированных вакцинным штаммом *Y. pestis* EV линии НИИЭГ [5]. Для повышения иммуногенности вакцин используют иммуномодуляторы [2], в частности, Полиоксидоний (ПО), оказывающий стимулирующее воздействие на фагоциты [1] и активирующий антителообразование у иммунизированных животных [3], однако, клеточные механизмы этих процессов недостаточно изучены.

**Цель** – изучить модулирующий эффект ПО на эффективность поглощения чумного микроба гранулоцитами крови мышей линии BALB/c, иммунизированных *Y. pestis* EV.

**Материалы и методы.** Мышей разделяли на группы. Животных 1-ой группы иммунизировали подкожно 2-х суточной культурой *Y. pestis* EV в концентрации  $2,5 \times 10^4$  КОЕ, 2-ой – за 1 час до иммунизации подкожно вводили ПО («ПетроваксФарм», Россия) в дозе 4 мкг. В качестве контроля использовали интактных мышей.

На 3-и, 7-е и 21-е сутки после иммунизации в 100 мкл крови определяли методом проточной цитометрии в условиях *in vitro* фагоцитарные индексы (ФИ) по отношению к ФИТЦ-меченым клеткам *Y. pestis*, выращенным при 28°C (YP28) и 37°C (YP37) и сравнивали их со значениями ФИ, полученными по отношению к меченым клеткам *E. coli* и *S. aureus*. Фагоцитарную реакцию ставили по модифицированному нами методу Miliukienė V. et. al. [4].

**Результаты и обсуждение.** В контрольной группе при взаимодействии лейкоцитов крови с YP37 и YP28 значения ФИ составили соответственно  $16,91 \pm 0,8\%$  и  $33,94 \pm 1,98\%$  ( $p < 0,01$ ), что свидетельствовало о не эффективном фагоцитозе чумного микроба по сравнению с реакцией на клетки *E. coli* ( $75,25 \pm 1,2\%$ ) и *S. aureus* ( $87,76 \pm 0,2\%$ ). Низкие значения ФИ гранулоцитов крови у контрольных животных в отношении YP28 и YP37, в сравнении с ФИ, полученными в опытах с *E. coli* и *S. aureus*, обусловлены отсутствием в крови интактных мышей специфических антител к поверхностным антигенам чумного микроба (опсонизирующих факторов). В тоже время ФИ по отношению к YP28 были в 1,7 раза выше ( $p < 0,01$ ), чем в отношении YP37, что согласуется с данными об ингибирующем действии на фагоцитарную функцию лейкоцитов крови человека и животных поверхностных антигенов *Y. pestis* синтезируемых патогеном при 37°C [6].

При анализе фагоцитарной активности гранулоцитов крови у животных 1-ой группы в динамике вакцинного процесса отсутствовали существенные изменения ФИ по отношению к YP28. ПО оказывал модулирующий эффект на фагоцитоз в условиях *in vitro*, поскольку у животных 2-ой группы ФИ повышались по отношению к YP28 к 21 суткам иммуногенеза ( $53,303 \pm 0,79\%$ ,  $p < 0,01$ ). Вероятно, на фоне иммуномодулирующего эффекта ПО у мышей BALB/c формируется в 2,7 раза более эффективная защита от заражения вирулентным штаммом *Y. pestis* [1].

В отношении YP37 фагоцитоз активировался быстрее – уже на 3 сутки ( $21,32 \pm 1,84\%$ ,  $p < 0,05$ ), возможно по причине того, что у животных, привитых ВЧЖ на фоне иммуномодулирующего эффекта ПО, регистрируется ранняя продукция специфических антител к капсульному антигену F1 [3].

По-видимому, повышение уровня фагоцитарной активности лейкоцитов крови по отношению к *Y. pestis* отражает специфичность иммунологической перестройки, поскольку такие изменения отсутствовали в опытах с *E. coli* и *S. aureus*.

**Заключение.** Полученные данные о влиянии ПО на иммунный фагоцитоз *Y. pestis* подтверждают известную способность препарата изменять функциональную активность клеток врождённого иммунитета и свидетельствуют в пользу возможности его использования как стимулятора формирования в организме приобретённого клеточного противочумного иммунитета.

#### Литература:

1. Кравцов А.Л., Курылина А.Ф., Ключева С.Н., Щуковская Т.Н. Модулирующий эффект полиоксидония на реактивность клеток иммунной системы при формировании противочумного иммунитета // Иммунология. – 2016. – Т. 37, № 6. – С. 320–325.

2. Кравцов А.Л., Ключева С.Н., Бугоркова С.А. Влияние иммуномодуляторов на реактивность клеток иммунной системы при моделировании противотуляремийного вакцинного процесса. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2016. – Т. 15, № 3 (88). – С. 94–101.
3. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Денисова Т.Г., Закарян С.Б., Мельникова Н.Н. Влияние полиоксидония на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины // *Иммунология*. – 2014. – Т. 35, № 5. – С. 286–290.
4. Miliukienė V., Šiaurys A., Pilinkienė A., Chaustova L. Flow cytometry measurement of *Saccharomyces cerevisiae* phagocytosis by neutrophils in mouse blood // *Biologiya*. – 2005. – V. 3. – P. 69–73.
5. Shannon J.G., Hasenkrug A.M., Dorward D.W., Nair V., Carmody A.B., Hinnebusch B.J. *Yersinia pestis* subverts the dermal neutrophil response in a mouse model of bubonic plague // *Mbio*. – 2013. – V. 4, e00170-e00113.10.1128/mbio.00170-13.
6. Spinner J.L., Cundiff J.A., Kobayashi S.D. *Yersinia pestis* type III secretion system-dependent inhibition of human polymorphonuclear leukocyte function // *Infec. Immunity*. – 2008. – V. 76. – № 8. – P. 3754–3760.

УДК: 615.371

**СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ  
ИММУНОГЕННОЙ СУБСТАНЦИИ ГЕМОФИЛЬНОГО ТИПА b МИКРОБА  
Ковришко М. В., Яговкин Э. А., Твердохлебова Т. И., Цивин В. С., Решетов А. А.,  
Троценко А. А., Маркова К. Г., Курбатов Е. С.**

*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** Представлены результаты изучения возможности создания иммуногенной субстанции гемофильного типа b микроба (ХИБ-субстанция). ХИБ-субстанция в опытах на экспериментальных животных была нетоксична, безопасна, иммуногенна и совместима с адсорбированной дифтерийно-столбнячной вакциной.

**CURRENT STATUS AND FUTURE PROSPECTS OF DEVELOPING  
AN IMMUNOGENOUS SUBSTANCE OF HEMOPHILIC TYPE b MICROBE  
Kovrizhko M. V., Yagovkin E. A., Tverdokhlebova T. I., Tsivin V. S., Reshetov A. A.,  
Trotsenko A. A., Markova K. G., Kurbatov E. S.**

*Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The results of the study of the possibility to create an immunogenic substance of the hemophilic type b microbe (HIB substance) are presented. The HIB substance in experiments on animals was non-toxic, safe, immunogenic and compatible with the adsorbed diphtheria-tetanus vaccine.

**Введение.** В мировой практике борьба с гемофильной инфекцией типа b среди детей достигла значительных успехов благодаря введению в Национальный календарь профилактических прививок конъюгированных ХИБ-вакцин.

Первая отечественная конъюгированная ХИБ-вакцина была создана в конце 2007 г. и рекомендована к регистрации и практическому применению [1, 2]. На базе ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора организован мелкосерийный выпуск вакцины. В России прививка против гемофильной инфекции включена в Национальный календарь профилактических прививок в 2011 г. Иммунизации подлежат дети из групп риска, и назрела необходимость перейти к вакцинации всего детского населения декретированного возраста с 3 месяцев. В настоящее время в разных странах применяются комбинированные вакцины, содержащие

ХИБ-компонент. Гемофильный компонент комбинируется с вакцинами: АКДС, АДС, гепатитом В, полиомиелитной инактивированной вакциной. В России применяются зарубежные комбинированные вакцины [3], но ведутся разработки и отечественной комбинированной вакцины.

Созданию и внедрению комбинированных вакцин с включением ХИБ-компонента, увеличению объема выпускаемых вакцин различными производителями будет способствовать исследование, направленное на разработку отечественной иммуногенной субстанции гемофильного типа b микроба.

**Материалы и методы.** В качестве субстанции использовали ХИБ-конъюгат, представляющий собой очищенный капсульный полисахарид гемофильного типа b микроба, связанный со столбнячным концентрированным анатоксином (ОКСА) производства ФГУП «НПО «Микроген». Полученную ХИБ-субстанцию в человеко-дозе (12 мкг капсульного полисахарида конъюгированного с 10 мкг столбнячного анатоксина) соединяли с 0,5 мл производственной серии адсорбированной на геле гидроокиси алюминия АДС вакциной, применяемой для иммунизации против столбняка и дифтерии. Токсичность и безвредность ХИБ-субстанции проверяли на беспородных белых мышах весом не более 20 г и морских свинках массой 240–260 г при внутрибрюшинном введении.

Иммунологическую активность на белых мышах изучали после однократного внутрибрюшинного введения ХИБ-субстанции и комбинированного препарата (ХИБ-субстанция + АДС вакцина). Через 30 дней после вакцинации у животных забирали кровь и в сыворотках методом ИФА определяли антитела к капсульному полисахариду ХИБ, а методом РНГА определяли антитела к столбнячному и дифтерийному анатоксинам. Постановки РНГА осуществляли, руководствуясь инструкциями по применению тест-систем.

**Результаты и обсуждение.** Полученные экспериментальные данные показали, что комбинированный препарат, содержащий ХИБ-субстанцию и АДС вакцину в человеко-дозе не обладал токсичностью и не вызывал гибели животных.

Патоморфологические методы исследования не выявили изменений в органах экспериментальных животных. Данные иммунологических исследований на экспериментальных животных представлены в таблице (таблица).

**Таблица.** Характеристика антителообразования при совместном применении антигенной ХИБ-субстанции и АДС вакцины

Наименование препаратов	Уровень сероконверсии (%) к			Уровень антител к		
	СТА	ДА	ХИБ	СТА титр	ДА титр	ХИБ мкг/мл
ХИБ-субстанция	40	–	75	1:400	–	4,1
АДС вакцина	100	100	–	1:1600	1:1320	–
ХИБ-субстанция + АДС вакцина	100	100	70	1:1600	1:1600	3,9

**Примечание:** СТА – столбнячный анатоксин; ДА – дифтерийный анатоксин; ХИБ – гемофильный капсульный полисахарид.

Уровень сероконверсии к ХИБ при использовании ХИБ-субстанции составил 75% и он практически не изменялся при комбинированном совместном введении ХИБ-субстанции и АДС вакцины.

Уровень сероконверсии к дифтерийному и столбнячному анатоксинам составлял 100% и не изменялся при совместном введении в комбинации анатоксинов и ХИБ-субстанций.

Уровень антител к капсульному полисахариду ХИБ при применении ХИБ-субстанции составлял 4,1 мкг/мл, и данный уровень не уменьшался при комбинированном применении совместно с АДС вакциной. Высокий титр антител к столбнячному и дифтерийному анатоксинам не изменялся при совместном применении с ХИБ-субстанцией. Таким образом, полученная ХИБ-субстанция обеспечивала достаточный уровень иммуногенности к



гемофильной инфекции, так как, по данным ВОЗ, уровень антител к капсульному полисахариду ХИБ, равный 1 мкг/мл сыворотки и более, обеспечивает достаточный уровень протективности. Использование ХИБ-субстанции совместно с вакциной АДС в одном шприце было безопасно и не приводило к уменьшению антигенности как АДС так и ХИБ компонента.

Учитывая необходимость увеличения объема прививок против ХИБ-инфекции в Национальном календаре профилактических прививок, в том числе с использованием комбинированных вакцин, ряд институтов и предприятий предполагают начать и увеличивать выпуск отечественных ХИБ-конъюгированных и комбинированных вакцин [4, 5]. Этому будет способствовать производственный выпуск иммуногенной субстанции гемофильного микроба.

**Заключение.** Полученная иммуногенная субстанция гемофильного тип b микроба обеспечивает достаточный уровень антигенности и может использоваться при создании конъюгированных ХИБ-вакцин и как компонент в комбинированных вакцинах.

#### Литература:

1. Состояние и перспективы разработки отечественной вакцины против гемофильной инфекции / Б.Ф. Вачаев, Э.А. Яговкин, Г.Г. Онищенко и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2005. № 3. С. 37–39.
2. Результаты клинических испытаний отечественной вакцины против гемофильной тип b инфекции / Л.И. Павлова, Б.Ф. Вачаев, Л.А. Русакова, М.А. Горбунов, Э.А. Яговкин и др. // Научно-практический журнал Биопрепараты. 2007. № 4 (28). С. 12–15.
3. Озерецковский Н.А., Немировская Т.И. Вакцинация против гемофильной инфекции типа b в Российской Федерации // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2016. Т. 15. № 1 (86). С. 61–66.
4. Разработка и стандартизация лиофилизированной формы вакцины для профилактики инфекций вызываемых *Haemophilus influenzae* / О.В. Белякова, А.М. Николаева, О.Ю. Соснина, О.С. Дрожжачих // Пермский медицинский журнал. 2014. Т. 31. № 2. С. 102–108.
5. Салимова Е.Л., Конон А.Д., Трухин В.Л. Гемофильная инфекция: современные представления о вакцинопрофилактике // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2017. Т. 20. № 10. С. 7–12.

УДК: 616.98:579.842.23

## **ЗАВИСИМОСТЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОЙ ПРОТИВОЧУМНОЙ ЗАЩИТЫ У МЫШЕЙ ОТ ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК**

**Кравцов А. Л., Гончарова А. Ю., Бугоркова С. А.**

*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Россия*

**Аннотация.** Для получения информации о влиянии нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) на эффективность поствакцинальной противочумной защиты, ДНК-сети, формируемые в брюшной полости привитых против чумы мышей VALB/c в ответ на заражение вирулентным штаммом *Yersinia pestis* 231, инактивировали *in vivo* микрококковой нуклеазой. В данной группе иммунных животных эффективность иммунологической защиты от чумной инфекции была в 4 раза ниже, чем в группе, в которой НВЛ не расщеплялись нуклеазой и сохраняли свою активность. В первом случае погибало от чумной инфекции 80% животных при средней продолжительности жизни  $7,1 \pm 1,95$  суток (срок наблюдения 20 суток), а во втором – только 20% и продолжительность жизни погибших мышей была  $17 \pm 1,58$  суток (выше в 2,5 раза). Для заражения использовали дозу  $10^3$  КОЕ, при которой 100% интактных животных погибало от чумы к 4 суткам. Полученные данные свидетельствуют, что формирование НВЛ оказывает существенное влияние на эффективность поствакцинальной противочумной защиты.

# DEPENDENCE OF THE EFFECTIVENESS OF POST-VACCINE ANTI-PLAGUE PROTECTION IN MICE ON THE FORMATION OF NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS

Kravtsov A. L., Goncharova A. Yu., Bugorkova S. A.

Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

**Abstract.** To receive information about the effect of neutrophil extracellular traps (NETs) on the efficiency of post-vaccination anti-plague protection, DNA networks formed in the peritoneal cavity of anti-plague vaccinated BALB/c mice in response to virulent *Yersinia pestis* 231 strain challenge were inactivated *in vivo* by micrococcal nuclease. In this group of immune animals, the efficiency of immunological protection against the plague infection was 4 times lower than in the group in which NETs were not cleaved by nuclease and retained their activity. In the first case, 80% of animals died from plague infection with an average life expectancy of  $7.1 \pm 1.95$  days (observation period 20 days), while in the second – only 20% and the life expectancy of dead mice was  $17 \pm 1.58$  days (higher 2.5 times). For infection, a dose of  $10^3$  CFU was used, at which 100% of intact animals died from the plague by 4 days. The data obtained indicate that the NETs formation have a significant impact on the efficiency of post-vaccination anti-plague protection.

**Введение.** Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) – это относительно недавно открытый механизм антибактериальной защиты (нетоз), в основе которого лежит способность полиморфноядерных лейкоцитов (нейтрофилов) секретировать во внеклеточное пространство ядерный хроматин, декорированный лейкоцитарными протеазами и бактерицидными катионными белками цитоплазматических гранул, для внеклеточного связывания и киллинга микроорганизмов [2, 4]. Посредством секретируемых микробицидных компонентов нейтрофилы частично или полностью обезвреживают нефагоцитированные бактерии для последующего завершённого фагоцитоза их макрофагами [1]. Однако этот механизм интенсивно функционирует, видимо, только при повторном контакте организма с инфекционным агентом [5, 6]. Ранее нами было установлено, что противочумная вакцинация стимулирует образование НВЛ нейтрофилами брюшной полости иммунных мышей при повторном взаимодействии организма с клетками вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ. Эффективность киллинга клеток этого штамма в иммунном организме была в 10 раз выше, чем в не иммунном. Различия в уровне бактерицидного эффекта зависели от функционирования НВЛ, так как фактически исчезали при введении в организм животных микрококковой нуклеазы [3].

**Цель** – оценить влияние нетоза на эффективность поствакцинальной противочумной защиты в опытах по заражению животных вирулентной культурой чумного микроба.

**Материалы и методы.** Мышей линии BALB/c делили на две опытные и одну контрольную (по 10 особей в каждой) группы. В двух опытных группах животных иммунизировали подкожно  $10^5$  КОЕ вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. На 21-е сутки после иммунизации, в момент формирования у мышей наиболее напряжённого противочумного иммунитета, иммунных и контрольных (интактных) животных заражали внутрибрюшинно  $10^3$  КОЕ (50 LD<sub>50</sub>) вирулентным штаммом *Y. pestis* 231. Для приготовления бактериальных взвесей клеточные культуры выращивали 48 ч при 28°C. В одной из опытных групп каждому иммунному животному за 10 мин до заражения в брюшную полость вводили по 150 U микрококковой нуклеазы (Thermo Scientific, Литва) в 0,2 мл фосфатно-солевого буфера pH 7,2 (ФСБ) для инактивации *in vivo* НВЛ [6]. Животным другой опытной группы раствор ФСБ вводили без нуклеазы.

**Результаты и обсуждение.** Учет результатов проводили в течение 20 суток. В опытной группе, в которой НВЛ инактивировали нуклеазой, погибло 80% мышей при средней продолжительности жизни павших животных  $7,1 \pm 1,95$  суток. В группе сравнения, в которой НВЛ не были расщеплены нуклеазой и сохраняли свою активность, эффективность поствакцинальной иммунологической защиты от чумной инфекции была в 4 раза выше.

Наблюдали гибель лишь 20% мышей и регистрировали увеличение продолжительности их жизни в 2,5 раза – до  $17 \pm 1,58$  суток. В контрольной группе к 4-м суткам после заражения погибало 100% интактных мышей.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют, что формируемые в иммунном организме НВЛ оказывают существенное влияние на эффективность поствакцинальной противочумной защиты.

Литература:

1. Исачкова Л.М., Плехова Н.Г. К развитию представлений об антиинфекционной резистентности // Эпидемиология и инф. болезни. – 2002. – № 1. – С. 11–15.
2. Кравцов А.Л. Роль нейтрофильных внеклеточных ловушек при особо опасных инфекциях // Жур. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.. – 2016. – № 4. – С. 95–104.
3. Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Бугоркова С.А. Влияние противочумной вакцинации на эффективность киллинга чумных микробов во внеклеточных нейтрофильных ловушках / Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ: Материалы XIV Межгосударственной научно-практической конференции, посвященной 100-летию ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». – Саратов: Амирит, 2018. – С. 209–210.
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалёва С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Ч. 1 // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т. 17, № 3. – С. 219–230.
5. Aleman O.R., Mora N., Cortes-Vieyra R., Uribe-Querol E., Rosales C. Differential use of human Fc $\gamma$ -receptors for inducing neutrophil extracellular traps formation // J. Immunology Research. – 2016. – V. 2016. – 17 p., ID 2908034, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2908034>.
6. Landoni V.I., Chiarella P., Martire-Greco D., Schierloh P., van-Rooijen N., Rearte B., Palermo M.S., Isturiz M.A., Fernandez G.C. Tolerance to lipopolysaccharide promotes an enhanced neutrophil extracellular traps formation leading to a more efficient bacterial clearance in mice // Clin. Experim. Immunology. – 2012. – V. 168. – P. 153–163.

УДК: 616.98:579.842.23

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ ЛИЦ**

**Кудрявцева О. М., Гончарова А. Ю., Бугоркова С. А., Ключева С. Н., Кравцов А. Л., Кожевников В. А., Щуковская Т. Н.**

*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора, Саратов, Россия*

**Аннотация.** Изучено влияние возрастных, гендерных показателей, антигенных детерминант групп крови и данных по типированию генов гистосовместимости человека (HLA) II класса на показатели Th1 (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) и Th2 (IL-4, IgG) иммунного ответа, а также на иммунорегуляторный индекс (ИРИ). Установлена связь цитокинового профиля иммунизированных против чумы лиц с их возрастом, группой крови и вариантами гаплотипов HLA II класса.

**IDENTIFICATION OF ADDITIONAL FACTORS INFLUENCING THE IMMUNOLOGICAL STATUS OF PERSONS VACCINATED AGAINST PLAGUE**

**Kudryavtseva O. M., Goncharova A. Yu., Bugorkova S. A., Klyueva S. N., Kravcov A. L., Kozhevnikov V. A., Shchukovskaya T. N.**

*Russian Research Anti-Plague Institute «Microb», Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** The influence of age, gender indicators, antigenic determinants of blood groups and data on the typing of human histocompatibility complex (HLA) class II on the indicators of Th1 (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) and Th2 (IL-4, IgG) immune response, as well as on the immunoregulatory index (IRI) was studied. The connection of cytokine profile of immunized against plague persons with their age, blood group and variants of haplotypes of HLA II class was established.

**Введение.** Комплекс профилактических мероприятий на территории природных очагов чумы Российской Федерации включает в себя вакцинацию людей из групп риска, проводимую в соответствии с Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям [1]. В рамках иммунологического мониторинга нами была проведена оценка поствакцинального иммунитета у людей, привитых вакциной чумной живой (ВЧЖ) на основе вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ (производства ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора).

**Целью** данного исследования было изучение влияния возрастных, гендерных показателей, антигенных детерминант групп крови и данных по типированию генов гистосовместимости человека (HLA) II класса на показатели Th1 (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) и Th2 (IL-4, IgG) иммунного ответа, а также иммунорегуляторный индекс (ИРИ) лиц, вакцинированных ВЧЖ.

**Материалы и методы.** Кровь 172 добровольцев (102 женщины, 70 мужчин) от 22 до 69 лет (средний возраст 41,6 года) забирали до, через 1, 6, 12 месяцев после вакцинации (ревакцинации) ВЧЖ. Продукцию маркерных цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 и IgG определяли методом ТИФА с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Иммунофенотипирование Т-лимфоцитов хелперов (Th)-CD4<sup>+</sup> и цитотоксических Т-лимфоцитов (Tcyt) CD8<sup>+</sup> осуществляли на проточном цитометре CyAn ADP (Дания) с использованием моноклональных антител Cyto-StatCD45/CD4/CD8/CD3 FITS/PE/ECD/PC5 (BACKMAN COULTER) Для каждого обследуемого вычисляли ИРИ по отношению Th к Tcyt (Th /Tcyt) [2]. Типирование генов HLA II класса проводили методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-Прайм («НПО ДНК-Технология», Россия) с использованием комплектов реагентов HLA-ДНК-ТЕХ для детекции аллелей локусов DQA1, DQB1 и DRB1 («НПО ДНК-Технология», Россия).

**Результаты и обсуждение** Анализ показателей трех возрастных групп выявил увеличение продукции IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-4 у лиц моложе 25 и старше 50 лет (таблица).

**Таблица.** Влияние дополнительных факторов на продукцию маркеров поствакцинального иммунитета у лиц, привитых против чумы

Факторы		Маркеры Th1-Th2 (Me(Q25-75))				ИРИ
		IFN- $\gamma$ (пг/мл)	TNF- $\alpha$ (пг/мл)	IL-4 (пг/мл)	IgG (пг/мл)	
Пол	мужской	19,8 (9,4-192,7)	7 (2,9-69,6)	2,5 (1-9,2)	14,6 (9,6-18,9)	1,7 (1,3-2,2)
	женский	21,7 (8,8-270,1)	7 (2,4-80,5)	2,3 (0,7-5,3)	14,4 (8,6-20,6)	1,6 (1,3-2)
Возраст	≤ 25 лет	73,7 (13,8-254,7)*	24,5 (2,9-180,7)*	1,2 (0,7-5,6)*	11,7 (7,9-16,3)	1,2 (1-1,5)
	26–50 лет	17,7 (8,8-177,8)	5 (2,4-62,8)	2,6 (0,9-8,9)	14,4 (8,7-20,0)	1,6 (1,3-2,2)
	≥ 50 лет	171,8 (8,9-342)*	32,7 (6-179,6)*	1,7 (1-4)*	17,1 (10,8-22,5)	1,9 (1,4-2,4)
Группы крови	I(O)	122,9 (10-399,6)*	44,1 (4,5-84,4)*	2,0 (0,7-7,7)	16,3 (10,8-21,4)	1,75 (1,4-2,2)
	II(A)	55,1 (9,6-271)*	24,5 (1,8-97,6)*	2,6 (1,3-10,3)	13,4 (8,4-19,2)	2 (1,4-2,6)
	III(B)	155,7 (12,3-359,7)*	27,7 (3,1-95,9)*	2,6 (1,1-6,5)	14,03 (8,7-22,2)	1,5 (1,2-2)
	IV(AB)	14,2 (6,4-249)*	3,7 (0,9-152,9)*	1,7 (0,5-3,8)	14,4 (8,5-17,9)	1,9 (1,4-2,4)
Гаплотипы HLA II класса	DQA1 *01:01; *01:02; *01:03	24,2 (10-311)	7,2 (2,9-83,5)	2,8 (0,7-7,6)	16,6 (10,6-22,2)	1,9 (1,5-2,5)

DQA1 *02:01	17,7 (8,4-124,7)	6,2 (2,4-26,5)	2,5 (1-5,3)	15 (10,7-9,2)	1,4 (1,2-2,9)
DQA1 *03:01	16,3 (7,8-192,7)	4,6 (1,4-84,4)	2,5 (1-10)	11,4 (7-22,4)	1,6 (1,3-2)
DQA1 *05:01	28 (6-359,7)	12,7 (1,9-102,2)*	2,3 (1-9,2)	13,8 (10,4-17,6)	1,6 (1,1-9)
DQB1 *02	19,9 (10-200)	7,2 (2,4-47,2)	1,7 (0,9-3,5)	15,3 (10,2-21,3)	1,8 (1,4-2,4)
DQB1 *03:01	16,9 (7,3-192,7)	5,7 (2,4-81,9)	2,7 (0,8-9,2)	13,8 (6,3-17,6)	1,5 (1,1-1,7)
DQB1 *05:01	234,5 (9,6-413,8)*	49,6 (4,1-129)*	2,5 (0,7-5,3)	9,6 (8,4-18,2)	1,8 (1,3-2,4)
DRB1 *01	18,1 (9,9-234,5)	5 (2,4-57,4)	2,8 (0,6-7,6)	15,6 (10,7-22,8)	1,8 (1,2-2,2)
DRB1 *03	114,9 (14,6-271)*	25,3 (2,5-67,3)*	1,6 (0,9-3,5)*	14,7 (10,8-18,9)	1,4 (1,2-1,9)
DRB1 *04	16,3 (8,1-270,1)	6,3 (2,5-84,4)	3,1 (1,1-9,2)*	12,5 (8,4-19,8)	1,7 (1,3-2,3)
DRB1 *07	20,8 (10-186,3)	7,1 (2,9-33,1)	2,5 (0,9-10)	19,8 (11,5-22,2)	1,6 (1,5-2,2)
Средние показатели маркеров Th1-Th2	20,2 (8,9-270,1)	7 (2,7-78,1)	2,3 (0,9-6,9)	14,5 (8,9-20,1)	1,6 (1,3-2,2)

**Примечание:** \* – достоверность ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с аналогичным средним показателем.

У вакцинированных людей с I, II и III группами крови показатели IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  были выше среднего, а у лиц с IV группой – достоверно ниже, что согласуется с данными об иммунологической недостаточности по T-системе иммунитета у людей с IV группой крови [3]. У носителей геновариантов HLA-DQA1 \*05:01, DQB1 \*05:01, а также DRB1 \*03 и DRB1 \*04 показатели IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-4 достоверно отличались от средних значений по выборке ( $p \leq 0,005$ ), что согласуется с представленными ранее данными [4]. На показатели IgG и ИРИ исследуемые факторы не оказывали существенного влияния.

**Выводы.** Таким образом, установлена связь цитокинового профиля иммунизированных против чумы лиц с их возрастом, группой крови и вариантами генов HLA II класса.

#### Литература:

1. Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 125н; 2014.
2. Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Микшис Н.И., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Бембеева Е.С., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории прикаспийского песчанного очага чумы в республике Калмыкия // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17. № 3 (100). С. 38–49. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50.
3. Караулов А.В. Клиническая иммунология. М.: Медицинское информационное агентство, 1999. 606 с.
4. Кудрявцева О.М., Шуковская Т.Н., Микшис Н.И., Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Хаськова Б.А., Щербакова С.А. Выявление ассоциаций генов HLA II класса главного комплекса гистосовместимости с особенностями иммунного ответа у лиц, вакцинированных живой чумной вакциной в республике Калмыкия // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 3. С. 95–99. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-95-99.

УДК: 614.4

## СОСТОЯНИЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К КОРИ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Макарова В. Г., Устинова О. Ю., Долгих О. В.

*ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления  
рисками здоровью населения», Пермь, Россия*

**Аннотация.** Проведено исследование состояния поствакцинального иммунитета к кори у детей с повышенным содержанием химических токсикантов в биосредах организма, обусловленным воздействием внешней среды. Установлено, что содержание поствакцинальных антител у данной категории детей достоверно ниже показателей детского населения, проживающего в условиях санитарно-гигиенического благополучия среды обитания, а нарушения формирования поствакцинального иммунитета к кори встречаются в 1,3–1,6 раза чаще.

**Ключевые слова:** иммунопрофилактика, население, техногенное загрязнение среды обитания, поствакцинальный иммунитет.

## STATUS OF POST-VACCINATION IMMUNITY TO MEASLES IN CHILDREN LIVING IN CONDITIONS OF ANTHROPOGENIC POLLUTION

Makarova V. G., Ustinova O. Yu., Dolgikh O. V.

*FBSI «FSC for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies», Perm, Russia*

**Abstract.** The present study is focused on the investigation of postvaccination immune status to measles in children with high content of chemical toxicants in the organisms due to environment factors. It is established that the concentration of postvaccinal antibodies in this category of children is authentically lower than that of the children living in healthier sanitary and hygienic environment conditions, and disorders of postvaccination immune response development to measles occur 1.3–1.6 times more frequently.

**Key words:** immunization, population, anthropogenic environment pollution, post-vaccination immune status.

**Введение.** В условиях широкого охвата детского населения профилактическими прививками и многолетней спорадической заболеваемостью корью сохраняется риск возникновения заболеваний у населения с низким протективным уровнем антител и утратившего поствакцинальный иммунитет. Результаты эпидемиологических исследований показывают, что заболеванию подвержены непривитые, но имеются данные, что среди всех заболевших привитые ЖКВ составляют до 20,5%, в том числе получившие две дозы вакцины – 13,2% [1, 3]. Эпидемиологическая оценка защищенности от кори различных возрастных групп населения РФ позволила выявить группы повышенного риска заболевания. Дети 6, 13–14 лет, подростки 15–17 лет и взрослые 18–19 лет, однократно привитые живой коревой вакциной, отнесены к группе повышенного риска, поскольку среди этого контингента выявляется значительный процент серонегативных лиц (12,9–14,1%) [1, 3]. Кроме того, группой риска являются дети, проживающие в условиях хронического воздействия техногенных факторов среды обитания, у которых в 3 раза чаще регистрируются серонегативные реакции. По данным литературы у детей 10–14 лет, проживающих на территориях антропогенного загрязнения, установлено отсутствие защитных уровней антител к кори – в 28–37% обследованных [3, 5]. Известно, что техногенное загрязнение среды обитания химическими веществами с иммуносупрессивным механизмом действия снижает эффективность иммунопрофилактики, что может способствовать развитию эпидемического неблагополучия [2, 5]. У детей с содержанием в биосредах токсикантов (свинец, марганец, никель, хром, ванадий, формальдегид, хлороформ, дихлорэтан, ароматические углеводороды, фенол) выше референсных/фоновых

уровней установлено снижение относительно физиологической нормы абсолютного и относительного содержания зрелых Т-лимфоцитов и их субпопуляций ( $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ), количества киллерных ( $CD16^+CD56^+$ ), антителопродуцирующих ( $CD19^+$ ) клеток и угнетение медиаторов  $T_H1$  типа, продукции цитокинов  $T_H2$  типа ( $IL-4$ ,  $IL-6$ ) [2, 4]. Снижение иммунологической реактивности сопровождается угнетением неспецифической резистентности организма, что может препятствовать формированию и сохранению полноценного поствакцинального иммунитета [1, 4]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что оценка эффективности мероприятий иммунопрофилактики на территориях санитарно-гигиенического неблагополучия только по показателям документированной привитости и эпидемиологической эффективности не дает полного представления о защищенности населения против кори и требует более широкого внедрения дополнительных мероприятий, направленных на повышение эффективности иммунопрофилактики против кори у детей.

**Целью** исследования являлось изучение состояния поствакцинального иммунитета к кори у детей с повышенным содержанием в крови химических токсикантов.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлись 276 детей в возрасте 4–6 лет, у которых, в соответствии с «Национальным календарем прививок», была выполнена плановая профилактика кори вакциной «ЖКВ», (вакцинация в 12 месяцев, ревакцинация – в возрасте 6 лет) и не имевших поствакцинальных реакций. 219 детей (группа наблюдения) проживали на территории крупного промышленного центра с многопрофильным характером промышленного производства, 57 детей (группа сравнения) – на территории относительного санитарно-гигиенического благополучия. Химико-аналитические исследования содержания токсикантов в биосубстратах (кровь) и атмосферном воздухе проводилась методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, капиллярной газовой хроматографии и парафазного анализа в соответствии с методическими указаниями. Оценка состояния поствакцинального иммунитета к возбудителю кори – через три и четыре года после вакцинации и один год – после ревакцинации ЖКВ на основании исследования содержания циркулирующих специфических поствакцинальных антител. Оценка содержания поствакцинальных антител осуществлялась методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем: «Anti-Measles Viruses ELISA (IgG)», предназначенных для количественного определения *in vitro* антител класса IgG (а также классов IgM и IgA) вирусу кори в сыворотке крови. Оценка межгрупповых различий исследуемых показателей проводилась с использованием стандартных методов параметрической статистики.

**Результаты и обсуждение.** На территории проживания детей группы наблюдения натурные исследования атмосферного воздуха позволили идентифицировать в отобранных пробах хром, свинец, марганец – в концентрациях до 1,5 ПДК с.с., крезолы и фенол – до 2,3–4,0 ПДК с.с.

В результате химико-аналитических исследований крови детей группы наблюдения установлено, что содержание марганца, свинца, хрома, фенола и о-крезола достоверно ( $p=0,01-0,0001$ ) в 1,4–4,0 раза превышало референсные/фоновые уровни. Кроме того, содержание данных химических веществ было в 1,2–4,9 раза выше аналогичных показателей группы сравнения.

Изучение показателей системного иммунитета у детей группы наблюдения позволило установить достоверно более низкое абсолютное и относительное содержание антителопродуцирующих лимфоцитов ( $CD19^+$ ), сывороточного иммуноглобулина А ( $p=0,02$ ), и более высокое содержание лимфоцитов-киллеров ( $CD16^+56^+$ ), ( $p=0,01-0,001$ ), относительно группы сравнения. Одновременно выявлена тенденция активации неспецифических факторов защиты – абсолютного фагоцитоза, более низкое абсолютное содержание Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ), активных Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ), участвующих в стимуляции В-клеточной пролиферации и антителообразовании ( $p=0,07-0,08$ ).

Анализ среднегрупповых показателей содержания поствакцинальных антител к кори показал, что их уровень в обеих исследуемых группах в анализируемые сроки после вакцинации/первой ревакцинации соответствовал протективному (протективный уровень – 200,0-275,0 Мед/мл,  $p \leq 0,001$ ) – 933,78 – 1126,43 Мед/мл ( $p \leq 0,001$ ). В тоже время, у детей группы наблюдения во все исследуемые периоды содержание антител к возбудителю кори после вакцинации/ревакцинации ЖКВ было в 1,3–1,6 раза ниже группы сравнения ( $p = 0,025–0,0001$ ).

Загрязнение окружающей среды химическими веществами техногенного происхождения оказывает негативное влияние на состояние иммунной системы. Результаты проведенного исследования показали, что у детей с повышенным содержанием в биосредах марганца, хрома, свинца, фенола и о-крезола выше референсных/фоновых уровней, достоверно снижено абсолютное и относительное содержание субпопуляции лимфоцитов ( $CD4^+$  и  $CD19^+$ ), участвующих в антителообразовании на фоне снижения сывороточного иммуноглобулина А, и более высокое абсолютное и относительное содержание  $CD8^+$  и  $CD16^+56^+$  лимфоцитов. Дисбаланс субпопуляций лимфоцитов у детей, проживающих в условиях хронического воздействия химических веществ техногенного происхождения, свидетельствует об относительном истощении возможностей иммунной системы, что препятствует формированию адекватного иммунного ответа на вакцинный антиген.

**Выводы.** Выявленные изменения в иммунном статусе детей, проживающих в условиях техногенного загрязнения окружающей среды, более низкое содержание поствакцинальных антител к коревому антигену диктуют необходимость проведения иммунопотенциации при активной иммунизации для обеспечения полноценного специфического иммунитета у населения на территориях риска.

#### Литература:

1. Васнева Ж.П., Беляева Л.В., Шапошникова С.В. Напряженность поствакцинального гуморального иммунитета у детей // Сб. науч. Тр. «Организационные, диагностические и лечебные аспекты деятельности учреждений здравоохранения» – Воронеж, 2005. – С. 187–190.
2. Зайцева Н.В., Устинова О.Ю., Аминова А.И. Гигиенические аспекты нарушения здоровья детей при воздействии химических факторов среды обитания: руководство / под ред. Н.В. Зайцевой. – Пермь: Книжный формат, 2011. – 489 с.
3. Ильина С. В. Влияние техногенного загрязнения окружающей среды на эффективность вакцинопрофилактики у детского населения: автореф. дисс... докт. мед. наук. – Иркутск, 2008. – 24 с.
4. Zaitseva N.V., Ustinova O.Y., Aminova A.I., Luzhetsky K.P. Features of immunorehabilitation in Children with Immune Dysfunction Associated with Exposure to Adverse Environmental Factors // Allergy, asthma & immunology: from genes to clinical application: IV world asthma & COPD forum and XVI International congress on rehabilitation in medicine and immunorehabilitation (Paris, April 30-may 3, 2011). – Paris, 2011. – P. 219–222.
5. Zaitseva N.V., Ustinova O.Y., Aminova A.I., Maklakova O.A., Kobyakova O.A. Optimizing the system of diagnostics, treatment and prevention provided to children with environmentally induced transitory immune dysfunction // Evidence-based child health: a Cochrane review journal (Vienna, 23–26 june 2011). – P. 62–63.



**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОММЕРЧЕСКИХ  
ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОРЕВЫХ IgG МЕТОДОМ ИФА**

**Мамаева<sup>1</sup> Т. А., Калашникова<sup>2</sup> Н. А., Шершнева<sup>3</sup> Н. Н., Семенова<sup>2</sup> А. В., Наумова<sup>1</sup> М. А.**

<sup>1</sup>*ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Нижегородской области», Роспотребнадзора,  
Нижний Новгород, Россия*

<sup>3</sup>*ЗАО «ЭКОлаб» Московская область, г. Электрогорск, Россия*

**Аннотация.** Наряду с успехами программы элиминации кори выявлено снижение иммунитета у привитых с годами и несоответствие показателей заболеваемости корью с результатами определения IgG методом ИФА. Были оценены три коммерческие тест-системы: «ИФА-корь IgG» (Эколаб), «Anti-Measles Viruses ELISA/IgG» (Euroimmun), «ВектоКорь IgG» (Вектор Бест) с помощью панели отрицательных и сомнительных сывороток по данным «Вектор Бест» (208), полученной при серологическом обследовании 832 лиц, привитых коревой вакциной. Для стандартизации полученных результатов было использовано расчетное значение 0,2 МЕ/мл по ИФА как показатель защищенности от коревой инфекции. Установлено, что все 208 человек (25,0%), по данным «Вектор Бест», не защищены от коревой инфекции и должны быть ревакцинированы, тогда как, по данным других тестов («Euroimmun», «ЭКОлаб»), число незащищенных составило 111(13,3%) и 103 (12,4%) соответственно.

**EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF COMMERCIAL  
TEST SYSTEMS FOR THE DETERMINATION OF MEASLES IgG BY ELISA**

**Mamaeva<sup>1</sup> T. A., Kalashnikova<sup>2</sup> N. A., Shershneva<sup>3</sup> N. N., Semenova<sup>2</sup> A. V., Naumova<sup>1</sup> M. A.**

<sup>1</sup>*FBIS «G.N. Gabrichevsky Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology» of Rosпотребнадзор, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*FBHI «Center of Hygiene and Epidemiology in Nizhny Novgorod Region» of Rosпотребнадзор,  
Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>3</sup>*CJSC «EKOlalab», Moscow Region (Elektrogorsk), Russia*

**Abstract.** Along with the successes of the measles elimination program, a decrease in immunity in vaccinated over the years and inconsistency in measles incidence rates with the results of the determination of IgG by ELISA was revealed. Three commercial test systems namely «ELISA-measles IgG» (EKOlalab), «Anti-Measles Viruses ELISA/IgG» (Euroimmun) and «VektoMeasles IgG» (Vektor-Best), were evaluated using a panel of negative and doubtful sera according to the «Vector Best» data (208) obtained during a serological examination of 832 individuals vaccinated with measles vaccine. For the standardization of the results, a calculated value of 0.2 IU/ml by ELISA was used as an indicator of protection against measles infection. It was established that 208 people (25.0%), according to «Vector Best», were not protected from measles infection and must be revaccinated, whereas according to other tests (Euroimmun, EKOlalab), the number of protected ones was 111 (13.3%) and 103 (12.4%) respectively.

**Введение.** Для широкомасштабных исследований по оценке напряженности противокорьевого иммунитета, используется метод ИФА, так как он более доступен и не ограничен периодом вирусемии. Наряду с успехами выполнения программы элиминации кори выявлено снижение иммунитета у привитых с годами и несоответствие показателей заболеваемости корью с результатами определения иммунитета у привитых, особенно на территориях с низкой заболеваемостью или ее отсутствием [1, 7]. Это может быть связано как с организационными мероприятиями по проведению серо-эпидемиологического мониторинга, так и с использованием тест-систем, способность выявления антител которых зависит от их аналитических характеристик, включающих в себя и интерпретацию результатов [2, 6, 7].

**Целью** работы явилась оценка коммерческих тест-систем по определению коревых IgG в образцах сывороток, полученных от лиц, привитых коревыми вакцинами, непривитых и не болевших корью, а также лиц, перенесших корь в детстве.

**Материалы и методы.** Первоначальное тестирование 832 сывороток пациентов 2–49 лет методом ИФА с помощью тест-системы «ВектоКорь IgG» фирмы Вектор Бест было проведено на базе лаборатории Нижегородского регионального центра (РЦ). Негативными к вирусу кори оказались 133 (16,0%) человека, с результатами в сомнительной зоне было 75 (9,0%). Именно эти 208 сывороток, в которых антитела не были выявлены или были определены в низком титре, и стали материалом сравнительного исследования коммерческих тест-систем. Для сравнительной оценки специфических наборов были использованы сыворотки 62 человек 50–77 лет, имевших в анамнезе сведения о коревой инфекции, и 30 детей, непривитых и не болевших корью. Сравнительные исследования проведены на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского (Москва) с использованием тест-систем разных фирм: «ИФА-корь IgG» (ЭКОлаб), «Anti-Measles Viruses ELISA/IgG» (Euroimmun), «ВектоКорь IgG» (Вектор Бест). Оценку специфической активности сывороток осуществляли качественным (ОП) и количественным (МЕ/мл) способом согласно инструкции. В качестве теста, подтверждающего специфичность IgG, была реакция торможения гемагглютинации (РТГА) с 0,5% взвесью обезьяньих эритроцитов [3].

**Результаты и обсуждение.** Результаты тестирования сывороток не болевших корью и непривитых коревой вакциной показали высокую специфичность (100%) тест-систем производителей «Вектор Бест», «ЭКОлаб» и «Euroimmun». Не были они выявлены и в РТГА. В сыворотках 62 человек 50–70 лет, перенесших корь в раннем детстве, антитела регистрировались всеми используемыми тестами. С помощью РТГА специфические антитела были определены у всех в титре 1:10–1:320 (Тср.геом. = 24,6÷0,24).

Анализ результатов, полученных при тестировании сывороток привитых лиц, негативных к вирусу кори (таблица), показал, что в 30 и 22 случаях тестами «ЭКОлаб» и «Euroimmun» соответственно антитела были выявлены.

**Таблица.** Оценка серологических результатов, полученных с помощью тест-систем «ИФА-корь IgG» и «Anti-MeaslesViruses ELISA/IgG», в сравнении с данными «ВектоКорь IgG»

Тест-система, фирма, (Сомнительная зона, МЕ/мл):	Число обследованных: серонегативных* сомнительных** по «ВектоКорь IgG»	Количество лиц с результатами:					
		Положи- тельный		Сомните- льный		Отрицате- льный	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
«ИФА-корь IgG», «ЭКОлаб», (0,27–0,33 МЕ/мл)	133*	17	12,8	13	9,8	103	77,4
	75**	50	66,7	25	33,3	–	–
«Anti-MeaslesViruses ELISA/IgG», «Euroimmun» (0,2–0,275 МЕ/мл)	133*	4	3,0	18	13,5	111	83,5
	75**	40	53,3	35	46,7	–	–

**Примечание:** \* – сомнительная зона «ВектоКорь IgG» – (0,12–0,18 МЕ/мл).

Специфичность их была подтверждена в РТГА. В сыворотках с сомнительным результатом, по «Вектор Бест» (75), антитела были определены другими наборами как «положительные»: «ЭКОлаб» – 66,7%, «Euroimmun» – 53,3%. Отрицательные результаты с помощью этих наборов зарегистрированы не были. Полученные данные свидетельствуют о большей чувствительности диагностических наборов «ЭКОлаб» и «Euroimmun» по сравнению с тест системой фирмы «Вектор Бест». Выявленные различия в результатах, полученных разными тестами при исследовании одних и тех же сывороток, могут быть связаны с тем, что в качестве сорбционного материала производители фирм (Эколаб,

Euroimmun), используют инактивированный цельный вирус, тогда как сорбционная поверхность плашки фирмы «Вектор Бест» покрыта рекомбинантным нуклеокапсидным антигеном, способным, и это подтверждается литературными данными, обнаруживать только часть антител к вирусу кори – к белку нуклеокапсида [2]. Следует отметить, что тесты с цельным вирусом специфичны в основном для белков оболочки вируса (гемагглютинина, фузионного фактора) и поэтому они наиболее полно коррелируют с защитным уровнем антител и результатами реакции нейтрализации (РН) [2, 4]. Не менее важным вопросом является интерпретация результатов ИФА. Особую актуальность эта проблема имеет при проведении ревакцинирующих прививок, так как при низкой чувствительности тест-систем и существенных различиях показателей «сомнительной зоны» наборов разных фирм существует опасность вакцинации лиц, в сыворотках которых содержатся коревые антитела, то есть происходит недооценка положительных результатов [2, 7]. Для стандартизации полученных данных нами было использовано расчетное значение 0,2 МЕ/мл по ИФА как показатель защищенности от коревой инфекции [5]. Установлено, что все 208 человек с отрицательными и сомнительными результатами, по данным «Вектор Бест», не защищены от коревой инфекции, что составило 25% от числа обследуемых (832). По данным других тестов («Euroimmun», «ЭКОлаб») подобные показатели были практически одинаковы: 111 (13,3%) и 103 (12,4%) соответственно. Различия между показателями «Вектор Бест» и «Euroimmun», «Вектор Бест» и «ЭКОлаб», были статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что для определения восприимчивости к коревой инфекции следует учитывать аналитические свойства тест-систем ИФА. Результаты наших исследований показали, что ревакцинирующие прививки должны были получить 111 (13,3%) человек, по данным, полученным с помощью наборов «ЭКОлаб», вместо 208 (25,0%) по результатам, полученным при использовании тест-системы «Вектор Бест». Важность использования единого протокола исследований и правильности интерпретации полученных результатов подтверждается результатами серологической диагностики кори и работой лабораторной сети стран СНГ, которая является одним из ключевых элементов укрепления системы эпиднадзора за коревой инфекцией.

#### Литература:

1. Онищенко Г.Г. Корь в России: проблемы ликвидации / Г.Г. Онищенко, А.Ю. Попова, В.А. Алешкин // М.: Династия. – 2017. – 552 с.
2. Hartter, H.K. Evaluation of different measles IgG assays based on recombinant proteins using a panel of low-titre sera / H.K. Hartter, R.L. Swart de, F. Hanses, H.W.Vos, F.B. Bouche, A.D. Osterhaus, F. Schneider, C.P. Muller // J.Virol. Methods. – 2000. – V. 84. – P. 191–200.
3. Norrby, E. Hemagglutination by measles virus. A simple procedure for production of highpotency antigen for hemagglutination-inhibition (HI) tests / E. Norrby // Proc. Soc.Exp.Biol.Med. – 1962. – V. 111. – P. 814–818.
4. Swart De, RL. Relative contributions of measles virus hemagglutinin-and fusion protein-specific serum antibodies to virus neutralization / De RL Swart, S. Yuksel, A.D. Osterhaus // J. of Virology. – 2005. – V. 79 (17). – P. 11547–11551.
5. Tischer A. Vaccinated students with negative enzyme immunoassay results show positive measles virus-specific antibody levels by immunofluorescence and plaque neutralization test / A. Tischer, M. Gassner, J.L. Richard, F. Suter-Riniker, A.Mankertz, U. Heininger. // J. Clin. Virology. – 2007. – V. 38. – P. 204–209.
6. Tischer A. Standartization of measles, mumps and rubella assays to enable comparisons of seroprevalence data across 21 European countries and Australia / A.Tischer, N. Andrews, G. Kafatos, A. Nardone, G.Berbers, I. Davidkin et. al. // Epidemiology and Infection. – 2007. – V. 135. – P. 777–797.
7. WHO. Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome. 3-end. Geneva, Switzerland: WHO. – 2018. – P. 583.

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУННОГО ОТВЕТА  
НА ОСНОВАНИИ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОГО СТАТУСА  
ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ КОРИ, КРАСНУХИ  
И ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА**

**Топтыгина<sup>1</sup> А. П., Гребенников<sup>2</sup> Д. С., Бочаров<sup>2</sup> Г. А.**

<sup>1</sup>ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука» РАН, Москва, Россия

**Аннотация.** Успешная вакцинация подразумевает индукцию эффективных специфических иммунных реакций. Целью исследования было найти биомаркеры среди различных субпопуляций иммунных клеток, цитокинов и антител, пригодные для прогнозирования уровней специфических антител и клеточного иммунного ответа после вакцинации против кори, краснухи и паротита. Для этого мы до начала вакцинации измеряли 59 исходных параметров иммунного статуса (частоты 42 субпопуляций лимфоцитов, уровни 13 цитокинов, иммуноглобулинов) и 13 переменных ответа (специфический IgA и IgG, индуцированная антигеном IFN- $\gamma$ , экспрессия CD107a на CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитах и уровни клеточной пролиферации путем окрашивания CFSE) через 6 недель после вакцинации у 19 человек. Для каждой переменной отклика были найдены статистически значимые корреляции Спирмена между некоторыми исходными параметрами и переменными ответа ( $p < 0,05$ ). Из-за небольшого числа наблюдений относительно количества исходных параметров применение автоматических процедур пошагового построения моделей множественной линейной регрессии минимальной длины было невозможно. Чтобы уменьшить количество параметров-кандидатов, мы вручную выбрали для каждой переменной ответа 5 параметров, которые коррелировали с переменной ответа с  $p < 0,2$ , и которые были наименее коррелированы попарно между собой. В результате удалось построить минимальные модели множественной линейной регрессии для предсказания уровней поствакцинальных антител и опосредуемых клетками иммунных ответов, содержащие не более 5 предикторов для каждой переменной ответа.

**THE PREDICTION OF SPECIFIC IMMUNE RESPONSES USING BASELINE IMMUNE  
STATUS PARAMETERS TO MEASLES-MUMPS-RUBELLA VACCINATION**

**Toptygina<sup>1</sup> A. P., Grebennikov<sup>2</sup> D. S., Bocharov<sup>2</sup> G. A.**

<sup>1</sup>*G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Marchuk Institute of Numerical Mathematics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

**Abstract.** Successful vaccination involves the induction of effective specific immune responses. The aim of the study was to find biomarkers among various subsets of immune cells, cytokines and antibodies, suitable for predicting the levels of specific antibodies and the cellular immune response after vaccination against measles, rubella and mumps. Before vaccination, we measured 59 initial immune status parameters (frequencies of 42 lymphocyte subsets, levels of 13 cytokines, immunoglobulins) and 13 variable responses (specific IgA and IgG induced by the IFN- $\gamma$  antigen, expression of CD107a on CD8<sup>+</sup> T lymphocytes and levels cell proliferation by CFSE staining) 6 weeks after vaccination in 19 children. For each response variable, Spearman's statistically significant correlations were found between some initial parameters and response variables ( $p < 0.05$ ). Due to the small number of observations regarding the number of initial parameters, an automatic step-by-step procedure for the minimum adequate multivariable linear regression was impossible without overparameterization. To reduce the number of candidate parameters, we manually selected 5 parameters for each response variable, which correlated with the response variable with  $p < 0.2$ , and which were as inconsistent as possible. As a result, we managed to identify the minimal adequate predictive multiparameter models of linear regression of post-vaccination antibodies and cell-mediated responses with an accuracy of 5 predictors in each model.

**Введение.** В XXI веке ВОЗ приняла программу элиминации кори. Несмотря на серьезные усилия по претворению этой программы в жизнь, желаемый результат не был достигнут ни в 2010, ни в 2015 г. В настоящее время поставлена задача элиминировать корь к 2020 г. Однако даже в странах ЕС с высоким уровнем охвата вакцинацией в 2017–2018 годах произошло несколько серьезных вспышек кори, охвативших несколько десятков тысяч человек [1, 2]. Еще в допрививочную эпоху было установлено, что заболевание корью дает пожизненный иммунитет. После вакцинации также формируется защитный иммунитет, однако, высота и продолжительность поддержания защитного уровня антител различается от человека к человеку. Более того, в защите от кори принимает участие также и клеточный иммунитет [3]. Показано, что существуют варианты HLA, ассоциированные с высоким гуморальным, или, напротив, с высоким клеточным иммунитетом [4]. Ранее нами было показано, что состояние иммунной системы перед вакцинацией (субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, уровень антител основных классов и цитокиновый профиль сыворотки крови) оказывает влияние на высоту и продолжительность поствакцинального иммунного ответа [5]. В связи с этим, **целью** настоящей работы было исследовать, какие именно субпопуляции лимфоцитов периферической крови и цитокины коррелируют с формированием специфических клеточных и гуморальных ответов на вакцинацию против вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита.

**Материалы и методы.** В исследовании приняло участие 19 детей (9 мальчиков и 10 девочек) в возрасте от 1 до 2 лет (средний возраст 1 год 3 мес.). Эти дети ранее не прививались против кори, краснухи и эпидемического паротита, не болели этими заболеваниями и подлежали плановой вакцинации против этих инфекций. Все дети были привиты вакциной Приорикс (GlaxoSmithKline, Бельгия), содержащей живые вакцинные штаммы вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита. Работа была одобрена этической комиссией ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, родители подписывали информированное согласие на участие детей в программе исследований. До вакцинации, через неделю и через 6 недель после нее проводили взятие крови из локтевой вены в количестве 6 мл. Фракцию мононуклеаров выделяли методом градиентного центрифугирования. Мембранные CD-маркеры (42 субпопуляции лимфоцитов) определяли методом проточной цитофлюорометрии в реакции прямой иммунофлюоресценции, реактивы и технологии BD Biosciences: цитометр FACS Calibur, программа сбора и обработки информации CellQuest. Уровень общих антител в сыворотке крови классов G, M, A, E определяли методом турбидиметрии. Содержание 13 цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  и TNF- $\alpha$  оценивали как в сыворотке крови, так и в супернатантах культур на двухлучевом лазерном автоматизированном анализаторе (Bio-plex Protein Assay System, Bio-Rad, USA) с использованием коммерческих тест-систем (определяемый динамический диапазон 0,2–3200 пг/мл) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. На 42 день, то есть через 6 недель после вакцинации, измерили специфические иммунные ответы против каждого вируса: специфические IgA и IgG- антитела методом ИФА, антиген-индуцированную продукцию IFN- $\gamma$ , экспрессию CD107a на CD8<sup>hi</sup> T-клетках и уровни клеточной пролиферации по окрашиванию CFSE (13 переменных ответа).

**Результаты и обсуждение.** Учитывая одинаковые наборы из 59 параметров иммунного статуса до и через 7 дней после вакцинации, мы проанализировали их межиндивидуальную вариацию, а также внутрииндивидуальную вариацию во времени. Параметры были отсортированы по их суммарному изменению. Большинство параметров сильно различались между индивидуумами и не слишком сильно изменялись на 7-й день. И наоборот, некоторые из них проявляли временные изменения больше, чем их базовое изменение между субъектами, например, CD3<sup>+</sup>DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD16/56<sup>+</sup> субпопуляции лимфоцитов. Чтобы определить параметры, которые изменяются когерентно на 7-й день, мы использовали критерий знаковых рангов Уилкоксона (одновыборочный критерий) для десятичного логарифма значений параметров на 7-й день, разделенных на их значения в день 0. Выявлено 15 из 59 параметров, которые когерентно изменились, т. е. при  $p < 0,05$  уровень

значимости (рассчитанный с применением коррекции для множественного тестирования на основе коэффициента ложного обнаружения). Выявлены параметры, которые могут участвовать в развитии ранней стадии поствакцинального иммунного ответа.

Далее мы рассмотрели взаимосвязи между базовым набором иммунных параметров и переменных ответа. Сначала мы провели корреляционный анализ на основе величин коэффициентов ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимые корреляции Спирмена между некоторыми исходными параметрами и переменными ответа были найдены для каждой переменной ответа ( $p < 0,05$ ). Корреляции с  $p < 0,20$ , а также парные корреляции между базовыми параметрами позже использовали в процессе целенаправленного выбора параметров-кандидатов в качестве объясняющих переменных в прогностических моделях множественной линейной регрессии. Были установлены сильные корреляции иммунологических параметров каждой категории (клетки, цитокины, антитела) с переменными ответа против каждого антигена, ответственного за опосредованный клетками или антителами иммунный ответ. Например, уровни клеточной пролиферации и экспрессия CD107a на CD8<sup>+</sup> Т-клетках как для кори, так и для краснухи сильно коррелируют с IL-8. Уровни пролиферации для кори и краснухи сильно коррелируют с уровнем IL-8, IL-7, CD3<sup>+</sup> CD16/56<sup>+</sup>. Продукция IFN- $\gamma$ , индуцированная как вирусами кори, так и краснухи, сильно коррелирует с клетками CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>, продукция IFN- $\gamma$ , индуцированная антигенами вируса краснухи, коррелирует также с общим числом лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>, CD122<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD45RO<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> и CD27<sup>+</sup> клетками. Специфичные для паротита IgA и IgG сильно коррелируют с клетками CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>, только IgA коррелирует также с клетками CD38<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>, CD122<sup>+</sup>, CD127<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> и с IL-1. Специфичный к кори IgA сильно коррелирует с уровнями IL-17, TNF- $\alpha$  и CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> клеток, специфичный к кори IgG – с уровнями TGF- $\beta$  и IL-7. Наконец, мы попытались построить прогностические модели многомерной линейной регрессии с многовариантными переменными отклика через базовые параметры. Из-за малого количества наблюдений относительно количества базовых параметров и пропущенных данных для некоторых наблюдений применение автоматической процедуры пошагового построения минимальной модели множественной линейной регрессии было не эффективно. Чтобы уменьшить количество параметров-кандидатов, мы вручную выбирали для каждой переменной отклика не более 5 максимально независимых параметров из множества параметров, которые максимально коррелировали с переменной отклика с  $p < 0,2$ , и которые наименее коррелировали между собой.

**Заключение.** С учетом параметров, выбранных вручную, нам удалось построить минимальные адекватные по точности прогноза модели многопараметрической линейной регрессии с переменными отклика характеризующими уровни поствакцинальных антител и клеточного иммунного ответа на вакцинацию с использованием до 4 предикторов в каждой модели. Эти модели дают представление о возможных взаимосвязях иммунных параметров и взаимодействиях, возникающих в ходе развития специфических поствакцинальных реакций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-01-00636.

#### Литература:

1. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Epidemiological update: Measles – monitoring European outbreaks, 7 July 2017. Stockholm: ECDC; [Accessed 31 Aug 2017]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-measles-monitoring-european-outbreaks-7-july-2017>
2. Filia A. Ongoing outbreak with well over 4,000 measles cases in Italy from January to end August 2017 – what is making elimination so difficult? A. Filia, A. Bella, M. Del Manso, M. Baggieri, F. Magurano, M. C. Rota // Euro Surveill. – 2017. – V. 22 (37) – P. 30614.
3. Топтыгина А.П. Формирование и поддержание специфического клеточного ответа на вакцинацию «Приорикс». / А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, В.А. Алешкин // Иммунология. – 2013. – Т. 34 (5). – С. 257–261.
4. Ovsyannikova I.G. Immunologic significance of HLA class I genes in measles virus-specific IFN-gamma and IL-4 cytokine immune responses / I.G. Ovsyannikova, J.E. Ryan, R.A. Vierkant, V.S. Pankratz, R.M. Jacobson, G.A. Poland // Immunogenetics. – 2005. – V. 57. – P. 828–836.

5. Топтыгина А.П. Прогнозирование специфического гуморального иммунного ответа на основании исходных параметров иммунного статуса детей, привитых против кори, краснухи и эпидемического паротита. / А.П. Топтыгина, В.В. Азиатцева, И.А. Савкин, А.А. Кислицин, Е.Л. Семикина, Д.С. Гребенников, В.А. Алешкин, А.В. Сулимов, В.Б. Сулимов, Г.А. Бочаров // Иммунология. – 2015. – Т. 36. № 1. – С. 22–30.

УДК: 614.4

## ИЗУЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ГРИППУ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНИЗАЦИИ В СЕЗОН 2018–2019

Ярковская<sup>1</sup> И. В., Вендеревская<sup>2</sup> Е. И., Щукина<sup>1</sup> И. А., Зубчонок<sup>2</sup> Н. В., Ходякова<sup>1</sup> И. А.,  
Бондарев<sup>1</sup> В. А., Савельев<sup>2</sup> С. И.

<sup>1</sup>Управление Роспотребнадзора по Липецкой области, Липецк, Россия

<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Липецкой области», Липецк, Россия

**Аннотация.** В статье проанализированы эпидемиологические особенности гриппозной инфекции на территории Липецкой области, проведена оценка популяционного иммунитета и эффективности профилактической иммунизации, подведены итоги мониторинга циркуляции вирусов гриппа.

**Ключевые слова:** эпидемическое распространение гриппа и ОРВИ, популяционный иммунитет, вакцинопрофилактика гриппа, эффективность вакцинации.

## STUDYING POPULATION IMMUNITY TO THE INFLUENZA AND EVALUATING THE EFFICACY OF IMMUNIZATION IN THE SEASON 2018–2019

Yarkovskaya<sup>1</sup> I. V., Venderevskaya<sup>2</sup> E. I., Shchukina<sup>2</sup> I. A., Zubchonok<sup>2</sup> N. V.,  
Khodyakova<sup>1</sup> I. A., Bondarev<sup>1</sup> V. A., Savelyev<sup>2</sup> S. I.

<sup>1</sup>Management Rosпотребнадзор Lipetsk region, Lipetsk, Russia

<sup>2</sup>The centre of hygiene and epidemiology in the Lipetsk region, Lipetsk, Russia

**Abstract.** The article analyzes the epidemiological features of influenza infection in the territory of the Lipetsk region, assessment of population immunity and assessed the effectiveness of preventive immunization, summarizes the monitoring of circulation of the actual strains of influenza viruses.

**Key words:** epidemic spread of influenza and ARVI, population immunity, vaccine prophylaxis of influenza, vaccination efficacy.

**Введение.** По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) сегодня являются самыми массовыми инфекционными патологиями в мире. Наиболее опасной из ОРВИ является грипп, ежегодно уносящий тысячи жизней. В настоящее время созданы предпосылки для успешного решения многих принципиально важных вопросов этой проблемы: функционирует эффективная система надзора за гриппом, разработаны высокоинформативные методы лабораторной диагностики и современные подходы к терапии. ВОЗ полагает, что наиболее эффективный путь сохранения жизни и здоровья населения – вакцинопрофилактика [1]. Современные гриппозные вакцины, разрешенные к применению на территории Российской Федерации, являются высокоэффективными и безопасными и соответствуют рекомендациям ВОЗ [4]. Увеличение охвата иммунизацией против гриппа в РФ с 4,9 млн в 1996 г. до 44,9 млн в 2014 г. привело к снижению заболеваемости в 152 раза: с 5173,8 на 100 тыс. в 1997 г. до 34,0 в 2015 г. [2].

Коллективный иммунитет является определяющим фактором в отношении распространения различных антигенных вариантов вирусов гриппа. Низкий уровень популяционного иммунитета в предэпидемический период служит предвестником значительного эпидподъема гриппа. Высокий уровень иммунитета населения на протяжении 2 лет указывает на вероятность смены вариантов вирусов гриппа [3]. Слежение за состоянием коллективного иммунитета к гриппу, объективная оценка эффективности иммунизации позволят своевременно корректировать противоэпидемические мероприятия.

**Материалы и методы.** Применен метод эпидемиологического анализа заболеваемости гриппом в сезон 2018–2019 гг. Детекция РНК вирусов гриппа проводилась методом ОТ-ПЦР с использованием тест-систем «AmpliSens Influenza virus A/B FL», «AmpliSens Influenza virus A тип- FL» и «AmpliSens Influenza virus A/H1-swine FL» (ООО «ИнтерЛабСервис», г. Москва).

Исследования состояния популяционного иммунитета в регламентированных возрастных группах (3) проводились с использованием диагностикумов гриппозных для РТГА A/Michigan/45/5015(H1N1)pdm, A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2), B/Colorado/06/2017 (ООО «ППДП», г. Санкт-Петербург). Оценка эффективности вакцинации проведена путем сравнения состояния популяционного иммунитета до вакцинации и через месяц после вакцинации среди привитого населения различных возрастных групп, согласно МУ 3.1.3490 – 17 [3].

**Результаты и обсуждение.** В Липецкой области ежегодно регистрировалось более 200 тысяч случаев ОРВИ, в том числе от 230 до 4,5 тысяч случаев гриппа, из них 1–7 случаев со смертельным исходом. С 2005 г. по 2015 г. охват вакцинацией против гриппа совокупного населения области поддерживался на уровне 28–32%, в 2016–2017 гг. был увеличен до 38–42,5%, что способствовало снижению интенсивности эпидподъемов, сокращению их длительность с 7–10 до 4–5 недель. Уровень заболеваемости гриппом снизился с 5224,8 на 100 тысяч в 1997 г. (при охвате прививками 1,8% населения) до 78,2 в 2018 г. Амплитуда снижения показателей заболеваемости в годы с эпидподъемами низкой интенсивности: от 3109,8 в 1998 г. до 19,8 на 100 тысяч в 2012 г.).

В августе 2018 г. в Липецкой области был исследован клинический материал от 5 возрастных групп для оценки состояния популяционного иммунитета в предэпидемический период (таблица): титры АТ к вирусу гриппа А(H1N1)pdm09 1/40 и выше выявлены у 68,8% населения, но к вакцинным штаммам вирусов гриппа А/H3N2 и В/линия Виктория титры АТ 1/40 и выше обнаружены только 22,7% и 24% лиц соответственно. Полученные результаты свидетельствовали о высокой вероятности развития эпидемии гриппа, обусловленной вирусами типов А(H3N2) и В, а также о наличии лиц с высоким риском развития тяжелых форм заболевания, в том числе летального исхода, обусловленных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09.

**Таблица.** Уровень серопротекции к вакцинным штаммам вирусов гриппа до вакцинации и через 1 месяц после вакцинации в Липецкой области в 2018 г.

Возрастная группа	Количество обследованных сывороток	Доля лиц с защитными титрами антител 1:40 и выше до вакцинации и через 1 месяц после вакцинации					
		А(H3N2) Сингапур		А(H1N1)pdm09 Мичиган		В Колорадо	
		До (%)	После вакцинации (%)	До (%)	После вакцинации (%)	До (%)	После вакцинации (%)
<b>Всего, в т. ч.:</b>	<b>150</b>	<b>22,7</b>	<b>78,0</b>	<b>64,0</b>	<b>92,0</b>	<b>24,0</b>	<b>74,0</b>
3–6 лет	30	0,0	73,3	66,7	93,3	13,4	63,3
7–14 лет	30	6,7	80,0	60,0	90,0	36,7	70,0
15–18 лет	30	30,0	83,3	76,7	93,3	26,7	70,0
18–60 лет	30	40,0	73,3	46,7	93,3	20,0	83,3
60 лет и старше	30	36,7	80,0	70,0	90,0	23,3	83,3

В целях обеспечения эпидемиологического благополучия населения в осенний период 2018 г. в области была проведена массовая иммунизация, в ходе которой прививками против гриппа удалось охватить более 47,2% жителей. Было привито 174,4 тыс. детей и 358,1 тыс. взрослых, из них 2161 беременная и более 200 тыс. человек с хроническими заболеваниями. За время кампании по вакцинации (использовались преимущественно вакцины российского производства «Совигрипп») не было зарегистрировано ни одного случая поствакцинального



осложнения, в т. ч. среди детей первого года жизни, беременных, лиц с сахарным диабетом, бронхиальной астмой и др. хроническими заболеваниями.

В декабре 2018 г. проведен 2 этап работы по изучению популяционного иммунитета – лабораторная оценка эффективности вакцинации лиц, привитых в сентябре-октябре 2018 г. Полученные результаты показали достаточный уровень сероконверсии после вакцинации (в 2–3 раза при индикативном показателе 2,0), увеличение удельного веса лиц с защитным уровнем антител до 74% против гриппа типа В (линия Виктория), до 78% против гриппа А(Н3N2), до 92% против гриппа А(Н1N1)pdm09. По лабораторным данным в области был достигнут уровень популяционного иммунитета, препятствующий развитию эпидемии гриппа высокой интенсивности. Однако, сохранялся риск заболевания гриппом с распространением среди не привитых и не исключалась регистрация единичных случаев гриппа у привитых, но не отреагировавших на вакцинацию в силу индивидуальных особенностей.

Анализ фактической заболеваемости в сезон 2018–2019 гг. показал, что проведенная вакцинация существенно повлияла на течение эпидемического процесса. Первые случаи гриппа в области были зарегистрированы нехарактерно рано – в начале ноября 2018 г. – и вызваны вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09. Доминирование этого подтипа сохранялось на протяжении ноября–декабря 2018 г. и января 2019 г.: зарегистрировано 177 случаев А(Н1N1)pdm09 (89,8%) против 20 случаев гриппа А(Н3N2). Затем ситуация изменилась: с февраля 2019 г. по 10 апреля было выявлено 72 случая А(Н3N2) (77,4%) против 21 – А(Н1N1)pdm09. Но, несмотря на активную циркуляцию вирусов гриппа среди не привитых, уровень заболеваемости населения на протяжении всего эпидсезона оставался неэпидемическим, уровень госпитализации не превышал среднемноголетнего, не было зарегистрировано летальных исходов гриппа и ОРВИ. Показатели заболеваемости ОРВИ и гриппом не превысили расчетного порога, требующего введения массовых ограничительных противоэпидемических мероприятий. Количество зарегистрированных в январе–марте 2019 г. случаев ОРВИ снизилось на 10,5% (или на 8213 чел.), количество случаев лабораторно подтвержденного гриппа – на 42,5% по сравнению с 2018 г.

Анализ верифицированных случаев гриппа показал высокую эффективность иммунопрофилактической кампании: в эпидсезон 2018–2019 гг. заболеваемость гриппом непривитых (43,0 на 100 тысяч населения) была в 9,95 раза выше, чем привитых (4,3 на 100 тысяч).

#### **Заключение.**

1. Вакцинация против гриппа оказывает существенное влияние на динамику заболеваемости гриппом, интенсивность и длительность эпидемических подъемов, предупреждает развитие летальных исходов, в 9 и более раз снижает риск заболевания гриппом у привитых.

2. Современные вакцины против гриппа безопасны как для условно здорового населения, так и для лиц групп риска.

3. Динамическое изучение популяционного иммунитета к актуальным вирусам гриппа позволит своевременно корректировать комплекс противоэпидемических мероприятий.

4. Для обеспечения эпидемиологического благополучия населения целесообразно ежегодно проводить иммунопрофилактику гриппа с охватом не менее 45–50% населения.

#### Литература:

1. «Грипп»: Информационный бюллетень – Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/ru/>
2. «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 г.»: Государственный доклад – Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2016. – С. 98–104.
3. «Изучение популяционного иммунитета к гриппу у населения Российской Федерации». Методические указания. – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017. – 31 с.
4. Никифорова А.Н. с соавт. «Результаты изучения безопасности и иммуногенности отечественной субъединичной адьювантной вакцины Совигрипп у добровольцев 18–60 лет». – «Эпидемиология и вакцинопрофилактика», 2014. № 2 (75) – С. 72–76.

**РАЗДЕЛ 8. ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА,  
ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУННОГО  
СТАТУСА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

УДК: 577.27:612.017.1

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОЗРЕВАНИЯ Т-ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ХЕЛПЕРОВ**

**Воронина Е. В., Талаев В. Ю., Талаева М. В., Заиченко И. Е., Бабайкина О. Н.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Исследовали созревание Т-фолликулярных хелперов человека при стимуляции наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов различными аллогенными антигенпрезентирующими клетками *in vitro*. Показано, что В-лимфоциты индуцируют преимущественное созревание Т-клеток, фенотипически идентичных Т-фолликулярным хелперам. Эти клетки лишены CCR7, несут на мембране CXCR5, CD40L, OX40, ICOS и PD-1. Часть этих клеток экспрессирует ядерный фактор Bcl-6. Стимуляция наивных Т-лимфоцитов дендритными клетками не индуцирует образование типичных Т-фолликулярных хелперов, но стимулирует созревание Т-хелперов с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CXCR5<sup>-</sup>.

**RESEARCH OF MATURING T-FOLLICULAR HELPER CELLS**

**Voronina E. V., Talayev V. Yu., Talaeva M. V., Zaichenko I. E., Babaykina O. N.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** It was examined T-follicular helper cells maturation in cultures of human naïve CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes stimulated by allogeneic B cells or dendritic cells. It was shown that B cells predominantly stimulated the maturation of T-lymphocytes with phenotype of T follicular helper cells. These cells were CD4<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CXCR5<sup>+</sup>CD40L<sup>+</sup>OX40<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup>ICOS<sup>+</sup>. Part of these cells express nuclear factor Bcl-6. Dendritic cells did not stimulate the maturation of T follicular helper cells, however induced generation of CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CXCR5<sup>-</sup> T helper cells.

**Введение.** Т-фолликулярные хелперы (Тфх) являются одной из субпопуляций CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, основная функция которых заключается в активации В-лимфоцитов и индукции гуморального иммунного ответа [1, 2]. Тфх необходимы для формирования герминативных центров внутри фолликулов вторичных лимфоидных органов и созревания фолликулярных В-лимфоцитов, способных переключению изотипов иммуноглобулинов [3, 4]. Экспрессия хемокинового рецептора CXCR5, локализирующего клетки в области фолликулов вторичных лимфоидных органов, является отличительным признаком зрелых CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> Тфх. Тфх не экспрессируют хемокиновый рецептор CCR7, но отличаются высокой экспрессией функциональных молекул, таких, как ICOS и PD-1, OX40 и CD40L [1, 6, 7]. Основным мастер-регулятором созревания Тфх считается ядерный фактор транскрипции Bcl-6 [7-10]. Предполагается, что для созревания в Тфх, наивные CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты должны вступить во взаимодействие с дендритными клетками в Т-клеточной зоне лимфатического узла, активироваться, при этом на части клеток (пре-Тфх) должен экспрессироваться хемокиновый рецептор CXCR5, необходимый для хоминга в В-клеточную зону [11]. Взаимодействие пре-Тфх с В-лимфоцитами индуцирует созревание Т-фолликулярных хелперов, а также приводит к созреванию самих В-лимфоцитов и формированию зародышевых центров [12]. Однако известно, что при отсутствии CD11c<sup>+</sup> ДК, происходит лишь частичное ослабление созревания Тфх [13]. Кроме того, при отсутствии МНСII<sup>+</sup> В-клеток, ДК индуцируют дифференцировку Тх с отдельными фенотипическими свойствами Тфх, но отсутствием экспрессии функционально значимого цитокина Тфх – IL-21 [9, 14-16]. Нами было показано, что наивные CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CD45RO<sup>-</sup> Т-лимфоциты крови человека содержат малую группу клеток, одновременно экспрессирующих

хемокиновые рецепторы CCR7, CXCR4 и CXCR5 [17]. По нашему предположению, экспрессия хемокинового рецептора CXCR5 на данных клетках может позволить им мигрировать в В-клеточную зону лимфатического узла, где дифференцировка Тфх будет осуществляться независимо от взаимодействий с ДК.

**Материалы и методы.** Исследовались смешанные культуры наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и ДК, наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и В-клеток. Наивные Т-хелперы и В-лимфоциты получали из периферической крови взрослых здоровых доноров при помощи иммуномагнитной сепарации с использованием наборов EasySep<sup>®</sup> Human Naïve CD4<sup>+</sup> T Cell Enrichment Kit и EasySep<sup>®</sup> Human B Cell Enrichment Kit (Stemcell technologies, США). ДК получали из моноцитов периферической крови. Чистота выделенных популяций клеток оценивалась при помощи лазерной проточной цитофлюориметрии по наличию или отсутствию линейных маркеров. Использовались популяции клеток с чистотой не менее 95%. Смешанные культуры Т- и В-лимфоцитов засеивали в соотношении 1:5, для воссоздания *in vitro* преобладания В-клеток в фолликулах и перифолликулярном пространстве. При засеивании смешанных культур Т-лимфоцитов и ДК использовали соотношение 5:1, для воспроизведения преобладания Т-клеток над антигенпрезентирующими клетками (АПК) в Т-клеточной зоне лимфоидных органов. Смешанные культуры в среде RPMI 1640 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки в течение 5 суток. Для оценки экспрессии ядерного фактора Bcl-6 после окрашивания поверхностных маркеров клетки фиксировали, пермеабелизировали мембраны и окрашивали моноклональными антителами к Bcl-6, конъюгированными с аллофикоцианином (eBioscience, США). Окрашенные пробы анализировали на проточном цитофлюориметре FacsCalibur (BD Biosciences, США). Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения CellQuest. Статистический анализ проводили с использованием t-теста Стьюдента для зависимых и независимых выборок.

**Результаты и обсуждение.** При совместном культивировании нТх и АПК, наивные Т-лимфоциты вступали в когнатные взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками, в результате чего происходила активация Т-лимфоцитов. Стимуляция Т-лимфоцитов аллогенными В-лимфоцитами способствовала превращению 20,1±2,9% Т-клеток в лимфобласты. Совместное культивирование нТх и ДК приводило к бласттрансформации 54,4±17,1% Т-клеток. К пятым суткам культивирования лимфобласты значительно увеличивались в размерах, что позволяло их четко отделять от покоящихся лимфоцитов в соответствии с показателями прямого и бокового светорассеивания при цитофлюориметрическом анализе. Анализ экспрессии молекулы CD45RO в смешанных культурах Т-хелперов с В-клетками показал, что более 60% CD4<sup>+</sup> лимфобластов экспрессировали маркер созревания CD45RO, в то время как практически все Т-хелперы из контрольной культуры без В-лимфоцитов и Т-хелперы лимфоцитарного гейта из смешанной культуры оставались незрелыми. Т-лимфобласты смешанных культур со зрелыми ДК обладали чрезвычайно высокой экспрессией CD45RO (95,13±1,51%). Оценивали экспрессию хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5 на CD4<sup>+</sup> Т-клетках смешанных культур. Большинство Т-лимфоцитов контрольных культур обладали экспрессией хемокинового рецептора CCR7 (78,3±6,6%), подавляющее большинство CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов смешанных культур с В-лимфоцитами сохраняли набор хемокиновых рецепторов, характерный для наивных Т-хелперов (CCR7<sup>+</sup>CXCR5<sup>-</sup> (77,4±4,2%)). Однако большинство созревающих CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> Т-лимфобластов смешанных культур с В-лимфоцитами характеризовались набором хемокиновых рецепторов, характерным для Тфх: CCR7<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup> (37,25±4,4%). При этом CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup> Т-лимфобласты высоко экспрессировали молекулы ICOS, PD-1, OX-40 и CD40L. Наиболее значимой популяцией Т-лимфобластов, созревающих в культурах с ДК, являлись клетки с фенотипом CCR7<sup>+</sup>CXCR5<sup>-</sup> (65,99±14,04%). Вероятно, эти клетки являлись аналогами Т-клеток-эффекторов и эффекторных Т-клеток памяти, которые в условиях *in vivo* способны выйти в рециркуляцию для поиска очага инфекции. Лишь небольшая часть Т-лимфобластов смешанных культур с ДК характеризовалась фенотипом, свойственным Тфх: 8,76±0,82%. Было отмечено, что созревание Т-клеток с фенотипом Тфх

происходит в смешанных культурах Т- и В-лимфоцитов, при этом созревающие клетки при цитометрическом анализе локализуются в гейте лимфобластов. Оценивалась экспрессия ядерного фактора транскрипции Bcl-6 в созревающих Т-лимфобластах смешанных культур с АПК. Т-лимфоциты контрольных культур практически не экспрессировали данный ядерный фактор транскрипции ( $2,4 \pm 1,06\%$ ). Наибольшее содержание Bcl-6<sup>+</sup> Т-клеток наблюдалось среди Т-лимфобластов смешанных культур с В-лимфоцитами и составляло  $12,02 \pm 2,23\%$  (отличия от контрольных культур Т-лимфоцитов достоверны при  $p=0,03$ ). Оценка экспрессии ядерного фактора транскрипции Bcl-6 в Т-клетках смешанных культур с ДК показала, что лишь  $3,77 \pm 1,15\%$  Т-лимфобластов смешанных культур экспрессировали белок Bcl-6. Таким образом, экспрессия белка Bcl-6 в Т-лимфобластах смешанных культур с ДК была в 3 раза ниже, чем в культурах с В-лимфоцитами ( $p=0,013$ ).

**Заключение.** При создании смешанных культур в условиях *in vitro* было показано, что стимуляция наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов аллогенными В-лимфоцитами приводит к созреванию в Т-лимфобластов с типичным фенотипом Тфх. Взаимодействие наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов с дендритными клетками не приводит к дифференцировке Тфх, но способствует созреванию Т-клеток эффекторов и эффекторных Т-клеток памяти. Полученные результаты свидетельствуют о том, что весь процесс созревания Тфх может быть локализован в В-клеточных зонах вторичных лимфоидных органов, а основными АПК в условиях отсутствия ДК могут являться В-лимфоциты.

#### Литература:

1. Ma C.S., Deenick E.K., Batten M., Tangye S.G. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells. *J. Exp. Med.* 2012; 209(7): 1241–53.
2. Woong-Kyung Suh. Life of T Follicular Helper Cells. *Mol Cells.* 2015; 38(3): 195–201.
3. Fazilleau N., Mark L., McHeyzer-Williams L.J., McHeyzer-Williams M.H. Follicular helper T cells: lineage and location. *Immunity.* 2009; 30(3): 324–35.
4. Топтыгина А.П. Лимфоидный фолликул – территория иммунного ответа. *Иммунология.* 2012; 33(3): 162–9.
5. Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu. Rev. Immunol.* 2011; 29: 621–63.
6. Pene J., Gauchat J.F., Lecart S., Drouet E., Guglielmi P., et al. Cutting edge: IL-21 is a switch factor for the production of IgG1 and IgG3 by human B cells. *J. Immunol.* 2004; 172: 5154–57.
7. Nurieva R.I., Chung Y., Martinez G.J., Yang X.O., Tanaka S., Matskevitch T.D., et al. Bcl6 mediates the development of T follicular helper cells. *Science.* 2009; 325: 1001–5.
8. Ci W., Polo J., Melnick A. B-cell lymphoma 6 and the molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *Curr Opin Hematol.* 2008; 15: 381–390.
9. Vinuesa, C. G. & Cyster, J. G. How T cells earn the follicular rite of passage. *Immunity.* 2011; 35: 671–680.
10. Yu D., Rao S., Tsai L.M., Lee S.K., He Y., Sutcliffe E.L., et al. The transcriptional repressor BCL-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. *Immunity.* 2009; 31: 457–68.
11. Eivazi S., Bagheri S., Hashemzadeh M.S., Ghalavand M., Qamsari E.S., Dorostkar R., Yasemi M. Development of T follicular helper cells and their role in disease and immune system. *Biomed Pharmacother.* 2016; 84: 1668–1678.
12. McHeyzer-Williams L., McHeyzer-Williams M., Malherbe L. Checkpoints in memory B-cell evolution. *Immunol. Rev.* 2006; 211: 255–268.
13. Goenka R., Barnett L.G., Silver J.S., O'Neill P.J., Hunter C.A., Cancro M.P., et al. Cutting edge: dendritic cell-restricted antigen presentation initiates the follicular helper T cell program but cannot complete ultimate effector differentiation. *J. Immunol.* 2011; 187: 1091–95.
14. Haynes N.M., Allen C.D., Lesley R., Ansel K.M., Killeen N., Cyster J.G. Role of CXCR5 and CCR7 in follicular Th cell positioning and appearance of a programmed cell death gene-1high germinal center-associated subpopulation. *J. Immunol.* 2007; 179: 5099–5108.
15. Deenick E.K., Chan A., Ma C.S., Gatto D., Schwartzberg P.L., Brink R., Tangye S.G. Follicular helper T cell differentiation requires continuous antigen presentation that is independent of unique B cell signaling. *Immunity.* 2010; 33: 241–253.

16. Salek-Ardakani, S., Y.S. Choi, M. Raffi-El-Idrissi Benhnia, R. Flynn, R. Arens, S. Shoenberger, S. Crotty, M. Croft, and S. Salek-Ardakani. 2011. B cell-specific expression of B7-2 is required for follicular Th cell function in response to vaccinia virus. *J. Immunol.* 186: 5294–5303.
17. Талаев В.Ю., Плеханова М.В., Бабайкина О.Н., Воронина Е.В. Характеристика малой субпопуляции наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, несущих хемокиновый рецептор CXCR5. *Иммунология.* 2015; 36(1): 9–13.

УДК: 616.993.1

### **ФЕНОТИП ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ *TOXOPLASMA GONDII***

**Григорьева С. А., Степанова Т. Ф., Степанова К. Б., Кальгина Г. А., Курлаева Л. В.**  
*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия  
человека, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Целью исследования явилось сравнение фенотипа лимфоцитов периферической крови у здоровых лиц и пациентов, инфицированных *Toxoplasma gondii*.

### **PHENOTYPE OF LYMPHOCYTES IN PATIENTS INFECTED WITH *TOXOPLASMA GONDII***

**Grigoreva S. A., Stepanova T. F., Stepanova K. B., Kalgina G. A., Kurlayeva L. V.**  
*Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russia*

**Abstract.** A research objective was comparison of a phenotype of lymphocytes of peripheral blood at healthy faces and patients of the infected *Toxoplasma gondii*.

**Введение.** Токсоплазмоз – паразитарное заболевание, вызываемое простейшим *Toxoplasma gondii*. Актуальность проблемы токсоплазмоза сегодня обусловлена чрезвычайно широкой распространенностью инвазии (до 500 млн. человек в мире, в России – до 50 млн), тесной связью между формами проявления инфекционного процесса и состоянием иммунной системы человека с развитием при определенных условиях инвалидизирующих и летальных форм болезни. Так, у 90–95% инвазированных лиц не наблюдается каких-либо значимых проявлений. В то же время токсоплазмоз является основной причиной поражений нервной системы у больных ВИЧ-инфекцией [1]. Развитие заболевания, при заражении токсоплазмами, тесно связано с состоянием иммунной системы. Особенности биологии токсоплазм определяют характер развития иммунного ответа, который, не обеспечивает стерильный иммунитет, но препятствует серьезным патологическим изменениям в органах. Широкие возможности возбудителя по ускользанию от давления иммунного пресса позволяют ему десятилетиями существовать в организме человека в условиях сложившегося относительного паритета [2]. В подавляющем большинстве случаев при условии нормального функционирования иммунной системы развивается латентный токсоплазмоз, при котором иммунная система препятствует выраженному повреждающему действию токсоплазм, но, в силу ряда биологических особенностей возбудителя, не способна обеспечить санацию макроорганизма. Латентный токсоплазмоз характеризуется определенным балансом Тх-1 и Тх-2 типов иммунного ответа [3]. Основную роль в защите макроорганизма от *Toxoplasma gondii* играет клеточный иммунитет [4].

**Материалы и методы.** Проведено лабораторное обследование пациентов клиники ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора с диагнозом инфицированность токсоплазмозом – 21 человек. В исследовании фенотипа лимфоцитов применяли метод проточной цитометрии с использованием трехцветного иммунофенотипирования. Основные фенотипы лимфоцитов были определены следующим образом: Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup>/CD16/56<sup>-</sup>/CD45<sup>+</sup>), Т-хелперы (CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>), Т-цитотоксические (CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>), NK-клетки (CD3<sup>-</sup>/CD16/56<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>), В-лимфоциты (CD3<sup>-</sup>/CD19<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>), активированные Т-лимфоциты

(CD3<sup>+</sup>/CD HLA DR<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>). Абсолютные значения были получены по двухплатформенной технологии с использованием результатов гематологического анализа [5]. Средний возраст пациентов составил 36±5,6 лет. В контрольную группу вошли здоровые люди (ЗЛ) города Тюмени, сопоставимые по возрасту и полу.

**Результаты и обсуждение.** В результате исследования обнаружена тенденция к повышению количества лимфоцитов. При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов наблюдается увеличение Т-лимфоцитов, обнаружено увеличение абсолютного количества ( $p<0,05$ ) Т-хелперов – 934±81кл/мкл у пациентов с токсоплазмозом против 762±9,2 кл/мкл в группе ЗЛ. Наблюдается тенденция к повышению абсолютного количества Т-цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров. Значительно повышено количество активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA DR<sup>+</sup> ( $p<0,001$ ) – 295±31,5 кл/мкл и 47±0,9 в группе ЗЛ. Количество В-лимфоцитов имеет тенденцию к снижению у пациентов инфицированных *Toxoplasma gondii* по сравнению с ЗЛ.

**Заключение.** Исследование популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов у пациентов инфицированных *Toxoplasma gondii* выявило активацию клеточного звена иммунитета. Возрастает количество активированных Т-лимфоцитов, Т-хелперов, наблюдается тенденция к повышению количества Т-цитотоксических клеток и натуральных киллеров. В большей степени увеличено количество Т-лимфоцитов с маркером поздней активации (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA DR<sup>+</sup>), в 6 раз. Это свидетельствует о более напряженном функционировании клеточного звена иммунитета ввиду постоянно персистирующего в организме внутриклеточного патогена. Длительное функционирование иммунной системы в условиях хронической рецидивирующей инфекции обуславливает изменение соотношения популяций и субпопуляций лимфоцитов.

#### Литература:

1. <http://www.infectology.ru/mnenie/toxoplasmos1.aspx> (Дата обращения: 25.03.2019).
2. Васильев В.В. Современные технологии диагностики и терапии инфекционных болезней: Тез. докл. научн. конф.: СПб., 1999. – С. 45–46.
3. Долгих Т.И. Современный подход к диагностике и лечению токсоплазмоза. Омск: 2005. – 45 с.
4. Долгих Т.И. Токсоплазмоз: современная стратегия лабораторной диагностики // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1. – № 1. – С. 43–50.
5. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» С.В. Хайдуков, Л.В. Байдун, А.В. Зурочка, А. А. Тотолян. Российский иммунологический журнал, 2014, Т. 8 (17). С. 974–992.

УДК: 577.112.083

### **ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКООЧИЩЕННОГО ПРЕПАРАТА МЫШИНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G, СОДЕРЖАЩИХ АНТИТЕЛА К УЧАСТКАМ Fc-ФРАГМЕНТА IGG ЧЕЛОВЕКА**

**Дубков Н. А., Счесленок Е. П., Семижон П. А., Ткачев С. В.,  
Школина Т. В., Владыко А. С.**

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск,  
Беларусь*

**Аннотация.** С использованием двух различных двухстадийных схем очистки (преципитация сульфатом аммония и гель-фильтрация, металлохелатная аффинная хроматография и гель-фильтрация) был получен высокоочищенный препарат иммуноглобулинов G, содержащий антитела к участкам Fc-фрагмента IgG человека. Иммуноглобулины были использованы для дальнейшей конъюгации с пероксидазой хрена.

# PRODUCTION OF HIGHLY-PURIFIED MURINE IGG, CONTAINING ANTI-HUMAN ANTIBODIES AGAINST FC-FRAGMENT OF IgG

Dubkov N. A., Scheslenok E. P., Semizhon P. A., Tkachev S. V.,  
Shkolina T. V., Vladyko A. S.

*Republican Research and Practical Centre for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus*

**Abstract.** Highly-purified murine IgG, containing anti-human antibodies against Fc-fragments of IgG, were obtained from murine ascitic fluid. Two different two-stage schemes (ammonium sulfate precipitation followed by gel-filtration, immobilized metal ion affinity chromatography followed by gel-filtration) were used. The purified IgG were used for the production of conjugate with horseradish peroxidase.

**Введение.** Антитела представляют собой важный инструмент лабораторных исследований, широко применяемый в науке и медицине. Их очистка является задачей, для которой нельзя предложить общего решения из-за большого разнообразия различных видов антител, источников, откуда они могут быть извлечены, и намеченного использования.

Определенные области применения антител: в терапевтических целях, в диагностических препаратах, для дальнейшей химической фрагментации или модификации флуоресцентными красителями, изотопами, ферментами требуют высочайшей степени очистки от посторонних примесей [1].

Жидкостная хроматография представляет группу методов, способных обеспечить требуемую степень чистоты. Для очистки IgG может быть использован ряд хроматографических методов: эксклюзионная, аффинная, ионообменная хроматография, а также их комбинации между собой и с другими методами [1].

**Цель исследования.** Получение высокоочищенных мышинных иммуноглобулинов G, содержащих антитела к участкам Fc-фрагмента IgG человека, их конъюгация с пероксидазой хрена, и последующая очистка иммуноконъюгата.

**Материалы и методы.** В работе использовали мышинные иммуноасцитические жидкости (ИАЖ), содержащие антитела к участкам Fc-фрагмента IgG человека.

Преципитацию иммуноглобулина из ИАЖ осуществляли насыщенным раствором сульфата аммония [2]. Ультрафильтрацию материала проводили с использованием системы Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Device (Merck) согласно инструкции производителя. Обессоливание преципитата осуществляли методом диализа в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ) [2].

Метод аффинной металлохелатной хроматографии (MXAX) для очистки иммуноглобулинов проводили с использованием колонки HiTrap Chelating HP, 5 ml (GE Healthcare) с иммобилизованными катионами Ni<sup>2+</sup> на автоматическом жидкостном хроматографе ÄKTAexplorer 10S (GE Healthcare) [3].

Метод эксклюзионной хроматографии (гель-фильтрации) проводили с использованием колонки Superdex 200 10/300 GL (GE Healthcare) на автоматическом жидкостном хроматографе ÄKTAexplorer 10S. Метод применяли для получения очищенной фракции IgG, а также очистки конъюгата IgG с пероксидазой хрена от несвязавшегося фермента [2].

Конъюгирование иммуноглобулинов G с пероксидазой хрена осуществляли периодатным способом [4].

Анализ образцов на наличие и степень очистки иммуноглобулинов осуществляли методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) [5].

Метод твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) использовали для подтверждения специфичности полученного конъюгата [6].

**Результаты и обсуждение.** В работе использовали мышинные ИАЖ, полученные путем внутрибрюшинной иммунизации белых беспородных мышей рекомбинантным полипептидом, содержащим C<sub>H2</sub> и C<sub>H3</sub> домены Fc-фрагмента иммуноглобулинов G человека. Иммунизированные мыши производят в среднем 5–10 мл поликлональной

асцитической жидкости с концентрацией IgG 2–5 мг/мл. В качестве примесей выступают большое количество липидов, альбумин, трансферрин, липопротеины [7].

Асцитические жидкости отбирали у мышей по мере накопления в период иммунизации и на окончательном этапе при выведении животных из опыта. Отобранные ИАЖ осветляли центрифугированием при  $10000 \times g$  ( $4^\circ\text{C}$ ) в течение 20 минут, надосадок переносили в новую пробирку и замораживали на  $-20^\circ\text{C}$  до востребования.

Очистку иммуноглобулинов G проводили с использованием двух различных схем. Первая схема очистки иммуноглобулинов (Схема А) включала преципитацию сульфатом аммония с последующей доочисткой методом гель-фильтрации. Вторая схема очистки (Схема Б) включала предварительную очистку методом МХАХ с последующей доочисткой методом гель-фильтрации.

Схема А. Преципитацию иммуноглобулинов из раствора проводили добавлением насыщенного раствора сульфата аммония. Мышиный IgG, согласно данным литературы, осаждается в диапазоне насыщения 40–50%. Меньший уровень насыщения позволяет получить более чистый препарат иммуноглобулина, однако часть молекул остается в растворимой форме. По мере возрастания насыщения возрастает уровень загрязнения преципитата другими белками, в частности альбумином [2]. На начальном этапе доводили уровень насыщения до 25%, с целью осаждения слаборастворимых белковых примесей. Мышиный IgG при данном уровне насыщения остается в жидкой фазе. Затем уровень насыщения раствора сульфатом аммония доводили до 45%. Преципитат ресуспендировали в 500 мкл ФСБ. Диализ осуществляли в течение суток со сменой буфера при  $4^\circ$ . Диализованный IgG концентрировали ультрафильтрацией до получения конечного объема ~400 мкл для дальнейшей очистки методом гель-фильтрации.

Разделение белковых фракций методом гель-фильтрации осуществляли с использованием колонки Superdex 200 с эффективным диапазоном разделения Mr 10000–600000 в ФСБ. Нанесение образца на колонку и разделение проводили со скоростью 0,5 мл/мин. На всех этапах осуществляли измерение оптической плотности относительно буфера при длине волны 280 нм. Фракции, предположительно содержащие иммуноглобулины, отбирали и анализировали методом электрофореза в ПААГ в денатурирующих условиях.

Схема Б. Метод МХАХ широко используется для очистки рекомбинантных белков со специально внедренными гистидиновыми метками. Смежные гистидиновые последовательности не являются характерными для природных белков, однако иммуноглобулины содержат на своей поверхности гистидин-богатую последовательность около карбоксильного конца тяжелой цепи (в районе соединения  $\text{C}_{\text{H}2}$  и  $\text{C}_{\text{H}3}$  доменов), что делает данный метод подходящим для их очистки [3].

С целью очистки иммуноглобулинов образцы в связывающем буфере (50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 M NaCl, 10 mM имидазол), наносили на колонку, уравновешенную связывающим буфером, и отмывали, осуществляя измерение оптической плотности при 280 нм относительно буфера. Элюирование белков с колонки проводили буфером следующего состава: 50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 M NaCl, 50 mM имидазол. Фракции элюции объединяли, переводили в ФСБ и концентрировали ультрафильтрацией до объема ~400 мкл для дальнейшей гель-фильтрации.

Электрофоретический анализ подтвердил наличие фракций иммуноглобулинов, свободных от посторонних примесей при использовании обеих схем очистки. Фракции, содержащие иммуноглобулин G, свободный от посторонних примесей, объединяли и измеряли содержание иммуноглобулина методом спектрофотометрии при 280 нм. Материал концентрировали ультрафильтрацией для дальнейшей конъюгации с пероксидазой хрена [4]. Очистку конъюгата от несвязавшегося фермента осуществляли методом гель-фильтрации. В результате был получен высокоочищенный препарат конъюгированного иммуноглобулина G, содержащий антитела к участкам Fc-фрагмента IgG человека. Специфичность полученного конъюгата была подтверждена методом ТИФА.



**Заключение.** Таким образом, с использованием двух различных схем очистки был получен высокоочищенный препарат иммуноглобулинов G, содержащий антитела к участкам Fc-фрагмента IgG человека. Однако, схема, включавшая МХАХ и гель-фильтрация является менее затратным и, следовательно, наиболее приемлимым способом очистки иммуноглобулинов.

Литература:

1. Burns R. Antibody Production. The Protein Protocols Handbook: 3rd ed. Ed. J.M. Walker. Humana Press, 2009. 1985 p.
2. Grodzki A.K. Antibody Purification: Ammonium Sulfate Fractionation or Gel Filtration/Ana Cristina Grodzki and Elsa Berenstein – Humana Press, 2010 – 416 p.
3. Hale J.E., Beidler D.E. Purification of humanized murine and murine monoclonal antibodies using immobilized metal-affinity chromatography // Anal. Biochem. 1994. Vol. 222 (1). P. 29–33.
4. Hermanson G.T. Bioconjugate Techniques / G.T. Hermanson. – Elsevier, 2008 – 1233 p.
5. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227 (5259). P. 680–685.
6. Брэдуэлл А., Дайкс П., Грегори Дж. и др. Антитела. Методы: в 2 кн. / под ред. Д. Кэтти; пер. с англ. В. Г. Абламуница и др.; под ред. Ю. Ю. Венгерова. М.: Мир, 1991. Кн. 2. 382 с.
7. Hendriksen C., Nau J. Production of Polyclonal and Monoclonal Antibodies. Handbook of Laboratory Animal Science. Vol. 1: Essential Principles and Practices / Ed. J. Nau, G.L. Van Hoosier: 2nd. CRC Press LLC, 2001. 271 p.

УДК: 616.995.122

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ У ЛЮДЕЙ  
С ХРОНИЧЕСКОЙ ОПИСТОРХОЗНОЙ ИНВАЗИЕЙ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ  
(МИЕЛОПЕРОКСИДАЗА, ИНТЕРЛЕЙКИН-8, ФАГОЦИТОЗ)**

**Кальгина Г. А., Степанова К. Б., Степанова Т. Ф., Григорьева С. А., Курлаева Л. В.**  
*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия  
человека, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Изучены показатели неспецифической резистентности у больных хроническим описторхозом до лечения. Выявлена активация фагоцитарного звена: увеличенное содержание моноцитов и поглотительной способности нейтрофилов, высокий уровень интерлейкина-8, микробицидного фермента нейтрофилов – миелопероксидазы. Функциональная активность нейтрофилов у людей, инвазированных *Opistorhis felineus*, сохраняется.

**NON-SPECIFIC RESISTANCE IN PEOPLE WITH CHRONIC OPISTORCHOSE  
INVASION IN THE TYUMEN REGION  
(MYELOPEROXIDASE, INTERLEUKIN-8, PHAGOCYTOSIS)**

**Kalgina G. A., Stepanova K. B., Stepanova T. F., Grigorieva S. A., Kurlaeva L. V.**  
*Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen*

**Abstract.** The indicators of nonspecific resistance in patients with chronic opisthorchosis before treatment were studied. The activation of the phagocytic link was revealed: an increased content of monocytes and the absorptive capacity of neutrophils, a high level of interleukin-8, a microbicidal enzyme of neutrophils – myeloperoxidase. The functional activity of neutrophils in humans infested with *Opistorhis felineus* is maintained.

**Введение.** Защита организма от различной инфекции, в том числе от гельминтоза, осуществляется двумя системами иммунитета: врожденного (или неспецифического) и приобретенного (специфического). Врожденный иммунитет функционирует, опираясь на воспаление и фагоцитоз [1]. К неспецифической резистентности относят фагоцитирующие

клетки моноциты (макрофаги), нейтрофилы (микрофаги), а также продукты активированных клеток – миелопероксидазу и цитокины. Представителем паразитарной инвазии является описторхоз, широко распространенный в Тюменской области. Возбудителем его является кошачья двуустка (*Opisthorchis felineus*); паразитирует у человека в печени, желчном пузыре и поджелудочной железе. Инвазия описторхисами вызывает изменения иммунной системы хозяина, неодинаково выраженные на разных стадиях болезни [6].

Первую линию защиты от действия патогенов различной природы в организме человека выполняют нейтрофилы, осуществляющие фагоцитоз. Эти клетки способны покидать внутреннее пространство сосуда и скапливаться в месте инфекции. С помощью рецепторов нейтрофилы распознают бактерии. Одна из главных их функций – способность к фагоцитозу: активный захват и поглощение частиц. Благодаря продукции кислородных радикалов и секреции ферментов, содержащихся в гранулах, они обладают микробицидной активностью. Одним из ферментов является миелопероксидаза, участвующая во внутриклеточном кислородзависимом фагоцитозе [2]. Данный фагоцитоз заключается в активации ферментов дыхательной цепи мембраны образующейся фагосомы. Это приводит к генерации токсичных форм кислорода (супероксидный анион, синглетный кислород, гидроксильный радикал, перекись водорода), повреждающих фагоцитированные бактерии. Для защиты самой клетки от этих продуктов существуют разрушающие их ферменты (миелопероксидаза и супероксиддисмутаза). Нарушение любой функции нейтрофила приводит к осложнению фагоцитарного процесса [3].

**Материалы и методы.** Обследованы пациенты ТНИИКИП с установленным диагнозом описторхоз хроническая стадия (ХО) до начала лечения. Неспецифическая резистентность у пациентов определялась в тесте поглотительной активности нейтрофилов с латексом, в тесте восстановления нитросинего тетразолия: спонтанный и стимулированный пирогедалом варианты [4]. Уровень фермента нейтрофилов – миелопероксидазы определялся спектрофотометрическим методом. Концентрацию интерлейкина-8 (ИЛ-8) определяли иммуноферментным методом (ИФА) на тест-системах фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Контрольную группу составили здоровые люди г. Тюмени.

**Результаты и обсуждение.** Содержание лейкоцитов у людей с описторхозной инвазией находится на уровне показателя здоровых лиц. Процент и абсолютное количество моноцитов достоверно увеличено: от 14% и 46% (соответственно). Концентрация миелопероксидазы нейтрофилов у людей с ХО повышена в 5 раз ( $1031 \pm 14,2$ ) в сравнении со здоровыми ( $218 \pm 14,2$ ). Это свидетельствует об интенсивной выработке микробицидного фермента нейтрофилами в период кислородзависимого фагоцитоза. Поглотительная способность нейтрофилов у лиц с ХО также достоверно увеличена. По результатам НСТ-спонтанного теста количество активированных нейтрофилов у людей с описторхозом повышено на 60%. Число стимулированных нейтрофилов пирогедалом остается на уровне здоровых лиц ( $30 \pm 2,5$  и  $29 \pm 0,34$  соответственно). Это говорит об умеренной активации нейтрофилов. В результате коэффициент стимуляции у людей с ХО существенно снижается, на 40%. Функциональный резерв нейтрофилов у больных ХО уменьшен. Концентрация ИЛ-8 у инвазированных людей достоверно увеличена в 10 раз по сравнению со здоровыми людьми ( $111,0 \pm 12,5$  пг/мл и  $11 \pm 0,1$  пг/мл, соответственно). Этот интерлейкин относится к хемокинам и является мощным хемотаксическим и активирующим фактором для нейтрофилов, привлекая эти клетки в очаг воспаления. Высокий уровень ИЛ-8 свидетельствует об активации макрофагального звена на начальном этапе иммунного ответа в инвазированном организме. ИЛ-8 – самый ранний провоспалительный цитокин и продуцируется многими клетками (моноциты/макрофаги, нейтрофилы, Т-лимфоциты, гепатоциты) в ответ на различные стимулы, в том числе, и провоспалительные цитокины (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ ) [5]. Опосредованно можно говорить о высоком уровне этих цитокинов у людей с ХО. В начальный период течения болезни количество описторхозного антигена – значительно. Об этом свидетельствует достоверно высокий показатель циркулирующих иммунных комплексов у людей с ХО:  $57,4 \pm 5,3$  у.е. против  $40 \pm 4,2$  у.е. у здоровых лиц.

**Заключение.** У людей с хронической описторхозной инвазией до лечения выявлена активация показателей неспецифической резистентности, что свидетельствует о выраженном воспалительном процессе. Напряженное функционирование нейтрофилов способствует усилению фагоцитоза у лиц, инвазированных *Opistorhis felineus* и сохранению динамического равновесия в иммунной системе.

**Литература:**

1. Абелев Г.И. Взаимодействие врожденного и приобретенного иммунитета в защите организма от инфекции // Соревнования. – 1998. – № 2. – С. 53–58.
2. Бакуев М.М. Сравнительная оценка хемилюминесцентного ответа и секреции миелопероксидазы нейтрофилами при их стимуляции сывороткой крови больных острой пневмонией / М.М. Бакуев, М.З. Саидов, Р.З. Зурхаева // Иммунол. – 1993. – № 1. – С. 54–56.
3. Долгушин И.И. Роль нейтрофилов в регуляции реакций воспаления и иммунитета в поврежденной ткани // Rus. J. Immunol. – 2004. – V. 9, Suppl. 1. – P. 11.
4. Меньшиков И.В. Основы иммунологии / И.В. Меньшиков, Л.В. Бедулева // Лабораторный практикум. – 2001. – С. 33–35.
5. Методические рекомендации «Цитокины» // Новосибирск. – 2013. – 6 с.
6. Постникова Т.Ф. Иммунологическая реактивность организма хозяина при описторхозе // Автореф. к.б.н. – 1988. – 22 с.

УДК: 616.995.122

**ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОПИСТОРХОЗЕ У ЛИЦ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Курлаева Л. В., Степанова Т. Ф., Степанова К. Б., Кальгина Г. А., Григорьева С. А.**  
*ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Тюмень, Россия*

**Аннотация.** Проводилось исследование по выявлению процентного соотношения больных с нарушениями в клеточном звене иммунитета при хронической описторхозной инвазии по отношению к пациентам, чьи показатели в субпопуляционном составе лимфоцитов остаются неизменными при той же патологии. Анализ фенотипа лимфоцитов и сравнительная характеристика особенностей иммунных реакций при хроническом описторхозе у жителей Тюменской области.

**KEY INDICATORS OF CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY IN CHRONIC OPISTHORCHIASIS BY PERSONS LIVING IN THE TYUMEN REGION**

**Kurlaeva L. V., Stepanova T. F., Stepanova K. B., Kalgina G. A., Grigoreva S. A.**  
*Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russia*

**Abstract.** A study was conducted to identify the percentage of patients with impaired cellular immunity in chronic opisthorchosis invasion for patients whose indices in the subpopulation composition of lymphocytes remain unchanged with the same pathology. Analysis of the lymphocyte phenotype and the comparative characteristics of the features of immune responses in chronic opisthorchiasis among residents of the Tyumen region.

**Введение.** Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови является одним из наиболее широко применяемых показателей в клинической лабораторной диагностике, позволяющий оценить состояние иммунной системы и ее нарушения при первичных и вторичных иммунодефицитных состояниях, аутоиммунных заболеваниях, воспалительных процессах, аллергических реакциях, онкологических и инфекционных заболеваниях [3]. Оценка CD3, CD4 и CD8 Т-клеток наиболее широко распространена в практике лабораторий, проводящих фенотипирование лимфоцитов. Эти маркеры являются диагностически значимыми

при большинстве патологий. Многие заболевания, не связанные с классифицированными иммунодефицитами, также могут отражаться на содержании этих клеток в периферической крови [4]. Динамика изменения абсолютного и относительного количества CD3, CD4 и CD8 клеток может представлять ценность для принятия терапии и прогноза развития заболевания.

Имунокомпетентные клетки реагируют на протекающие в организме процессы путем изменения степени экспрессии, появления или исчезновения поверхностных или внутриклеточных функциональных молекул [2]. Таким образом, клетка приспосабливается к сложившимся условиям, стремясь наиболее эффективно выполнять присущие ей регуляторные или эффекторные функции. Иммунология гельминтозов относится к числу сравнительно новых отраслей гельминтологической науки, становление и развитие которой началось в 30-х годах [6]. Особенностью иммунитета при гельминтозах являются слабая напряженность. Иммунитет при гельминтозах относительный, неполный. Сами гельминты и выделяемые ими продукты жизнедеятельности обладают антигенными свойствами [5]. Вопрос о влиянии *Opisthorchis felineus* на клеточный компонент иммунитета остается спорным, из литературных источников до конца не ясно: какую направленность имеет клеточный ответ при хронической стадии описторхозной инвазии, что и послужило поводом для данного исследования.

Под воздействием гельминтных антигенов вырабатываются антитела, и происходит сенсibilизация организма. Антитела представляют собой специфические сывороточные гаммаглобулины. Напряженность иммунитета зависит от интенсивности инвазии, вида гельминта и его вирулентности, индивидуальных особенностей организма хозяина [1].

Гуморальные компоненты при описторхозной инвазии являются скорее её специфическими маркерами и не обладают защитными свойствами, что приводит к персистенции описторхов и взаимной адаптации паразита и хозяина на длительный срок.

**Материалы и методы.** Нами обследовано 156 жителей Тюменской области и г. Тюмени, с диагнозом описторхоз хроническая фаза. Рассмотрены основные показатели клеточного и гуморального иммунитета. Для сравнения использовали кровь пятидесяти человек, показатели иммунного статуса которых соответствовали нормам для здоровых людей. Фенотип лимфоцитов выявлен методом проточной цитометрии. Основные фенотипы лимфоцитов определены следующим образом: Т-лимфоциты (CD3+CD19–CD16/56–CD45+), Т-хелперы (CD3+CD4+CD45+), Т-цитотоксические CD3+CD8+CD45+). У всех наблюдаемых больных изучено состояние гуморального звена иммунной системы – определен уровень иммуноглобулинов трех основных классов М, G, А. Содержание иммуноглобулинов определялось в сыворотке крови тест-системами ЗАО «Вектор-БЕСТ».

**Результаты и обсуждение.** В результате анализа показателей выявлено: в подавляющем большинстве, у 51% пациентов, показатели CD3 достоверно выше, чем показатели в группе контроля, как в процентном, так и абсолютном значении. У 30% показатели значения ниже, чем показатели в группе условно здоровых лиц. У 19% обследуемых значения не отличаются от группы контроля. Анализируя показатель клеточного иммунитета CD4, выявлено: у 69% человек показатели достоверно выше, чем показатели в группе контроля, 10% пациентов имеют показатели ниже, чем в группе сравнения, у 21% обследуемых показатели соответствуют показателям в группе контроля. Анализ показателя CD8 выявил: у 38% человек показатели выше, чем в группе контроля, 40% обследуемых имеют показатели как в группе контроля, 22% наблюдаемых с показателями ниже, чем в группе сравнения.

Выявлен факт неоднородности и неоднозначности клеточного иммунного ответа на присутствие данной инвазии. Рассмотренное нами функционирование клеточного звена иммунной системы свидетельствует о том, что процесс развития иммунного ответа на длительное присутствие антигена у разных лиц протекает по-разному. У одних иммунная система приспосабливается, и работает в обычном режиме, но у большинства возникает дисбаланс (сопровождается значительными изменениями субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток, как в большую, так и меньшую сторону).

Изучение гуморального звена при хроническом описторхозе позволило выявить его активацию. В сыворотке крови обследуемых было увеличено содержание всех трех классов иммуноглобулинов М, G и А.

В результате комплексного анализа удалось выявить, что у 10% обследуемых хроническая фаза описторхоза характеризуется снижением показателя CD4 и снижением сывороточного иммуноглобулина класса А. Это группа пациентов, у которой можно предполагать снижение клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Учитывая, что иммуноглобулины класса А являются одним из компонентов защищающих слизистые оболочки дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы от проникновения инфекционных агентов, в группе обследуемых, где регистрируется снижение уровня сывороточного иммуноглобулина А, может снижаться устойчивость к бактериальным и вирусным агентам, особенно к микроорганизмам у которых обнаружена система блокировки IgA. Тот факт, что IgA блокирует и неинфекционные аллергены, препятствуя развитию токсических и аллергических реакций, снижение уровня глобулинов данного класса в сыворотки крови может в значительной степени увеличить риск развития аллергии, в том числе и при глистных инвазиях.

#### Литература:

1. Башева Д.А., Атыгаева С.К., Кнаус А.А. Иммунный статус при хроническом описторхозе // Медицина и экология, 2007. № 4 (45). С. 20.
2. Пичугина Л.В. Изменение фенотипа лимфоцитов при неиммундефицитных патологиях // Лабораторная медицина, 2008. № 9. С. 39–44.
3. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17). С. 974–992.
4. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекций // Иммунология, 2000. № 1. С. 61–64.
5. <https://studfiles.net/preview/1838031/>
6. <https://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=728029>

УДК: 617.741-004.1-053.9

### **ПЕРСПЕКТИВЫ СИСТЕМЫ C4A+C4B КОМПЛЕМЕНТА ЧЕЛОВЕКА В ИМЭДЖЕВОЙ ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЙ**

**Лахтин М. В., Лахтин В. М., Алешкин В. А., Афанасьев С. С.**

*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

**Аннотация.** С помощью собственных разработанных электрофоретических (в полиакриламидном геле), микропанельных и блотинговых методов проведена оценка прогностико-диагностического потенциала метаболитно-клеточной распознающей и связывающей гликоконъюгаты сигнальной системы защиты человека C4B+C4A комплемента крови. Дежурная система проводит мониторинг баланса нормы и патологии в организме, сигнализирует о выраженности и соотношении функционально активных изоформ C4B, C4A и их форм, участвующих в направленных коммуникационных сборочных процессах на твердой фазе. Она является биомаркерной, позволяет проводить высокочувствительную прогностико-диагностическую микропанельную и блотинговую (имэджевую, хемилюминесцентную, в реальном времени) оценку врожденных и приобретенных дефицитов (суб)изоформ, временного статуса индивидуума, тенденций развития патологий (состояний предболезни, ранней болезни), прогресс и разнообразие острых и хронических первичных и вторичных болезней системного характера. Предложенные методы имеют приоритетное значение, надежны (подтверждают друг друга), перспективны для широкого и глубокого анализа инфекционных процессов в организме.

## PROSPECTS OF THE SYSTEM C4A+C4B OF HUMAN COMPLEMENT IN IMAGING DIAGNOSTICS OF PATHOLOGIES

Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S.

*G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Abstract.** Prognostics-diagnostic potential of metabolite-cellular recognizing and binding glycoconjugates by signal protective system C4B+C4A of human blood complement was evaluated using own developed electrofocusing in polyacrylamide gel, micropanel and blotting methods. Such on-duty system helps in monitoring balance between norm and pathology in organism, signals on relative significance of residual functional activities of isotypes C4B, C4A, and their forms which are involved in directed communicative assembling on solid phases. The system is biomarker one. It allows perform highly sensitive prognostics-diagnostic micropanel and blotting (imaging, chemiluminescent, in a real time) evaluation of innate and adaptive deficits of (sub)isotypes, evaluation of individual current status and tendencies in development of pathologies (the establishment of the early disease steps), the progress and diversity of acute and chronic primary and secondary diseases of systemic character. The proposed methods possess priority significance. They are reliable (support each other), perspective for analyses of extended and deep infectious processes in organism.

**Введение.** Гликопротеины крови участвуют в коммуникационных сборках, модулирующих функциональную активность комплексов. Особенно это видно на примерах компонентов системы комплемента [1]. По тому, как меняется в организме человека уровень содержания компонента C4 комплемента (минорного белка крови в сравнении с мажорным C3), можно устанавливать наличие патологий и их степень выраженности. Снижение у индивидуума C4 в крови свидетельствует о расходовании этого защитного ресурса (появлении дефицита в крови функционально активного C4) в системе метаболиты-клетки сети комплемента человека (его классического и лектинового путей). C4 представлен системой C4B+C4A (есть соответствующие гены и аллели с варьирующей экспрессией): C4B нацелен на углеводы (сходен с лектинами), связывает преимущественно углеводы и гликоконъюгаты (ГК), а C4A связывает преимущественно белки. Наследственный дефицит изоформа выступает в качестве фактора риска снижения антиинфекционной защиты здорового донора, а приобретенный дефицит может служить индикатором патологических процессов в организме, вызванных «дремлющей» или прогрессирующей инфекцией. Очевидно, что установление статусных и текущих различий содержания C4 в крови здоровых доноров и пациентов на уровне изотипов и, далее, субизотипов должно расширить рамки рассматриваемых типов болезней и усилить диагностические возможности существующих методов анализа интегрального C4 как антигена (при прямом определении белка антителами) вариантами функционального (сборочного, зависимого от каскадного распознавания в коммуникационной сборке) анализа системы C4.

**Цель** – на основании собственных данных [2-9] по разработке вариантов функционального анализа компонентов комплемента суммировать потенциал функционального анализа C4B и C4A крови в мониторинге статуса врожденного иммунитета индивидуума и в связи с имеющимися в организме пациента болезнями различной природы.

**Материалы и методы.** Использовали собственные методы функционального твердофазного (в микропанели и на блоте) иммуноферментного (пероксидазного цветного и хемилюминесцентного в живом изображении в темной камере системы *BioChem System*, UVP) анализа (ФТИФА) C4B и C4A сыворотки крови пациентов и здоровых доноров. 1. Микропанельные варианты включали ФТИФА изотипов (C4A, C4B, одновременно C4B и C4A в гибридной микропанели). Сборку функционально активных изотипов в микропанели проводили на твердофазных ГК (агрегированным IgG/ IgG3 [подкласс с преимуществом для анализа] человека или липополисахариды сальмонелл *S. typhi* препарата Пирогенал [*Pyrogenalum*, НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН] в случае C4A или C4B, соответственно) и

далее изотипы определяли кроличьими или козьими антителами к С4 человека, мечеными пероксидазой хрена. 2. В случае блотингового ФТИФА с целью изучения изотипов и их субизотипов десалирированные сыворотки пациентов (достаточно 0,3 мкл) разделяли в пластине полиакриламидного (ПАА) геля в градиенте рН 3–5 (впервые предложены условия использования ПАА вместо дорогого и технически сложно постановочного агарозного геля для анализа изотипов, по данным контроля десалирирования изотипов), электроблотировали (режим характеризовался высокой разрешающей способностью/ дискретностью полос в сравнении с диффузионным блотингом) на гидрофобную мембрану (*Immobilon P*, Millipore) через гидрофильную мембрану (*Durapore*, Millipore). Белок проявляли флюоресцентным красителем *SYPRO Protein Blot Stain* (Bio-Rad Lab.) и возбужденную при 365 нм флюоресценцию регистрировали в реальном времени в *BioChemi System*.

**Результаты и их обсуждение.** 1. Предложенный алгоритм оценки дефицитов функционально активных компонентов комплемента (по выраженности соотношения С4А/ С4В) применен в прогностике и диагностике болезней язв желудка и двенадцатиперстной кишки, системной красной волчанки (СКВ), фосфолипидного синдрома (ФЛС), СКВ и ФЛС, ревматоидного артрита и других. Взаимодействие изотипов с ГК проходило по типу лектин-ГК-распознавания. Выявлено функциональное (по способности распознавать сложные гликомишени/ гликопаттерны) сходство изотипов С4 с системами изоформ WGA и РНА – фитолектинами с известным действием против линий опухолевых клеток. 2. Впервые разработанные и примененные нами хемилюминесцентные варианты ФТИФА изотипов (С4А рI 4,0–4,3; С4В рI 4,58–4,65; дополнительными маркерами служили системы рI 4–5 рекомбинантных форм эритропоэтинов [отечественные препараты], димерный альбумин с рI 4,01–4,07, в отличие от мономерного с рI 4,9) и их субизотипов на блоте (до 7 форм в случае С4А и до 5 в случае С4В) предусматривали анализ в сборочной – новой диагностико-прогностической рI-области (более кислой, с повышенной дискретностью полос в сравнении с менее кислой областью рI досборочных форм изотипов (на фоне меньшей интенсивности, «размытости», диффузности, недостаточной дискретности белковых полос). ФТИФА на блоте (варианты: блот-рН7, блот-рН4) позволял ранжировать сыворотки пациентов по абсолютным значениям содержания в них функционально активных С4, С4В, С4А; выявлять полные дефициты С4 (отсутствие С4А+С4В), С4В или С4А; надежно группировать сыворотки с относительно небольшими дефицитами С4 с преимущественным содержанием С4В или С4А (блот-рН4 подтверждает преимущество изотипа на блоте-рН7), что важно для установления тенденций болезней или их риска. Результаты ФТИФА полных и частичных дефицитов С4В и С4А, соотношения частичных дефицитов изотипов С4В и С4А, полного отсутствия изотипов, полученные в микропанели и на блоте, подтверждали друг друга. В сравнении с микропанельным, блотовый ФТИФА – в значительной степени более высокочувствительный и информативный (имэджевый в живом изображении), позволял выявлять серии функциональных/ сборочных субизотипов С4В и С4А, характеризующихся дальнейшим углублением диагностико-прогностического потенциала. 3. Использовали разработанное нами визуальное (имэджевое) и количественно контролируемое (сканированием имэджей) десалирирование сывороток пациентов сиалидазно-протеолитическим коктейлем (на примере препарата N-ацетил-D-нейраминидазы *Clostridium perfringens*, Grade V, Sigma, США) в условиях оптимизированной термообработки (менее 10 мин для инактивации комплемента), повышающей «универсальность» и стабильность сывороток для дальнейшего анализа. 4. При регистрации субизотипов нами использован, помимо основного, дополнительный сайт пероксидазы хрена – участок связывания ацетатного аниона. Обработка блота ацетатным буфером рН 4,5 улучшала фон (делала его равномерно светлым, контрастным и однородным без градиента возрастания затемнения в сторону С4В-области) и разрешающую способность (число и дискретность регистрируемых полос субизотипов). 5. Выявлено наличие градиента комплексных с изотипами различных сывороточных ГК пациентов – тенденции возрастания в комплекса относительного содержания углеводов в направлении на блоте от области С4А (меньше акцептированных углеводов в комплексах) к области С4В (больше акцептированных

углеводов в комплексах), о чем судили по реакциям с антителами против компонентов комплемента (C1-ингибитора, C1q, C3) или классов иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM). Эти данные подтверждают главные различия изотипов – преимущественно связываться с углеводами (C4В) или белками (C4А).

**Выводы.** 1. Результаты указывают на широкие перспективы сочетания микропанельного и блотового ФТИФА C4В и C4А сывороток в надежном прогнозировании статуса и оценке риска инфекционных болезней, для ранней диагностики первичной или вторичной болезни (системного характера). 2. Предложенные методология и алгоритмы блотингового и микропанельного ФТИФА (суб)изотипов, нацеленных на распознавание гликопаттернов, могут стать основой дальнейшей разработки методов и способов диагностики инфекционных болезней. 4. Открыты перспективы фенотипирования расширенного круга вторичных осложнений болезней (в том числе вирусной природы), в том числе сердечно-сосудистых при проведении ранней диагностики васкулитов, особенно в случаях, когда абсолютное значение C4, определенное как антиген, меняется слабо на фоне варьирующей выраженности криоглобулинемии – функционального сборочного процесса.

#### Литература:

1. Козлов Л.В., Алешкин В.А., Андина С.С., Баталова Т.Н., Бичучер А.М., Гора Н.В., Гузова В.А., Дьяков В.Л., Колесникова В.А., Лахтин В.М., Лахтин М.В., Матвеевская Н.С., Новикова Л.И., Зоманов С.В., Скороходова Т.Г. Новое направление молекулярной диагностики – иммуноферментное определение функциональной активности компонентов классического и альтернативного путей комплемента // М75 Молекулярная диагностика. Сборник трудов / коллектив авторов, под ред. В.И. Покровского. Т. V – М.: ООО «Рекламное Агентство «ЭйВиДжи», 2011: 138–41.
2. Лахтин М.В. Варианты изотипирования компонента C4 комплемента человека // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2008. – 22 с.
3. Лахтин М. В. Варианты изотипирования компонента C4 комплемента человека // Дис. ... канд. биол. наук (на правах рукописи). Специальность 14.00.36: Аллергология и иммунология. – М., 2008. – 156 с.
4. Лахтин М.В., Козлов Л.В., Лахтин В.М., Дьяков В.Л. Выявление дефицитов изотипов C4А и C4В компонентов комплемента человека изоэлектрофокусированием и по различию в химической реакционной способности активированных форм. Биорганическая химия. 2007; 33(4): 464–9.
5. Лахтин М.В., Козлов Л.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Алгоритм полного паттернового иммунотипирования системного компонента C4 комплемента пациентов для прогностики защитного статуса организма и диагностики системных инфекционных, аллергенных и аутоиммунных патологий. Молекулярная диагностика. Сборник трудов / Коллектив авторов, под ред. В.И. Покровского. Т. 2. М.: ООО «Издательство МБА», 2014: 338–9.
6. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Перспективы лектиновых систем человека (комплемента, белковых гормонов и пробиотиков) в медицине и медицинской биотехнологии. Проблемы научной мысли. 2019; 3(3): 21–32.
7. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. Система комплемента – коммуникатор иммунитета человека // Materials of the XI International scientific and practical conference, «Modern european science – 2015». V. 8. Biological sciences. Sheffield. Science and education LTD: 59-67. ISBN 978-966-8736-05-6. DOI link: [http://doi.org/10.17686/rusnauka\\_2015\\_198820](http://doi.org/10.17686/rusnauka_2015_198820); DOI: 10.17686/rusnauka\_2015\_198820.
8. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Новые гликоконъюгаты-распознающие системы в прогнозировании антиинфекционного интерактома человека. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2015; 17(4): 378–83.
9. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Визуальные паттерны субизотипов C4А и C4В компонента C4 системы комплемента человека в диагностике системных аутоиммунных и инфекционных болезней. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015; 5: 88–93.



**РАСПОЗНАЮЩИЕ И СВЯЗЫВАЮЩИЕ ГЛИКОКОНЬЮГАТЫ –  
ОПОРНЫЕ И ИЗБИРАТЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ НАСТРОЙКИ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА**

**Лахтин М. В., Лахтин В. М., Комбарова С. Ю., Алешкин В. А., Афанасьев С. С.**

*ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия*

**Аннотация.** Проведена оценка антипатогенного и противоопухолевого потенциала метаболитно-клеточных белковых распознающих и связывающих гликоконъюгаты систем настройки здоровья человека на примерах C4B-подсистемы системы комплемента крови, белковых гормонов (эритропоэтинов) и пробиотических лектинов мукозальных биотопов. Сформулированы принципы функционирования и свойства лектиновых суперсистем (ЛСС) врожденного иммунитета. ЛСС являются опорными/ базисными/ подмостковыми (для надстроечной защиты) при стабилизации, пролонгировании и улучшении защитного действия метабитиков, пребиотиков и лекарств гликоконъюгатной природы. ЛСС инициируют каскады выбора и настройки путей рецепторных и межмолекулярных коммуникаций. ЛСС противодействуют нарушающим баланс здоровья организма процессам, поддерживают целостность биотопов, органов и ткани (вклад в тканевый тропизм). В организме присутствуют антимикробные/ антигрибковые ЛСС. Представления о ЛСС универсальны. Состав ЛСС человека и его направленность могут быть расширены за счет других белков с установленным лектиновым действием (биомаркеров ключевых процессов в организме, сигналов и факторов рецепторных коммуникаций). ЛСС кофункционируют с антителами, цитокинами, рецепторами и растворимыми факторами комплемента, антибиотиками (антимикотиками) и агентами химиотерапии. Структурно-функциональные наследственные и приобретенные нарушения ЛСС могут стать причиной первичных и вторичных болезней системного характера (хронических, слабо поддающихся лечению). Оценка выраженности в организме различных типов защитных внутренне сцепленных сбалансированных ЛСС – путь для разработки новых критериев здоровья индивидуума и контингентов индивидуумов.

**RECOGNIZING AND BINDING GLYCOCONJUGATES BASIS SELECTIVE SYSTEMS  
OF TUNING HUMAN HEALTH**

**Lakhtin M. V., Lakhtin V. M., Kombarova S. Yu., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S.**

*G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Abstract.** Evaluation of antipathogen and antitumor potential of the metabolite-cellular recognizing and binding glycoconjugates protein systems of human health tuning on examples of the blood C4B-subsystem of the complement system, protein hormones (erythropoietins) and probiotic lectins of mucosal biotopes is presented. Principles of functioning and properties of lectin supersystems (LSS) of innate immunity are formulated and described. LSS are the basic/ scaffold/ supporting systems for stabilization, prolongation and improving protective action of metabiotics, prebiotics and drugs of glycoconjugate nature. Due to the LSS, the initiation of cascades of protein-glycoconjugate tuning upon the choice of the pathways of receptor and intermolecular communications is succeeded. LSS contract disturbing the balance of the body's health processes; keep and maintain the integrity of biotopes, organs and tissues (the contribution to tissue tropism). There are antimicrobial and antifungal LSS in organism. Representations on LSS are universal. Composition of the human LSS can be extended at the expense of other proteins with established lectin action (biomarkers of key processes in organism, signals and factors of receptor communications). LSS cofunction to antibodies, cytokines, receptor and soluble complement factors, antibiotics and chemotherapy drugs. Structure-functional congenital and acquired alterations of LSS cause of primary and secondary diseases of systemic character (chronic, poorly treatable). Evaluation of expression of different types of protective LSS in organism – the way for development of new criteria for the health of the individual and contingents of individuals.

**Введение.** Биоузнавание – главное в функционировании любых защитных систем на различных уровнях организации организма человека, в том числе системы комплемента, цитокиновой сети и пробиотических микробиоценозов. Система комплемента является древней, максимально организованной иерархической метаболитно-клеточной базисной сетью врожденного иммунитета [10, 13, 14]. Белковые гормоны относятся к древним (мультипотентным) цитокинам [1]. Симбиотические / пробиотические консорциумы проявляют свойства эволюционно зависимых партнеров здоровья человека, продуцируют спектр высокомолекулярных эффекторов [17]. К перспективным системам распознавания относятся лектины – белки/(олиго)пептиды не иммуноглобулиновой природы и их комплексы, распознающие и связывающие углеводы и гликоконъюгаты (ГК); регулирующие метаболизм человека как метаболомбиотики и коммуникаторы; инициирующие каскады активностей против инфекций и патологий; учитываемые при разработке вакцин [8, 9, 15, 18, 21, 23]. Они задействованы в сети межклеточных взаимоотношений в организме человека [5, 8, 18]. Нами изучались системы лектинов (СЛ) компонента С4 комплемента человека (С4СЛ) [4, 12], СЛ гормональных цитокинов на примерах эритропоэтинов (СЛЭПО) [1-3, 6, 11] и пробиотические СЛ (ПСЛ, лактобациллярные и бифидобактериальные) [16, 17, 20, 22].

**Цель** – на основе собственных данных сформулировать представления о защитных лектиновых суперсистемах (ЛСС) на примере ЛСС, включающей С4СЛ, СЛЭПО и ПСЛ.

**Принципы и ключевые свойства защитной ССЛ человека:**

1. Аддитивность и синергизм СЛ-вкладчиков.
2. Присутствие функционирующих мажорных (роль в инфраструктуре биотопа) и минорных компонентов (сигнальных).
3. Способность функционировать как метаболомбиотики с действием «сеть-на-сеть» и «сеть-в-сети»; в сетевых узлах – переключение метаболитно-клеточных и межклеточных путей; синергизм защитных СЛ, их антагонизм в отношении патогенов.
4. Способность к организации твердофазных цитокиново-клеточных градиентов в биотопах в противовес патогенам (суспензияльным и биопленочным).
5. Способность формировать новые сайты лектинового распознавания (мегапаттерновые – в межмолекулярных, межклеточных и метаболитно-клеточных контактах).
6. Способность увеличивать число распознающих форм (как память) в процессах сетевых сборок.
7. Способность создавать новые сочетания метаболитно-клеточного лектинового распознавания как протяженные, мозаичные, гликопаттерновые и тюнингные, увеличивающие маневренность и адаптивность ЛСС.
8. Реализация защитных биологических / физиологических активностей как сцепленных с лектиновыми (в субцитоагглютинирующем диапазоне концентраций) на твердой фазе, клеточной поверхности, в порах внеклеточных матриц.
9. Способность к конверсии в ассоциативные комплексные формы с дистанционным действием.
10. Способность к конверсии в диссоциированные и укороченные формы с усилением проницаемости и антимикробного/антивирусного действия.
11. Способность противодействовать лектинам патогенов в реакциях конкуренции наборов ГК, белкового замещения, создания местного барьера, инактивации вирулентных факторов.
12. Вклад в клеточный, тканевый и органный тропизм (поддержание целостности ткани и органов, противодействие их изменениям).
13. В одном и том же (с одинаковой тропностью) месте могут изначально локализоваться / кофункционировать несколько типов СЛ (первичное действие С4СЛ и СЛЭПО в почках и печени; в слизистой [лактобациллярные СЛ – с преимущественным действием в урогенитальном тракте, а бифидобактериальные СЛ – с преимуществом в кишечном тракте]; лактобациллярные и бифидобактериальные СЛ как синергичные в узнавании грибковых мишеней в цервикагинальном тракте).
14. Вторичное действие СЛ – по всему организму через кровь (С4СЛ – в реакциях классического и лектинового путей системы комплемента; СЛЭПО как фактор поддержки терапии ряда болезней) или в направлениях «метаболитных осей слизистых» в случае ПСЛ как сдерживающей патогены.
15. Соответствие функционирования ЛСС принципам взаимного и ранжированного распознавания. *Принцип* «Один лектин–Ранжированный по структуре и доступности набор ГК» (как в случаях СЛЭПО и ПСЛ). Это позволяет лектину обнаруживать набор различных патогенов, патогена

с измененной варьирующей поверхностью, ставших «чужеродными» (потерявшими родную тропность) клеток. Упрощается вспомогательная надстроечная для эффекторных ГК реализация, универсализация и экономизация функции лектина. Имеет место зависимость реакций лектина от сродства и доступности ГК (близости к месту действия, отсутствия маскированности или стерического препятствия), приближения принципа к представлениям о чувствительности к мозаике ГК или гликопаттернам, что важно для осуществления тьюнинга каскадов рецепторов на клеточной поверхности, регулирующих пути и коммуникации врожденного и далее – адаптивного иммунитета. *Принцип* «Один ГК–Набор лектиновых компонентов ЛС» (как в случаях СЛЭПО и ПСЛ; повышается надежность связывания клеток патогенов и ставших чужеродными клеток набором защитных лектинов). Это позволяет упрощенные регуляцию, модулирование и переключение, синхронизацию разных лектинов в разных типах СЛ. Кроме того, создаются условия для пролонгированной адекватной адаптации лектина в различных средах окружения для осуществления последующего вспомогательного действия эффекторных надстроечных инструментов. На указанных выше принципах осуществляется сбалансированная согласованная работа ЛСС как дежурной, надзорной, обратимой и способной к модуляции защиты в биотопах.

16. Способность контролировать, создавать и поддерживать адекватные не противоречащие тропизму и норме ГК-декоры / площадки / поверхности в тканях, органах и слизи; экспонированные наборы ГК внеклеточных и поверхностноклеточных / оболочечных матриц, как в случае СЛ с антипатогенным и противоопухолевым действием в мукозальных органах, осуществляемым путем противодействия нормального баланса стрессовым изменениям / резким колебаниям.

17. Обеспечение глубины (запаса «прочности») состояния здоровья биотопа, противодействие изменениям достигнутого статуса.

18. Поддержание детерминированности / зрелости инфраструктуры ЛСС–ГК как гарантии здоровой ткани и органа.

19. Действие против резких метаболических изменений микрофлоры (поддержание статуса симбиотических консорциумов), дедифференцированных опухолевых клеток (снижение их вредоносного потенциала на уровне изменения поверхностноклеточных декоров).

20. Способность к синергизму с антителами (Asn-гликаны Fc-фрагмента иммуноглобулинов распознаются мозаикой СЛ поверхности макрофагов), цитокинами (интерлейкины 1 и 2 – олигоманнозидсвязывающие, С-фрагмент интерферона-гамма связывает гепарин), рецепторами (CR1, CR2, CR3 – лектинами) и растворимыми факторами (фактор-Н и его производные с мультидоменами сиалосвязывания) комплемента, антибиотиками (антимикотиками) и агентами химиотерапии.

Перечисленные выше свойства защитных ЛСС указывают на широкий и гибкий потенциал их использования организмом. ЛСС имеют перспективы широкомасштабного (по всему организму, включая мозговые органы) действия против патогенов, в том числе эукариотических (например, грибковой природы).

Помимо исследованных в работе типов СЛ, имеет место перспектива расширения защитных ЛСС с учетом представителей различных семейств и групп лектинов, широкого спектра лектиновых рецепторов клеток врожденного иммунитета, других белков системы комплемента, «традиционных» белков с выявленными свойствами лектинов (для ряда цитокинов).

**Выводы.** Впервые сформулированы принципы и свойства метаболитной ЛСС организма человека с пробиотическим действием. ЛСС функционирует как необходимая дежурная базисная (для сети надстроечных эффекторов) защитная ниша интерактома человека. Функции ЛСС могут быть расширены с учетом задействованных других метаболитных и рецепторных СЛ [8, 10, 18].

Представления о ЛСС являются универсальными, обосновывают применение ЛСС в целях профилактики, контроля предболезни и терапии. Рассмотрение защитных ЛСС в организме как факторов здоровья позволяет выходить на новые прогностические критерии поддержания здоровья (противостояния факторам риска инфекционной и опухолевой природы) индивидуума и контингентов локального (городского) и регионального значения.

### Литература:

1. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Идентификация белковых и лектиновых систем эритропоэтинов. Уральский научный вестник. 2019; 2 (1): 3–13.
2. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Караулов А.В., Алешкин В.А., Афанасьев М.С. Гликоконъюгаты в хемилюминесцентном функциональном картировании иммунного сэндвича против белковых форм. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2014; 16 (4): 40–2.
3. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М., Алешкин В.А. Алгоритмы определения рекомбинантного эритропоэтина, типирование цитокина с использованием псевдополисахаридов. Молекулярная диагностика. Сборник трудов / Коллектив авторов, под ред. В.И. Покровского. Т. 2. М.: ООО «Издательство МБА», 2014: 339–40.
4. Лахтин М.В., Козлов Л.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Алгоритм полного паттернового иммунотипирования системного компонента С4 комплемента пациентов для прогностики защитного статуса организма и диагностики системных инфекционных, аллергенных и аутоиммунных патологий. Молекулярная диагностика. Сборник трудов / Коллектив авторов, под ред. В.И. Покровского. Т. 2. М.: ООО «Издательство МБА», 2014: 338–9.
5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев М.С., Афанасьев С.С. Лектины в антираковых стратегиях. Acta Biomedica Scientifica. 2018; 3 (4): 69–77. DOI 10.29413/ABS.2018-3.4.11.
6. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Защитные свойства гликоконъюгатов активных кофункционирующих надмолекулярных сборок на основе множественных форм белкового гормона: путь к новым антиоксидантным минимальным мозаичным системам маркирования рекомбинантного эритропоэтина человека. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2013; 15 (2): 176–8.
7. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Распознающие гликопаттерны НК-клетки против опухолей на фоне эпидемически значимых вирусных инфекций. [Электронный ресурс <https://elibrary.ru/item.asp?id=31885179>] // Фундаментальные и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения: Материалы всерос. научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. – Пермь: Изд-во Перм.нац.исслед. политехн. ун-та, 2018. – С. 262–71. ISBN 978-5-398-02081-6.
8. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Лектиновые рецепторы в коммуникациях. News Science Education. 2018; 2 (3): 76–98.
9. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Алешкин А.В. Лектины и ферменты в биологии и медицине. Москва: Издательство «Династия», 2010; 496 с.
10. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. Система комплемента – коммуникатор иммунитета человека // [Материалы XI НПК «Современная европейская наука (30 июня – 07 июля 2015 г., Великобритания). Publishing House Education and Science s.r.o.] Materials of the XI International scientific and practical conference, «Modern european science», – 2015. Volume 8. Biological sciences. Sheffield. Science and education LTD – С. 59–67. ISBN 978-966-8736-05-6. DOI link: [http://doi.org/10.17686/rusnauka\\_2015\\_198820](http://doi.org/10.17686/rusnauka_2015_198820); DOI: 10.17686/rusnauka\_2015\_198820.
11. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Лектин-гликоконъюгатные взаимодействия рекомбинантного эритропоэтина человека: роль участков гликозилирования в белке. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2013; 15 (4): 376–8.
12. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Визуальные паттерны субизотипов С4А и С4В компонента С4 системы комплемента человека в диагностике системных аутоиммунных и инфекционных болезней. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015; 5: 88–93.
13. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Кофункционирование защитных систем: мукозальный иммунитет и система комплемента человека. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015; 5: 113–22.

14. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Взаимоотношения систем комплемента, Toll-подобных рецепторов, CD-антигенов и цитокинов в норме и при патологиях. Обзор. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015; 6: 62–6.
15. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Новые гликоконъюгаты-распознающие системы в прогнозировании антиинфекционного интерактома человека. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2015; 17 (4): 378–83.
16. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Лектины пробиотиков против болезней микробиоценозов в организме человека. Уральский научный вестник. 2017; 2 (9): 35–45.
17. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Консорциумные и штаммовые пробиотические лектиновые системы мукозального иммунитета против мукозальных инфекций и опухолей: потенциал влияния на микробиоценозы посредством про/синбиотиков. Проблемы научной мысли. 2018; 7 (12): 25–44.
18. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Миронов А.Ю. Лектины и гликоконъюгаты в презентации антигенов и защите от патогенов (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (10): 619–25. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-10-619-625>.
19. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А. Надзор за микробиоценозами: новые подходы. // Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения: материалы XI съезда Всерос. науч.-практ. о-ва эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Москва, 16–17 ноября 2017 г. / под ред. А.Ю. Поповой. СПб.: ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 2017. – С. 436.
20. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А., Афанасьев М. С. Кандидные маркеры болезней урогенитальных биотопов: реактивность к лектинам пробиотиков. Acta Biomedica Scientifica. 2018; 3 (1): 49–53. DOI: 10.29413/ABS.2018-3.1.7.
21. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Корсун В.Ф. Дежурные молекулярно-клеточные системы лектиновых метаболомбиотиков здорового организма человека. Практическая фитотерапия. 2014; 4: 8–13.
22. Lakhtin M., Alyoshkin V., Lakhtin V., Afanasyev S., Pozhalostina L., Pospelova V. Probiotic lactobacillus and bifidobacterial lectins against Candida albicans and Staphylococcus aureus clinical strains: new class of pathogen biofilm destructors. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2010; 2 (3): 186–96, DOI: 10.1007/s12602-010-9046-3. WOS:000209417300006.
23. Lakhtin V., Lakhtin M., Alyoshkin V. Lectins of living organisms. The overview. Anaerobe. 2011; 17 (6): 452–5. WOS:000299982800050. Doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.06.004.

УДК: 612.014

### **ЭКСПРЕССИЯ TLR-2 И TLR-4 НА БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ И КАНДИДОЗЕ ПОЛОСТИ РТА**

**Лукова О. А., Заславская М. И., Кропотов В. С., Махрова Т. В., Александрова Н. А.**

*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»*

*Минздрава России, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В работе исследован функциональный статус клеток слизистых оболочек здоровых доноров и пациентов с пародонтитом и кандидозом полости рта по уровню экспрессии TLRs, а также влияние некоторых цитокинов на регуляцию TLR зависимой регуляции эпителиоцитов. Показано, что независимо от этиологического фактора, воспалительный процесс в полости рта всегда сопровождался увеличением процента TLR-2-позитивных эпителиоцитов в популяции при снижении процента TLR-4-позитивных и TLR-2/TLR-4-негативных клеток. Таким образом, исследование функциональной активности буккальных эпителиоцитов позволяет использовать их в качестве индикатора различных патологических процессов.

## EXPRESSION OF TLR-2 AND TLR-4 ON BUCCAL EPITHELIUM IN PARODONTITIS AND CANDIDOSE OF ORAL CAVITY

Lukova O. A., Zaslavskaya M. I., Kropotov V. S., Makhrova T. V., Alexandrova N. A.

*FSBEI HE «Privolzhsky Research Medical University», Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** Changes in the expression level of TLR-2 and TLR-4 among epithelial cells against the background of pathological processes in the oral cavity suggested that increased expression of TLR-2 may be associated with the excitability of cells and, accordingly, increases with pathological processes. A decrease in TLR-4 expression is probably related to the ability of the cell to respond to stimuli. Thus, the study of the functional activity of buccal epithelial cells allows them to be used as an indicator of various pathological processes.

**Введение.** Ранняя диагностика патологических состояний слизистых оболочек полости рта остается значимой проблемой современной медицины. Мукозальные эпителиоциты как компонент иммунитета слизистых реализуют свой эффекторный потенциал через продукцию противомикробных пептидов, регуляторных молекул (цитокинов) и экспрессию рецепторов для клеток иммунной системы [1, 2].

Активация эпителиоцитов в ответ на экзогенные и эндогенные факторы осуществляется при участии рецепторов, среди которых наиболее значимыми и изученными являются toll-подобные рецепторы (TLRs). Широкий спектр лигандов TLR способствует вовлечению их в патогенез многих заболеваний. В зависимости от природы патогена наблюдается усиление экспрессии различных TLRs, что позволяет рассматривать toll-подобные рецепторы как ранние маркеры инфекции [3-9].

**Целью** нашей работы было оценить функциональный статус клеток слизистых оболочек по уровню экспрессии TLRs здоровых доноров и пациентов с пародонтитом и кандидозом полости рта, а также влияние некоторых цитокинов на регуляцию TLR зависимой регуляции эпителиоцитов.

**Материалы и методы.** Уровень экспрессии TLRs определяли методом проточной цитофлуориметрии. Буккальные эпителиоциты получали от здоровых некурящих доноров, больных пародонтитом, больных кандидозом полости рта, клетки отмывали забуференным физиологическим раствором (ЗФР), и готовили взвесь с концентрацией  $10^8$  кл/мл. Контролем служили эпителиоциты от здоровых доноров в той же концентрации. К эпителиальным клеткам (100 мкл) добавляли по 5 мкл антител CD282 и CD284 для выявления эпимембранных TLR-2 и TLR-4, соответственно. Спустя 15 мин проводили измерения на BD FACS Canto II System with Fluidics Cart (6-color, blue/red, USA). Оценивали экспрессию TLR-2 и TLR-4 у клеток жизнеспособного пула по наличию на их поверхности CD282 или CD284. Результаты выражали в процентах как отношение числа клеток, презентующих на своей поверхности только TLR2 или TLR4 позитивных клеток к общему числу живых эпителиоцитов [9, 10], все пробы ставили в трех повторах.

С целью изучения влияния регуляторных молекул эндогенного происхождения в экспериментах использовали цитокины человека в ЗФР: IL-1 ( $10^{-12}$  г/мл), IL-6 ( $10^{-12}$  г/мл), IL8 ( $10^{-12}$  г/мл) и INF- $\alpha$  ( $10^{-9}$  г/мл) («Sigma», USA) [11-13].

В эксперименте эпителиоциты предварительно инкубировали с цитокинами 30 мин, 37°C. Затем эпителиоциты дважды отмывали ЗФР (40 г, 5 мин) и взвешивали в 100 мкл жидкости для цитофлуориметра «Cell wash». В контроле использовали интактные клетки.

**Результаты и обсуждение.** Было отмечено, что у больных с хроническим пародонтитом процент клеток, экспрессирующих TLR-2, увеличивался в  $6,7 \pm 0,2$  раз ( $p < 0,05$ ), а TLR-4 – уменьшался в  $2,4 \pm 0,1$  раза ( $p < 0,05$ ). При кандидозе полости рта наблюдали такое же направление изменений экспрессии TLRs: процент TLR-2-позитивных клеток увеличивался в  $3,73 \pm 0,13$  раза ( $p < 0,05$ ), тогда как процент TLR-4-позитивных клеток уменьшался в  $9,6 \pm 2,8$  раз ( $p < 0,05$ ). Кроме того, при обеих патологиях увеличивался процент эпителиоцитов, не имеющих оба рецептора: TLR-2 и TLR-4 ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, независимо от этиологического фактора, воспалительный процесс в полости рта всегда сопровождался увеличением процента TLR-2-позитивных эпителиоцитов в популяции при снижении процента TLR-4-позитивных и TLR-2/TLR-4-негативных клеток.

Воспалительные заболевания любой этиологии характеризуются изменением цитокинового профиля пораженной ткани. Патологические процессы, протекающие на уровне слизистых оболочек сопровождаются синтезом большого количества цитокинов, участвующих в развитии воспалительной реакции: IL-1, IL-6, IL-8 – способны увеличивать риск развития кандидоза. В то же время, цитокины обладающие опосредованной противомикробной активностью – IFN- $\alpha$  – снижают возможность контаминации эпителиоцитов *C. albicans*.

IL-1, IL-8 существенно не влияли на экспрессию TLR-2 и TLR-4 на буккальных клетках за исключением IL-6, который снижал количество TLR-2 позитивных клеток и увеличивал количество клеток, экспрессирующих TLR-4.

**Заключение.** Таким образом, независимо от этиологического фактора, воспалительный процесс в полости рта всегда сопровождался увеличением процента TLR-2-позитивных эпителиоцитов в популяции при снижении процента TLR-4-позитивных и TLR-2/TLR-4-негативных клеток. Это показывает, что подобные изменения экспрессии TLR-2 и TLR-4 на эпителиоцитах могут служить маркерами воспалительного процесса в ротовой полости.

#### Литература:

1. Ведешина Э.Г. Использование показателей реактивности буккального эпителия в качестве маркеров морфофункциональных нарушений у пациентов с зубочелюстной патологией. / Э.Г. Ведешина, Д.А. Доменюк // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 4 (159). – С. 23–32.
2. Weindl G. Epithelial cells and innate antifungal defenses / G. Weindl, J. Wagener, M. Schaller // J Dent Res. – 2010. – V. 89 (7). – P. 666–675.
3. Sasai M., Yamamoto M. Pathogen recognition receptors: ligands and signaling pathways by toll-like receptors / Sasai M., Yamamoto M. // Int Rev Immunol. – 2013. – V. 32. – P. 116–3310.
4. Бережная Н.М. Toll-подобные рецепторы и онкогенез / Н.М. Бережная // Онкология. – 2013. – Т. 15. – № 2. – С. 76–87.
5. McClure R. TLR-Dependent Human Mucosal Epithelial Cell Responses to Microbial Pathogens / R. McClure P. Massari // Front Immunol – 2014. Vol. 12, № 5. – P. 386.
6. Полторац А.Н. Toll-подобные рецепторы как парадигма клетки / А.Н. Полторац // Journal of Biomedical Technologies. – 2014. – № 1. – С. 52–57.
7. Takeda K. Toll-like receptors in innate immunity / K. Takeda, S. Akira // Int. Immunol. – 2005. – 17 (№ 1). – P. 1–14.
8. Inthasin N. Role of Toll-like receptor 2 in mediating the production of cytokines and human beta-defensins in oral mucosal epithelial cell response to Leptospiral infection./ N. Inthasin, P. Wongprompitak, C. Boonwong, P. Ekpo // Asian Pac. J Allergy Immunol. – 2018. doi: 10.12932/AP-100518-0308.
9. Применение различных флуоресцентных красителей для окраски ядер клеток в фиксированном биологическом материале / М.А. Сырцова, Е.А. Колос, В.А. Снегова, В.В. Гусельникова // Медицинский академический журнал. – 2014. – Т. 14, № 2. – С. 34–39.
10. Хайдуков С.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний. Ч. 1 / С.В. Хайдуков, А.В. Зурочка // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, № 1. – С. 59–66.
11. Хаитов Р.М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин // М.: ГЭОТАР. Медиа. – 2009. – 352 с.
12. Кетлинский С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – Спб: ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 550 с.
13. Серебренникова С.Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 8. – С. 5–8.

УДК: 571.27

**АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МРНК ОСНОВНЫХ УЧАСТНИКОВ СИГНАЛИНГА  
АПОПТОЗА В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ВГЧ-6  
ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ**

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

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** С целью изучения молекулярных особенностей патогенеза ВГЧ-6-опосредованного мононуклеоза в данной работе с помощью сплайсинг-чувствительных ДНК-микрочипов был проведен полуколичественный анализ экспрессии мРНК генов регуляции апоптоза в лейкоцитах крови детей с ВГЧ-6-опосредованным мононуклеозом в острой фазе заболевания и после лечения. Баланс уровней мРНК в острой фазе инфекции смещался преимущественно в сторону анти-апоптотических факторов. Большинство альтерированных уровней мРНК в фазе реконвалесценции нормализовалось.

**EXPRESSION ANALYSIS OF APOPTOTIC GENES MRNA IN BLOOD LEUKOCYTES  
OF CHILDREN WITH ACUTE HHV-6 INFECTIOUS MONONUCLEOSIS**

**Sakharnov N. A., Filatova E. N., Knyazev D. I., Presnyakova N. B., Utkin O. V.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** In order to study the molecular features of HHV-6-mediated mononucleosis, a semi-quantitative analysis of the apoptotic genes mRNA expression in blood leukocytes of children with HHV-6-mediated mononucleosis in the acute phase of the disease and after treatment was carried out using splicing-sensitive DNA microchips. In the acute phase of infection the balance of mRNA levels shifted mainly towards anti-apoptotic factors. Most of the altered mRNA levels in the recovery phase were normalized.

**Введение.** Вирус герпеса 6 типа (ВГЧ-6) относится к подсемейству *Betaherpesvirinae* и роду *Roseolovirus*. Носителями ВГЧ-6 является 80% мирового населения [1, 2]. ВГЧ-6 считается этиологическим агентом розеолы/внезапной экзантемы и ВГЧ-6-ассоциированного мононуклеоза у детей и сохраняется пожизненно [2, 3, 4]. Молекулярные механизмы ВГЧ-6-инфекции во многом не изучены, в связи с этим необходимо выявление специфических молекулярных маркеров данной инфекции для улучшения методов ее диагностики, терапии и мониторинга [1]. По данным литературы одним из механизмов патогенеза ВГЧ-6-инфекции является активация апоптоза клеток. Например, ВГЧ-6 инициирует апоптоз CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [5, 6, 7]. Сигнальные пути апоптоза регулируются, в том числе, на транскрипционном уровне путем изменения экспрессии мРНК, кодирующих про- и анти-апоптотические факторы [8]. Такие факторы могут являться маркерами течения ВГЧ-6-инфекции и потенциальными мишенями для таргетной терапии.

**Целью** данной работы является выявление набора маркерных мРНК ВГЧ6-инфекции в лейкоцитах крови детей 7–18 лет с помощью ДНК-микрочипов.

**Материалы и методы.** Материалом исследования явились образцы лейкоцитов крови, полученные от детей и подростков 7–17 лет с диагнозом «первичный острый ВГЧ-6-инфекционный мононуклеоз» (ВГЧ-6, n=7) и в фазе реконвалесценции после исчезновения клинических признаков заболевания (РЕК, n=7). Повторный забор биоматериала осуществлялся через 2–2,5 месяца. В качестве группы сравнения выступали практически здоровые доноры сопоставимого пола и возраста без клинических и лабораторных признаков заболевания (НОРМ, n=17).

С помощью разработанного нами ранее алгоритма «Splice variants microarray design pipeline» выбраны последовательности ДНК-зондов, специфичных для мРНК генов сигнальных путей апоптоза и выживания [9]. Дизайн микрочипа моделировался на основе кодирующих (NM\_Protein-coding) и некодирующих (NR\_Non-protein-coding)



последовательностей мРНК, аннотированных в базе данных Ref Seq NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>). Разработанный микрочип содержит 1180 ДНК-зондов, детектирующих индивидуальные мРНК, и 367 групповых ДНК-зондов ( $\Sigma$ ), специфичных для последовательностей более 70% транскриптов гена и использующихся для оценки суммарной экспрессии генов. Синтез ДНК-зондов был проведен на слайдах 12K microarray *in situ* с помощью аппарата V3 Synthesizer (CustomArray Inc., WA, США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Образцы крови обрабатывались раствором «Гемолитик» (ЦНИИЭ, Россия) для удаления эритроцитов. Из полученной фракции лейкоцитов выделялась тотальная РНК с помощью набора Магно-сорб (ЦНИИЭ, Россия) с последующей очисткой и концентрацией с помощью фенол-хлороформа. Тотальная мРНК (1,5–2 мкг) подвергалась обратной транскрипции и достройке второй цепи кДНК с помощью набора «Mint cDNA synthesis kit» (Евроген, Россия). Полученная двуцепочечная кДНК амплифицировалась в ходе ПЦР с помощью набора Encyclo («Евроген», Россия) по программе (95°C 25 сек – 60°C 25 сек – 72°C 6 мин). Амплифицированная кДНК (2 мкг) подвергалась транскрипции с помощью набора «T7 RNA-polimerase» (Thermo Scientific, EU). Половина количества уридинтрифосфатов (УТР) в реакционной смеси была заменена на биотинилированные уридинтрифосфаты (ДНК-синтез, Россия), в результате получали пул биотин-меченой РНК, обратнo комплементарной мРНК исследуемого образца. Фрагментированная биотин-меченая РНК (2 мкг) гибридизовалась на микрочипы при 40°C в течение 18–20 часов. Процессинг микрочипов (блокирование, мечение, отмывка и внесение субстрата) выполнялся с помощью набора ElectraSense Detection Kit (CustomArray Inc., США) в соответствии с протоколом производителя. Считывание сигналов гибридизации проводилось амперометрическим методом с помощью ElectraSense Reader и программы ElectraSense application software (CustomArray Inc., США).

Полуколичественный анализ уровней экспрессии мРНК проводился по следующему алгоритму: каждый исследуемый образец мРНК был гибридизован на микрочип в трех повторностях. Полученные сигналы гибридизации в виде .esd файлов были экспортированы в csv. файлы с помощью программы ElectraSense Analysis 3.4.2. Все расчеты проводились в свободно распространяемых средах программирования Python или R. Данные были нормализованы с помощью алгоритма квантильной нормализации по неспецифическому контролю [10]. Для измерения относительного уровня экспрессии мРНК (FC/fold-change) использовались средние значения уровней сигналов гибридизации каждого ДНК-зонда в отдельных выборках образцов ВГЧ-6, РЕК и НОРМ. Далее проводились сравнения средних значений сигналов в выборках ВГЧ-6/НОРМ и РЕК/НОРМ с использованием Т-теста с поправкой на ожидаемую долю ложных отклонений (FDR/False discovery rate test) [11]. В качестве порогового уровня значимости был выбран  $q=0,05$ . Относительный уровень экспрессии мРНК (fold-change/FC) рассчитывался по формулам: FC ВГЧ-6 % = (сред. ВГЧ-6  $\times$  100 / сред. НОРМ) - 100, FC РЕК % = (сред. РЕК  $\times$  100 / сред. НОРМ) - 100. Исходя из диапазона полученных данных, был эмпирически выбран пороговый уровень изменения сигналов  $FC \pm 10\%$ .

**Результаты и обсуждение.** Из элементов про-апоптотического комплекса DISC в острой фазе ВГЧ-6-мононуклеоза выявлялось снижение уровней мРНК лиганда смерти TL1A/TNFSF15-NM\_005118 (на 12,3%), суммарного уровня мРНК рецептора смерти DR5/TNFRSF10B- $\Sigma$  (на 18%) и повышение уровня мРНК рецептора-ловушки – OPG/TNFRSF11B-NM\_002546 (на 17%).

Среди медиаторов апоптоза в острой фазе заболевания существенно снижались уровни мРНК FADD-NM\_003824 (на 20,2%) и FAF1-NM\_007051 (на 19,8%).

Из проксимальных каспаз в острой фазе ВГЧ-6-мононуклеоза отмечалось снижение уровня мРНК про-апоптотической изоформы каспазы-8 Alpha-2/CASP8-NM\_033356 (на 23%), при этом резко повышался уровень мРНК некодирующего транскрипта

CASP8-NR\_111983 (на 33,5%) – предположительного ингибитора каспазы-8. В фазе реконвалесценции уровни данных мРНК нормализовались.

Из элементов каспазного звена апоптоза в острой фазе ВГЧ-6-мононуклеоза существенно снижался уровень мРНК эффекторной каспазы-6 – CASP6-NM\_001226 (на 19,9%), при этом резко повышался уровень мРНК минорной изоформы каспазы-1 – Casp 1 epsilon/CASP1-NM\_033295 (на 30,1%), не имеющей апоптоз-индуцирующей активности. В фазе реконвалесценции уровни данных мРНК нормализовались. С другой стороны, в острой фазе ВГЧ-6-мононуклеоза был существенно повышен уровень мРНК эффекторной каспазы-7 – CASP7-NM\_033338 (на 23,5%), который оставался повышенным (на 24,7%) в фазе реконвалесценции.

Из ингибиторов каспаз в острой фазе заболевания выявлялось резкое повышение уровня мРНК XIAP-NM\_001167 (на 41,1%). В то же время детектировалось снижение суммарных уровней мРНК ингибиторов каспаз – BIRC2-Σ (на 17,0%), NAIP-Σ (на 17,7%), а также индивидуальной изоформы NAIP-NM\_001346870 (на 22,8%), который оставался сниженным (на 15,6%) в фазе реконвалесценции. Уровни других перечисленных мРНК в фазе реконвалесценции нормализовались.

Среди про-апоптотических факторов митохондриального апоптоза в острой фазе заболевания детектировалось существенное повышение уровня мРНК про-апоптотической изоформы BAX delta/BAX-NM\_138763 (на 25,7%) [12], также повышался уровень мРНК про-апоптотического фактора BNIP3-NM\_004052 (BCL2 Interacting Protein 3) (на 22,6%), в фазе реконвалесценции уровни мРНК данных факторов нормализовались. В то же время в острой фазе заболевания выявлялось снижение суммарных уровней мРНК ряда про-апоптотических митохондриальных факторов BIM/BCL2L11-Σ (на 42,5%), BID-Σ (на 10,4%), Puma/BBC3-Σ (на 18,7%), BCL2 Interacting Protein 3 Like/BNIP3L-Σ (на 15,5%). В фазе реконвалесценции оставался значительно сниженным суммарный уровень мРНК BIM/BCL2L11-Σ (на 37,1%), остальные уровни мРНК про-апоптотических факторов нормализовались.

Необходимо отметить, что в острой фазе ВГЧ-6-мононуклеоза выявлялось повышение уровня мРНК про-апоптотического фактора Angiotensin II Receptor Type 2/AGTR2-NM\_000686 (на 14,4%), который нормализовался в фазе реконвалесценции. Известно, что данный фактор участвует в модуляции чувствительности клеток к апоптозу при некоторых онкологических заболеваниях [13].

Среди анти-апоптотических факторов митохондриального апоптоза в острой фазе инфекции выявлялось резкое повышение уровня мРНК BclXL/BCL2L1-NM\_138578 (на 44,8%), который нормализовался в фазе реконвалесценции. С другой стороны, в острой фазе заболевания снижался уровень мРНК BFL-1/BCL2A1-NM\_004049 (на 15,5%), который оставался сниженным (на 17,2%) в фазе реконвалесценции.

Среди других анти-апоптотических факторов в острой фазе инфекции был существенно повышен уровень мРНК анти-апоптотического фактора ITCH-NM\_001257137 (на 21,8%), кодирующего убиквитин-лигазу (Itchy E3 Ubiquitin Protein Ligase), которая инициирует протеасомную деградацию про-апоптотического фрагмента tBid и таким образом ингибирует активацию митохондриального апоптоза [14]. В фазе реконвалесценции уровень данной мРНК нормализовался.

Из элементов апоптосомы в острой фазе заболевания выявлялось слабое повышение уровня мРНК цитохрома С – CYCS-NM\_018947(на 11,8%). При этом снижались уровни мРНК активаторов митохондриального апоптоза sMAC/DIABLO-NM\_019887 (на 14,6%) и OMI/HTRA2-Σ (на 14,6%), в фазе реконвалесценции уровни мРНК данных факторов нормализовались. Также в острой фазе заболевания отмечалось значительное повышение уровня мРНК ингибитора митохондриального апоптоза APAF-1 – AVEN-NM\_020371 (на 30,7%). В фазе реконвалесценции уровни данной мРНК нормализовались. По литературным данным AVEN участвует в онкологических процессах, гиперэкспрессия AVEN является неблагоприятным маркером течения острой лимфобластной лейкемии у детей [15, 16].

Из эффекторов апоптоза в острой фазе инфекции отмечалось повышение суммарного уровня мРНК фактора фрагментации ДНК DFFA- $\Sigma$  (на 16,7%) (DNA Fragmentation Factor Subunit Alpha), а также ее основной изоформы DFFA-NM\_004401 (на 24,8%), в фазе реконвалесценции уровни данных мРНК нормализовались. С другой стороны, в острой фазе заболевания значительно снижался уровень мРНК эндонуклеазы G/ENDO-NM\_004435 (на 26,7%), который оставался сниженным (на 24,6%) в фазе реконвалесценции.

**Заключение.** Таким образом, в острой фазе ВГЧ-6-мононуклеоза были выявлены разнонаправленные изменения уровней мРНК про- и анти-апоптотических факторов, при этом общий баланс уровней смещался в сторону последних, что позволяет предположить их роль в снижении чувствительности клеток к апоптозу и сохранении вируса в организме. Особое внимание стоит обратить на изменение уровней мРНК CASP8-NR\_111983, CASP1-NM\_033295, BAX-NM\_138763, ITCH-NM\_001257137, AVEN-NM\_020371 в острой фазе инфекции и их нормализацию в фазе реконвалесценции, что может рассматриваться в качестве потенциальных биосенсоров функционального состояния лейкоцитов в ходе ВГЧ-6-мононуклеоза.

#### Литература:

1. Caserta M.T., Mock D.J., Dewhurst S. Human Herpesvirus 6 // *Clinical Infectious Diseases*. 2001. V. 33. P. 829–833.
2. Akashi K., Elzuru Y., Sumiyoshi Y. et al. Brief report: severe infectious mononucleosis-like syndrome and primary human herpesvirus 6 infection in an adult // *N. Engl. J. Med.* 1993. V. 329. P. 168–171.
3. Yamanishi K., Okuno T., Shiraki K. et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthema subitum // *Lancet*. 1988. V. 1. P. 1065–1067.
4. Pruksananonda P., Hall C.B., Insel R.A. et al. Primary human herpesvirus infection in young children // *N. Engl. J. Med.* 1992. V. 326. № 22. P. 1445–1452.
5. Ichimi, R., Jin-no T., Ito M. Induction of apoptosis in cord blood lymphocytes by HHV-6. // *J. Med. Virol.* 1999. V. 58. P. 63–68.
6. Yasukawa M., Inoue Y., Ohminami H. et al. Apoptosis of CD4 T lymphocytes in human herpesvirus-6 infection // *J. Gen. Virol.* 1998. V. 79. P. 143–147.
7. Inoue Y, Yasukawa M, Fujita S. Induction of T-cell apoptosis by human herpesvirus 6. // *J. Virol.* 1997. V. 71. № 5. P. 3751–3759.
8. Уткин О.В., Свинцова Т.А., Кравченко Г.А. и др. Экспрессия альтернативных форм гена CD95/Fas в клетках крови при герпес-вирусной инфекции // *Иммунология*. 2012. Т. 33. № 4. С. 189–193.
9. Solntsev L.A., Starikova V.D., Sakharnov N.A. et al. Strategy of probe selection for studying mRNAs that participate in receptor-mediated apoptosis signaling // *Molecular Biology*, 2015, V. 49. № 3. P. 457–465.
10. Wu Z., Aryee M. J. Subset Quantile Normalization Using Negative Control Features // *J. Comput. Biol.*, 2010, V. 17. № 10. P. 1385–1395.
11. Mc Carthy D. J., Smyth G. K. Testing significance relative to a fold-change threshold is a TREAT // *Bioinformatics*. 2009. V. 25. № 6. P. 765–771.
12. Apte S.S., Mattei M.G., Olsen B.R. Mapping of the human BAX gene to chromosome 19q13.3–q13.4 and isolation of a novel alternatively spliced transcript, BAX delta // *Genomics*. 1995. V. 26. № 3. P. 592–594.
13. Pei N., Mao Y., Wan P. et al. Angiotensin II type 2 receptor promotes apoptosis and inhibits angiogenesis in bladder cancer // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2017. V. 36. № 1. P. 77.
14. Azakir B.A., Desrochers G., Angers A. The ubiquitin ligase Itch mediates the antiapoptotic activity of epidermal growth factor by promoting the ubiquitylation and degradation of the truncated C-terminal portion of Bid // *FEBS J.* 2010. V. 277. № 5. P. 1319–1330.
15. Melzer I.M., Fernández S.B., Bösser S. et al. The Apaf-1-binding protein Aven is cleaved by Cathepsin D to unleash its anti-apoptotic potential // *Cell Death Differ.* 2012. V. 19. № 9. P. 1435–1445.
16. Choi J., Hwang Y.K., Sung K.W. et al. Aven overexpression: association with poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia // *Leuk. Res.* 2006. V. 30. № 8. P. 1019–102.

УДК: 571.27, 616.921-5

**ВАКЦИННЫЙ АДЬЮВАНТ «ПОЛИОКСИДОНИЙ®» УСИЛИВАЕТ  
ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА НИЗКУЮ ДОЗУ АНТИГЕНОВ ГРИППА**

**Талаев<sup>1</sup> В. Ю., Матвейчев<sup>2</sup> А. В., Заиченко<sup>1</sup> И. Е., Талаева<sup>1</sup> М. В., Бабайкина<sup>1</sup> О. Н.,  
Воронина<sup>1</sup> Е. В.**

<sup>1</sup>*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора,  
Нижний Новгород, Россия*

<sup>2</sup>*ООО «НПО Петровакс Фарм», Подольск, Московская область, Россия*

**Аннотация.** Вакцина «Гриппол® Квадривалент» – новая вакцина семейства «Гриппол®», содержащая по 5 мкг гемагглютинаина (ГА) каждого из 4 штаммов вируса гриппа А/Н1N1, А/Н3N2, В/Yamagata, В/Victoria и 500 мкг оригинального водорастворимого полимерного адьюванта «Полиоксидоний®» в 1 дозе. Целью данного исследования было изучение действия этой вакцины на эффекторы иммунитета экспериментальных животных *in vivo* и на дендритные клетки (ДК) человека *in vitro*. Показано, что иммунизация экспериментальных животных вакциной «Гриппол® Квадривалент» приводит к усилению пролиферативного ответа спленоцитов и продукции ими интерлейкина-5 (ИЛ-5) и ИЛ-4 в ответ на стимуляцию антигенами вакцины. При этом, адьювант «Полиоксидоний®» позволяет низкодозированной (20 мкг ГА в 1 дозе) вакцине «Гриппол® Квадривалент» действовать с равным эффектом по сравнению с обычной вакцинной дозой антигенов (60 мкг ГА). Введение полной формулы вакцины приводит к увеличению активности естественных киллеров, тогда как введение антигенов вакцины без адьюванта таким эффектом не обладает. При действии на ДК вакцина «Гриппол® Квадривалент» усиливает экспрессию маркеров созревания ДК (HLA-DR, CD80, CD83 и CD86), причем «Полиоксидоний®», действуя как в составе вакцины, так и отдельно от антигенов, усиливает спонтанную миграцию ДК и экспрессию костимулирующей молекулы ICOSL.

**POLYOXIDONIUM® VACCINE ADJUVANT ENHANCES THE IMMUNE RESPONSE  
TO LOW DOSE OF INFLUENZA ANTIGENS**

**Talayev<sup>1</sup> V. Yu., Matveichev<sup>2</sup> A. V., Zaichenko<sup>1</sup> I. E., Talaeva<sup>1</sup> M. V., Babaykina<sup>1</sup> O. N.,  
Voronina<sup>1</sup> E. V.**

<sup>1</sup>*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>2</sup>*NPO Petrovax Pharm LLC, Podolsk, Moscow Region, Russia*

**Abstract.** The vaccine «Grippol® Quadrivalent» is a new vaccine of the «Grippol®» family, containing 5 µg of hemagglutinin (HA) of each of the 4 strains of influenza viruses A/H1N1, A/H3N2, B/Yamagata, B/Victoria and 500 µg of the original water-soluble polymeric adjuvant «Polyoxidonium®» in 1 dose. The aim of this investigation was to study the effect of this vaccine on immune effector cells of experimental animals *in vivo* and on human dendritic cells (DC) *in vitro*. It has been shown that immunization of experimental animals with the vaccine «Grippol® Quadrivalent» increases proliferative response of splenocytes and production of interleukin-5 (IL-5) and IL-4 by splenocytes stimulated with the vaccine antigens. «Polyoxidonium®» adjuvant allows a low-dose (20 µg of HA in 1 dose) vaccine «Grippol® Quadrivalent» to act with an equal effect compared with the usual vaccine dose of antigens (60 µg of HA). The immunization with complete vaccine formula leads to an increase in the activity of natural killer cells, whereas the administration of vaccine antigens without the adjuvant does not have this effect. Under the action of DC, the vaccine enhances the expression of maturation markers (HLA-DR, CD80, CD83 CD86) on DC. «Polyoxidonium®», acting both as part of the vaccine and separately from antigens, enhances the spontaneous migration of DC and the expression of the costimulatory molecule ICOSL.

**Введение.** Инактивированные полимер-субъединичные вакцины против гриппа семейства «Гриппол®» применяются в практике российского здравоохранения с 1996 года. Основной особенностью этих вакцин является сниженное до 5 мкг содержание антигенов основных типов вируса гриппа за счет включения в состав вакцины оригинального водорастворимого полимерного адъюванта «Полиоксидоний®» (ИНН: Азоксимера бромид) [1]. К данному моменту вакцины семейства «Гриппол®» успешно применяются для массовой профилактики гриппа уже более 20 лет, демонстрируя высокую профилактическую эффективность и профиль безопасности, и являются вакцинами Национального плана иммунизации России. Однако, ввиду изменений национальных и международных руководящих документов, развития технологий производства вакцин и прогресса самой иммунологии требования к пониманию механизмов действия вакцин и адъювантов постоянно возрастают.

**Целью** данного исследования было изучение влияния новой вакцины семейства «Гриппол®» – «Гриппол® Квадривалент» на эффекторы иммунитета экспериментальных животных *in vivo* и на дендритные клетки человека *in vitro*.

**Материалы и методы.** Для исследования действия вакцины на эффекторы клеточного иммунитета мышей SPF-статуса линии Balb/c разделили на 4 группы. Мышам этих групп вводили внутривентрально, двукратно, с интервалом в две недели следующие тестируемые вещества:

группа 1 (контрольная): растворитель вакцины;

группа 2: смесь ГА, эквивалентную по количеству 0,2 дозам вакцины «Гриппол® Квадривалент» (по 1 мкг ГА на 1 мышь), но не содержащую адъювант «Полиоксидоний»;

группа 3: по 0,2 дозы вакцины «Гриппол® Квадривалент», содержащей по 5 мкг гемагглютинина (ГА) каждого из 4 штаммов вируса гриппа А/Н1N1, А/Н3N2, В/Yamagata, В/Victoria и 500 мкг адъюванта «Полиоксидоний®» в 1 разовой дозе для человека;

группа 4: смесь с тройной концентрацией ГА (по 3 мкг ГА на 1 мышь) без адъюванта «Полиоксидоний®»; концентрация ГА в этой смеси соответствует рекомендованной ВОЗ (по 15 мкг ГА в 1 дозе).

Через 3 недели после второй иммунизации у мышей собирали спленоциты и в условиях *in vitro* оценивали следующие параметры:

1) пролиферативный ответ на антигены вакцины или поликлональный стимулятор (конконавалин А);

2) продукцию цитокинов (интерлейкин-4 (ИЛ-4), ИЛ-5, интерферон- $\gamma$  (ИНФ- $\gamma$ ), фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ )) при стимуляции антигенами вакцины или конконавалином А;

3) активность естественных киллеров по способности лизировать клетки-мишени линии Yac-1;

4) активность Т-киллеров по способности лизировать нагруженные антигенами вакцины клетки-мишени линии P815.

Также оценивали действие вакцины «Гриппол® Квадривалент», адъюванта «Полиоксидоний®» или смеси антигенов вакцины без адъюванта на созревание и миграционные свойства ДК, полученных из моноцитов периферической крови взрослых здоровых доноров *in vitro*. Созревание ДК оценивалось по экспрессии функционально значимых мембранных молекул: молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-DR, маркера зрелых дендритных клеток CD83, костимулирующих Т-лимфоциты молекул CD80, CD86, ICOSL (CD275). Миграционные свойства ДК оценивались по экспрессии хемокиновых рецепторов CCR5 (CD195), CCR7 (CD197), CXCR5 (CD185) и изменению спонтанной подвижности клеток в системах ThinCerts.

**Результаты.** Было показано, что введение вакцины «Гриппол® Квадривалент» усиливает пролиферативный ответ спленоцитов мышей на активацию. Данный эффект вакцины статистически не отличается от пролиферативного ответа спленоцитов мышей, иммунизированных тройной дозой ГА (группа 4) и достоверно превосходит пролиферативный ответ у мышей контрольной группы 1 и у мышей группы 2,

иммунизированных низкой дозой ГА, эквивалентной их содержанию в «Гриппол® Квадривалент». Таким образом, адъювант «Полиоксидоний®» увеличивает пролиферативный ответ спленоцитов мышей, иммунизированных низкой дозой антигенов, до уровня ответа мышей, иммунизированных рекомендованной ВОЗ дозой антигенов. Иммунизация вакциной «Гриппол® Квадривалент», равно как и иммунизация тройной дозой антигенов, приводит к значительному усилению способности спленоцитов продуцировать ИЛ-4 и, особенно, ИЛ-5 в ответ на стимуляцию антигенами вакцины. Как известно, эти цитокины играют важную роль в индукции гуморального иммунного ответа [2, 3]. Достоверного роста продукции провоспалительных цитокинов ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  спленоцитами мышей, иммунизированных полной формулой вакцины, не обнаружено. Введение полной формулы вакцины приводит к увеличению функциональной активности естественных киллеров, тогда как введение того же количества антигенов без адъюванта таким эффектом не обладает. Как вакцина «Гриппол® Квадривалент», так и антигены без адъюванта не оказывают стимулирующего действия на активность Т-киллеров.

Дендритные клетки (ДК) являются ключевыми антиген-презентирующими клетками млекопитающих и играют важную роль в иницировании и управлении иммунным ответом на инфекцию и вакцинацию. В связи с этим ДК являются одной из главных мишеней профилактических вакцин и входящих в их состав адъювантов. В представляемом исследовании показано, что вакцина «Гриппол® Квадривалент» индуцирует фенотипическое созревание моноцитарных ДК человека, увеличивая экспрессию маркеров созревания ДК: HLA-DR, CD80, CD83 и CD86. Также вакцина «Гриппол® Квадривалент» стимулирует экспрессию хемокинового рецептора CCR5, направляющего ДК в зоны воспаления, а также рецептора CXCR5, направляющего миграцию ДК в фолликулярные/перифолликулярные зоны лимфатических узлов – место индукции гуморального иммунного ответа.

«Полиоксидоний®», действуя как в составе вакцины, так и отдельно от антигенов, усиливал спонтанную миграцию ДК, а также повышал экспрессию молекулы ICOSL. Следует отметить, что костимулирующая молекула ICOSL играет ключевую роль в индукции фолликулярных Т-хелперов – основных стимуляторов гуморального иммунного ответа на

Т-зависимые антигены [4]. Действуя совместно с антигенами, «Полиоксидоний®» обеспечивал небольшое, но статистически значимое повышение экспрессии CD83 – маркера наиболее зрелых ДК.

**Заключение** Иммунизация мышей вакциной «Гриппол® Квадривалент» приводит к усилению пролиферации спленоцитов и продукции ими ключевых цитокинов гуморального иммунного ответа – ИЛ-5 и ИЛ-4. При этом адъювант «Полиоксидоний®» позволяет низкодозированной (20 мкг ГА) вакцине «Гриппол® Квадривалент» действовать с равным эффектом по сравнению с обычной вакцинной дозой антигенов 60 мкг. Введение вакцины «Гриппол® Квадривалент» приводит к увеличению активности естественных киллеров, тогда как введение антигенов вакцины без адъюванта таким эффектом не обладает. При действии на ДК вакцина «Гриппол® Квадривалент» увеличивает экспрессию маркеров созревания ДК, причем «Полиоксидоний®», действуя как в составе вакцины, так и отдельно от антигенов, усиливает спонтанную миграцию ДК и экспрессию костимулирующей молекулы ICOSL, играющей важную роль в индукции гуморального иммунного ответа.

#### Литература:

1. Некрасов А.В., Пучкова Н.Г., Иванова А.С., Атауллаханов Р.И., Хайтов Р.М., Петров Р.В. Производное поли-1,4-этиленпиперазина, обладающее иммуномодулирующей, противовирусной и антибактериальной активностью. Пат. РФ № 2073031, 1997.
2. Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2002. V. 2. P. 251–262.
3. Murphy K.M., Stockinger B. Effector T cell plasticity: flexibility in the face of changing circumstances. *Nat. Immunol.* 2010. V. 11. № 8. P. 674–680.
4. Ma C.S., Deenick E.K., Batten M., Tangye S.G. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells. *J. Exp. Med.* 2012. V. 209. № 7. P. 1241–1253.

**ЭКСПРЕССИЯ ХЕМОКИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА Т-ХЕЛПЕРАХ КРОВИ  
ПРИ *HELICOBACTER PYLORI*-ИНФЕКЦИИ И БОЛЕЗНИ КРОНА**

**Талаев В. Ю., Талаева М. В., Воронина Е. В., Заиченко И. Е., Бабайкина О. Н.,  
Неумойна Н. В., Перфилова К. М.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** В крови у пациентов с *H. pylori*-инфекцией или с болезнью Крона оценивали содержание зрелых Т-хелперов с маркерами миграции в желудочно-кишечный тракт для идентификации клеток, вовлеченных в иммунный ответ при данных заболеваниях. Выявлен значительный рост содержания зрелых эффекторных CCR6<sup>+</sup> Т-хелперов при заболеваниях с деструктивно-язвенными повреждениями слизистой: при болезни Крона и при *H. pylori*-ассоциированной язвенной болезни. При *H. pylori*-ассоциированном гастродуодените зарегистрировано увеличение количества зрелых CCR9<sup>+</sup> Т-хелперов. Результаты свидетельствуют о связи характера воспалительного процесса в слизистой с особенностями набора хемокиновых рецепторов у Т-хелперов, вовлеченных в иммунный ответ.

**CHEMOKINE RECEPTOR EXPRESSION ON BLOOD T-HELPER CELLS  
AT *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION AND CROHN'S DISEASE**

**Talayev V. Yu., Talayeva M. V., Voronina E. V., Zaichenko I. E., Babaykina O. N.,  
Neumoina N. V., Perfilova K. M.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The content of mature T-helper cells with markers of migration to the gastrointestinal tract was determined in the blood of patients with *H. pylori* infection or with Crohn's disease to identify the cells involved in the immune response in these diseases. A significant increase in the content of mature effector CCR6<sup>+</sup> T-helper cells was found in diseases with destructive-ulcerative mucosal lesions: in Crohn's disease and in *H. pylori*-associated peptic ulcer. An increase in the number of mature CCR9<sup>+</sup> T-helper cells was registered with *H. pylori*-associated gastritis and duodenitis. The results indicate a relationship between the pattern of the inflammatory process in the mucous and the set of chemokine receptors on T-helpers involved in the immune response.

**Введение.** *H. pylori* вызывает хроническую инфекцию, проявления которой варьируют от бессимптомного инфицирования до гастрита типа В и язвенной болезни [1]. Специфическая локализация репликативных ниш *H. pylori* надежно защищает его от эффекторов иммунитета. Лишь провоспалительный клеточный иммунный ответ частично сдерживает размножение *H. pylori*, но, при этом, вносит решающий вклад в развитие симптомов гастрита [2]. При хронизации инфекции у большинства пациентов провоспалительный иммунный ответ компенсируется растущей активностью регуляторных Т-клеток, воспаление ослабляется, и инфекция становится бессимптомной на годы или десятилетия [3]. Нарушение равновесия в системе «микроорганизм – сдерживающий его провоспалительный иммунный ответ – противовоспалительная регуляторная реакция» приводит к обострению хронического гастрита и дуоденита, а при разрушении защитного слоя слизи – к формированию язвы.

Болезнь Крона (БК) – хроническое рецидивирующее иммунологически опосредованное воспалительное заболевание кишечника, которое развивается на фоне различных вариантов генетической предрасположенности, большинство из которых проявляется в ослаблении барьерной функции слизистой по отношению к микроорганизмам кишечника [4, 5]. Результатом ослабления барьерной функции является нарушение клиренса слизистой от микроорганизмов и, как следствие, рост антигенной нагрузки во внутренней среде организма и развитие патологического провоспалительного клеточного иммунного ответа на антигены микрофлоры кишечника.

Таким образом, с точки зрения иммунолога эти два несхожих заболевания объединены, как минимум, двумя общими особенностями: ключевой ролью неадекватного провоспалительного клеточного иммунного ответа в манифестации заболевания и локализацией эффекторной фазы клеточного иммунного ответа в слизистой желудочно-кишечного тракта. Важную роль в запуске воспаления при данных заболеваниях играют эффекторные Т-хелперы, созревающие в Пейеровых бляшках тонкого кишечника [6-8]. Именно эти лимфоидные органы играют ведущую роль в вовлечении в иммунный ответ лимфоцитов, специфичных к антигенам кишечных патогенов и комменсалов. Важно, что Т-хелперы, созревшие в Пейеровых бляшках, приобретают способность к миграции в желудочно-кишечный тракт за счёт экспрессии специфического набора хемокиновых рецепторов и интегринов. Таким образом, для индукции воспаления в желудочно-кишечном тракте Т-хелперы должны созреть в Пейеровых бляшках, а затем выйти в кровоток и направленно мигрировать в желудочно-кишечный тракт, используя инструменты хоминга, в частности, хемокиновые рецепторы CCR6 или CCR9.

В данной работе в крови у пациентов с БК и с *H. pylori*-инфекцией исследовали содержание и степень зрелости Т-хелперов с рецепторами CCR6 или CCR9 для идентификации клеток, вовлеченных в иммунный ответ при данных заболеваниях.

**Методы и методы.** Обследовали пациентов с БК, пациентов с *H. pylori*-инфекцией и лиц групп сравнения. Пациенты с *H. pylori*-инфекцией в зависимости от клинических проявлений были разделены на 2 подгруппы: пациенты с язвенной болезнью желудка или двенадцатиперстной кишки в сочетании с гастродуоденитом (далее – пациенты с язвенной болезнью) и пациенты с гастродуоденитом без язвенной болезни (далее – пациенты с гастродуоденитом). Наличие *H. pylori*-инфекции подтверждалось быстрым уреазным тестом и обнаружением ДНК микроорганизма полимеразной цепной реакцией. Для оценки иммунологических параметров клетки крови обследуемых окрашивались флуоресцентными конъюгатами моноклональных антител к молекулам CD4, CD45RO, CCR6 CCR9, CCR7, ICOS и анализировали лазерной проточной цитофлуориметрией. При анализе последовательно гейтировали лимфоциты, CD4<sup>+</sup> лимфоциты, незрелые CD45RO<sup>-</sup> и зрелые CD45RO<sup>+</sup> клетки.

**Результаты и обсуждение.** При *H. pylori*-инфекции по сравнению с условно здоровыми донорами наблюдается небольшое увеличение содержания зрелых CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> Т-хелперов. При язвенной болезни, но не при гастродуодените, наблюдается значительный рост содержания CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>ICOS<sup>+</sup> Т-клеток. Поскольку ICOS отсутствует на покоящихся Т-клетках и экспрессируется после стимуляции антигеном, рост количества ICOS<sup>+</sup> клеток свидетельствует об интенсивном вовлечении Т-хелперов в иммунный ответ при язвенной болезни.

Оценка экспрессии хемокинового рецептора CCR6, участвующего в миграции клеток в воспаленную слизистую желудочно-кишечного тракта, выявила значительный рост содержания CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup> клеток у больных с язвенной болезнью, тогда как у больных с гастродуоденитом увеличение количества этих клеток менее выражено и недостоверно. Рост количества CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup> лимфоцитов происходит, в основном, за счет наиболее зрелых эффекторов/эффекторных Т-клеток памяти с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup>. Их количество при язвенной болезни увеличивается в 2,4 раза. Анализ распределения CCR6 и ICOS показывает, что при язвенной болезни недавняя активация равномерно затрагивает как CCR6<sup>-</sup>, так и CCR6<sup>+</sup> группы зрелых CD45RO<sup>+</sup> Т-хелперов.

При БК содержание CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> Т-хелперов в крови увеличивается в 2 раза, а содержание эффекторов/эффекторных Т-клеток памяти с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup> возрастает в 4,4 раза (p=0,0002). Таким образом, как при БК, так и при язвенной болезни, наблюдается увеличение количества циркулирующих клеток со сходным фенотипом CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup>. В то же время при этих заболеваниях наблюдаются определённые различия в содержании и свойствах этих клеток. Во-первых, при БК рост этой



группы клеток выражен сильнее, чем при язвенной болезни. Во-вторых, при язвенной болезни в эту группу клеток входят недавно активированные ICOS<sup>+</sup> лимфоциты, тогда как при БК группа зрелых CCR6<sup>+</sup> Т-хелперов не содержит ICOS<sup>+</sup> лимфоцитов, что, по-видимому, отражает давний срок их вовлечения в иммунный ответ и является косвенным свидетельством их принадлежности к клеткам иммунологической памяти.

При обсуждении этих результатов следует отметить связь экспрессии CCR6 с субпопуляцией Т-хелперов-17. Поскольку индукторами экспрессии гена *CCR6* являются мастер-регуляторы созревания этой субпопуляции (ядерные факторы ROR $\gamma$ t и PLZF), следует предположить, что рост экспрессии CCR6 отражает активизацию программы созревания провоспалительных Т-хелперов-17 при БК и *H. pylori*-ассоциированной язвенной болезни.

Оценка экспрессии CCR9 – другого хемокинового рецептора, участвующего в миграции клеток в слизистую желудочно-кишечного тракта (преимущественно, тонкого кишечника), не выявила увеличения содержания CCR9<sup>+</sup> в общей группе Т-хелперов и среди зрелых CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> Т-хелперов при БК и при язвенной болезни. Лишь при хроническом гастродуодените наблюдается существенный рост содержания зрелых CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR9<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в крови. Следует отметить, что CD4<sup>+</sup>CCR9<sup>+</sup> лимфоциты крови здорового человека являются весьма гетерогенной группой, которая содержит повышенное количество, как провоспалительных Т-хелперов 1 типа, так и противовоспалительных регуляторных Т-клеток. Соответственно, для оценки роли CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR9<sup>+</sup> клеток при гастродуодените необходимо провести дополнительные исследования баланса эффекторов и регуляторных Т-клеток в этой группе лимфоцитов при данном заболевании.

**Заключение.** Выявлен значительный рост содержания зрелых эффекторных CCR6<sup>+</sup> Т-хелперов при заболеваниях с деструктивно-язвенными повреждениями слизистой: при БК и при *H. pylori*-ассоциированной язвенной болезни. При гастродуодените зарегистрировано увеличение количества зрелых CCR9<sup>+</sup> Т-хелперов. Результаты свидетельствуют о связи характера воспалительного процесса в слизистой с составом Т-хелперов, вовлеченных в иммунный ответ.

Работа поддержана отраслевой научно-исследовательской программой «Проблемно-ориентированные прикладные научные исследования в области надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» и РФФИ, проект 18-015-00028а.

#### Литература:

1. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984. V. 1. P. 1311–1315.
2. Kronsteiner B., Bassaganya-Riera J., Philipson C., Viladomiu M., Carbo A., Abedi V., Hontecillas R. Systems-wide analyses of mucosal immune responses to *Helicobacter pylori* at the interface between pathogenicity and symbiosis. *Gut microbes*. 2016. V. 7. № 1. P. 3–21.
3. Moyat M., Velin D. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *World J. Gastroenterol*. 2014. V. 20. № 19. P. 5583-5593.
4. Kaser A., Zeissig S., Blumberg R.S. Inflammatory Bowel Disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2010. V. 28. P. 573–621.
5. Buttó L.F., Schaubeck M., Haller D. Mechanisms of microbe-host interaction in Crohn's disease: Dysbiosis vs. Pathobiont Selection. *Front. Immunol*. 2015. V. 6. P. 555. doi: 10.3389/fimmu.2015.00555. eCollection 2015.
6. Iqbal N., Oliver J.R., Wagner F.H., Lazenby A.S., Elson C.O., Weaver C.T. T helper 1 and T helper 2 cells are pathogenic in an antigen-specific model of colitis. *J. Exp. Med*. 2002. V. 195. P. 71–84.
7. Maynard C.L., Weaver C.T. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity*. 2009. V. 31. № 3. P. 389–400.
8. Kiriya K., Watanabe N., Nishio A., Okazaki K., Kido M., Saga K., et al. Essential role of Peyer's patches in the development of *Helicobacter*-induced gastritis. *Int. Immunol*. 2007. V. 19. № 4. P. 435–446.

УДК: 571.21+616.9

**СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ПОИСКУ НОВЫХ ТРАНСКРИПТОМ-АССОЦИИРОВАННЫХ МАРКЕРОВ ПАТОЛОГИИ С ПОМОЩЬЮ БИОЧИПОВ НА ПРИМЕРЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ОНКОГЕННЫМИ ГЕРПЕСВИРУСАМИ ВЭБ И ВГЧ6**

**Уткин О. В., Филатова Е. Н., Князев Д. И., Сахарнов Н. А., Преснякова Н. Б.**  
*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Проведен поиск молекулярно-генетических маркеров инфекционного мононуклеоза, опосредованного вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ-ИМ) и вирусом герпеса человека 6 типа (ВГЧ6-ИМ). Материалом для исследования послужила лейкоцитарная фракция периферической крови пациентов с ВЭБ-ИМ, ВГЧ6-ИМ, а так же здоровых доноров. Для анализа транскриптома использовали ДНК-биочипы собственного дизайна, созданного с помощью разработанной нами программы для ЭВМ «Splice variants microarray design pipeline». Всего было проанализировано 1115 генов и транскриптов, регулирующих пролиферацию, апоптоз и активацию иммунокомпетентных клеток. Использовали разработанные нами протоколы пробоподготовки материала, получения и гибридизации дц-кДНК. Результаты обрабатывали с помощью разработанной нами программы для ЭВМ «MiDA – Microarray Data Analysis». Выбор маркеров ВЭБ-ИМ и ВГЧ6-ИМ осуществляли на основании показателей важности для бинарной классификации, статистической значимости и кратности изменения экспрессии при сравнении двух групп. В результате исследования был определен набор маркеров, дифференциально экспрессирующихся при ВЭБ-ИМ и ВГЧ6-ИМ по сравнению с контрольными значениями.

**A MODERN APPROACH TO SEARCHING FOR NEW TRANSCRIPT-ASSOCIATED MARKERS OF PATHOLOGY USING BIOCHIPS ON THE EXAMPLE OF DISEASES CAUSED BY EBV AND HHV6 ONCOGENIC HERPESVIRUSES**

**Utkin O. V., Filatova E. N., Knyazev D. I., Sakharnov N. A., Presnyakova N. B.**  
*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** A search for molecular genetic markers of infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus (EBV-IM) and human herpes virus type 6 (HHV6-IM) was conducted. The material for the study was the leukocyte fraction of the peripheral blood of patients with EBV-IM, HHV6-IM, as well as healthy donors. For the analysis of the transcriptome, DNA microarray of our own design was used. Design was created using our own computer program «Splice ways microarray design pipeline». A total of 1115 genes and transcripts regulating the proliferation, apoptosis and activation of immunocompetent cells were analyzed. We used the protocols of sample preparation of the material, production and hybridization of ds-cDNA, developed by us. The results were processed using our own computer program «MiDA – Microarray Data Analysis». The selection of EBV-IM and HHV6-IM markers was carried out on the basis of values of feature importance for the binary classification, statistical significance and the expression fold change when comparing the two groups. As a result of the study, a set of markers differentially expressed in EBV-IM and HHV6-IM compared with control values was determined.

**Введение.** Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) и вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ6) являются представителями семейства *Herpesviridae*, инфицирующими широкий спектр клеток человека, в том числе, иммунокомпетентных. Данные вирусы являются возбудителями инфекционного мононуклеоза (ИМ), характеризующегося разнообразными клиническими проявлениями [1]. Последствием перенесенной инфекции, особенно у детей младшей возрастной группы и иммуноскомпрометированных лиц, может быть развитие вторичной иммунной недостаточности и возникновение злокачественных новообразований [2, 3]. При этом молекулярные аспекты иммунопатогенеза ВЭБ-ИМ и ВГЧ6-ИМ изучены

недостаточно, а общность клинической картины затрудняет их дифференциальную диагностику, выбор стратегии лечения и профилактики развития осложнений.

На молекулярном уровне воздействие вирусов реализуется путем модуляции экспрессии генов, участвующих в реализации базовых биологических процессов, таких как активация иммунцитов, пролиферация и дифференцировка клеток, а также механизмов их самоликвидации (апоптоз, некроптоз и другие). Выраженное изменение экспрессии набора генов, контролируемых указанными процессами, может служить уникальным молекулярным паспортом течения ВЭБ- и ВГЧ6-ассоциированного ИМ, а отдельные гены и их транскрипты – маркерами инфекции, которые можно использовать с целью диагностики, мониторинга заболевания, оценки риска развития осложнений, а также в качестве потенциальных мишеней для средств таргетной терапии [4-7].

Как в России, так и за рубежом, поисковые работы, направленные на выявление новых молекулярно-генетических маркеров широкого спектра заболеваний, часто базируются на использовании технологии биочипов, удовлетворяющих критериям относительно невысокой стоимости, производительности и достоверности получаемых результатов. Применяя в качестве технологии первого выбора биочипы, возможно оценивать не только экспрессию гена (суммарный уровень представленности всех вариантов мРНК одного гена), но и состав, а также количественное соотношение транскриптов (сплайсированных вариантов мРНК одного гена) [8].

Вместе с тем, анализ результатов, полученных с помощью биочипов, требует привлечения сложного математического аппарата, сочетающего методы прикладной статистики и алгоритмы машинного обучения [9]. Применяя такие подходы, можно решать сложную задачу, часто связанную с невозможностью селекции единственного патогномичного маркера заболевания и направленные на поиск паттерна факторов, прямое или опосредованное взаимодействие которых приводит к конкретному клиническому результату [10].

**Материалы и методы.** Материалом исследования явились лейкоциты периферической крови детей в возрасте 7–17 лет с диагнозом «острый ВЭБ-ИМ» и «острый ВГЧ6-ИМ», а также практически здоровые добровольцы сопоставимого пола и возраста. Забор материала выполняли с информированного согласия родителей или опекунов до начала неспецифического лечения.

Из лейкоцитов получали пул тотальной РНК, которую подвергали реакции обратной транскрипции с получением кДНК. кДНК гибридизовали на биочип собственного дизайна для получения амперометрического сигнала, который принимали за уровень экспрессии гена или транскрипта. Синтез зондов на биочип осуществлялся *in situ* с помощью оборудования V3 Synthesizer и соответствующего комплекта реагентов в соответствии с рекомендациями производителя (CustomArray Inc., США). Всего было проанализировано 1115 генов и транскриптов, регулирующих пролиферацию, апоптоз и активацию иммунокомпетентных клеток.

**Результаты.** Одним из ключевых аспектов в разработке биочипов, предназначенных для анализа транскриптома клеток, является формирование пула зондов, комплементарных определенным участкам мРНК. Вопросу выбора оптимального алгоритма отбора зондов часто уделяется мало внимания, несмотря на всю важность данного этапа. Существуют готовые программные продукты, предназначенные для подбора зондов. Примерами могут служить OligoArray, OligoWiz, ArrayOligoSelector, ProbeSel, обладающие рядом недостатков [11]. К ним можно отнести скрытие процесса вычисления от исследователя, отсутствие возможности внесения корректив в используемые алгоритмы, а также прогнозирования времени, необходимого для получения результатов вычислений, ограничения по длине отбираемых зондов, невозможность работы со сплайсированными вариантами молекул и другие (в зависимости от приложения).

Учитывая вышеперечисленные недостатки, нами теоретически обоснован, реализован в виде программного продукта и протестирован на корректность алгоритм селекции зондов для создания дизайна биочипа, включающего в себя две группы олигонуклеотидных зондов. Одна группа детектирует отдельные сплайсированные варианты мРНК (уникальные зонды), а другая позволяет оценивать экспрессию генов (групповые зонды). Созданный

программный продукт «Splice variants microarray design pipeline» получил свидетельство о государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ № 2016619043 от 11 августа 2016 года. Лежащий в его основе алгоритм отличается высокой степенью модульности (отдельные этапы могут быть реализованы с применением различных web-сервисов, готовых или самостоятельно разработанных алгоритмов), возможностью задать любые критерии отбора зондов в зависимости от задач исследования, быстродействием (миллионы нуклеотидных последовательностей могут быть проанализированы менее чем за сутки) [12]. По адресу <https://cloud.nniem.ru/s/E8bMZc2w43g9BLk> размещен архив с исходными файлами данных и скриптами, использованными при расчетах.

В дальнейшем с целью поиска клинически-значимых транскрипционных маркеров ВЭБ- и ВГЧ6-ассоциированного ИМ нами разработан, апробирован и валидирован экспериментальный вариант биочипа, позволяющий детектировать и полуколичественно оценивать изменения транскриптома клеток крови и образцов других тканей человека. Подобраны оптимальный диапазон величин целевой последовательности зондов (20–30 н.о.) и диапазон величин олиго-Т-спейсера (8–10 н.о.). Установлена оптимальная температура гибридизации 40°C, позволяющая проводить измерения с относительно высокой чувствительностью и специфичностью. Разработана процедура пробоподготовки, позволяющая получать гибридизуемую аРНК со стабильным выходом и характеризующаяся приемлемыми финансовыми затратами, закрепленная в виде ноу-хау «Модифицированный способ получения дц-кДНК из биологического материала для анализа экспрессии сплайсированных вариантов мРНК с помощью биологических микрочипов технологии Custom Array, США». Проведена апробация биочипа в различных экспериментальных условиях, продемонстрировавшая его высокую производительность. Полноформатные протоколы результатов гибридизации депонированы в международной базе данных Gene Expression Omnibus на портале NCBI [13].

Анализ данных, полученных с помощью биочипов, проводили с использованием разработанной нами программы для ЭВМ MiDA, созданной в виде расширения для языка R (размещена в архиве «The Comprehensive R Archive Network» и доступна по ссылке <https://CRAN.R-project.org/package=MiDA>). Проводили попарное сравнение транскриптома всех исследованных групп. С применением градиентного бустинга над решающими деревьями реализовали парную классификацию образцов, выделяя гены и транскрипты, наиболее значимые для классификации. Менее значимые гены и транскрипты из анализа удаляли. С применением Т-теста с поправкой на ожидаемую долю ложных отклонений определяли гены и транскрипты, экспрессия которых статистически значимо изменялась при патологии по сравнению с нормой, а также кратность изменения экспрессии. Выделяли кандидатные маркеры для различия каждой пары групп – гены и транскрипты, обладающие наибольшей важностью для парной классификации, экспрессия которых статистически значимо ( $q < 0,05$ ) изменяется с высокой кратностью. Пороговое значение для разграничения «высоких» и «низких» значений важности и кратности изменения экспрессии установили исходя из распределения величин, оно составило 75-ый перцентиль. По результатам анализа в уникальный набор маркеров ВЭБ-ИМ включили гены и транскрипты, составившие кандидатные маркеры для различия групп норма – ВЭБ-ИМ и ВЭБ-ИМ – ВГЧ6-ИМ, и исключили гены и транскрипты, вошедшие в кандидатные маркеры для различия групп норма – ВГЧ6-ИМ. Для ВГЧ6-ИМ уникальный набор маркеров определяли аналогично. Реализованный в программе метод позволил с высокой эффективностью выявить набор маркерных генов и транскриптов, уникальных для ВЭБ-ИМ и ВГЧ6-ИМ.

У пациентов с ВЭБ-ИМ наблюдалось снижение экспрессии промоторов пролиферации транскрипта 5 рецептора стероидных гормонов AR и транскрипта 4 ASCC1, гена CAD, мРНК адаптерной молекулы FADD, играющей ключевую роль в цитотоксическом иммунном ответе и апоптозе, а также повышение экспрессии транскрипта 2 HLA-DPA1 и транскрипта

4 RIPK1. У пациентов с ВГЧ6-ИМ детектировалось повышение экспрессии активаторов NF-κB транскрипта 2 TRAF3 и транскрипта 2 CHUK, повышение экспрессии мРНК ингибитора митохондриального пути апоптоза AVEN. Повышение экспрессии некодирующего транскрипта 2

проапоптотического фактора CIRBP свидетельствовало о снижении апоптотической активности в клетках. Обращало на себя внимание снижение экспрессии важного медиатора врожденного иммунного ответа транскрипта 10 IRAK4 при ВГЧ6. Именно эти гены и транскрипты определялись нами как уникальные молекулярные маркеры ИМ, вызванного ВЭБ и ВГЧ6.

Определен набор маркеров, дифференциально экспрессирующихся при ВЭБ- и ВГЧ6-ИМ по сравнению с контрольными значениями. У пациентов с ВЭБ-ИМ наблюдалось снижение экспрессии транскрипта 2 CIRBP, мРНК FADD и транскрипта 2 TRAF3 по сравнению с нормой, в то время как экспрессия этих транскриптов при ВГЧ6-ИМ повышалась. В итоге сформирован набор маркеров, позволяющий проводить дифференциальную диагностику ВЭБ- и ВГЧ6-ИМ.

Кроме того, выявлен набор маркеров, позволяющих прогнозировать риск развития ВЭБ-ассоциированных опухолей у пациентов с острой ВЭБ-инфекцией. Так, повышение уровней экспрессии мРНК транскрипционного варианта 2 TGFBR2, транскрипционного варианта 1 Smad2, транскрипционных вариантов 3 и 4 IKKKG, транскрипционных вариантов 1 и 2 NFKB1B и транскрипционного варианта 1 NFKB1, а также снижение уровня экспрессии транскрипционного варианта 2 PRKCB в рамках TGFBI-опосредованных сигнальных путей рассматривается нами как фактор риска развития ВЭБ-ассоциированных опухолей.

В дальнейшем экспрессия небольшого числа маркерных транскриптов может оцениваться с использованием традиционных методов молекулярной биологии, являющихся «золотым стандартом» ДНК/РНК диагностики, т. е. в формате ПЦР в реальном времени.

#### Литература:

1. Филатова Е.Н., Уткин О.В. Современные подходы к моделированию герпесвирусной инфекции // Журнал Медиаль. 2014. № 2 (12). С. 172–197.
2. Кудин А.П., Романовская Т.Р., Белевцев М.В. Состояние специфического иммунитета при инфекционном мононуклеозе у детей // Медицинский журнал. 2007. Т. 1. № 19. С. 102–106.
3. Dojcinov S.D., Fend F., Quintanilla-Martinez L. EBV-Positive Lymphoproliferations of B-, T- and NK-Cell Derivation in Non-Immunocompromised Hosts // Pathogens. 2018. Т. 7. № 1. С. E28.
4. Уткин О.В., Свинцова Т.А., Кравченко Г.А. и др. Экспрессия альтернативных форм гена CD95/Fas в клетках крови при герпес-вирусной инфекции // Иммунология. 2012. Т. 33. № 4. С. 189–193.
5. Уткин О.В., Бабаев А.А., Филатова Е.Н. и др. Оценка сывороточного уровня растворимого DR3/LARD при заболеваниях разного генеза // Иммунология. 2013. Т. 34. № 3. С. 148–151.
6. Филатова Е.Н., Анисенкова Е.В., Преснякова Н.Б. и др. Антиапоптотическое действие рецептора CD95 в наивных CD8+ Т-лимфоцитах у детей с острым инфекционным мононуклеозом // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6. № 3. С. 207–218.
7. Filatova E.N., Anisenkova E.V., Presnyakova N.B. et al. DR3 regulation of apoptosis of naive T-lymphocytes in children with acute infectious mononucleosis // Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 2016. Т. 63. № 3. С. 339–357.
8. Князев Д.И., Старикова В.Д., Уткин О.В. и др. Особенности сплайсинг-ориентированных ДНК-микрочипов и их применение в биомедицинских исследованиях (обзор) // Современные технологии в медицине. 2015. Т. 7. № 4. С. 162–173.
9. Pirooznia M., Yang J.Y., Yang M.Q. et al. A comparative study of different machine learning methods on microarray gene expression data // BMC Genomics. 2008. Т. 9. № S 1. С. S13.
10. Филатова Е.Н., Солнцев Л.А., Преснякова Н.Б. и др. Определение некоторых иммунологических особенностей ВГЧ-6-опосредованного инфекционного мононуклеоза у детей методом дискриминантного анализа // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8. № 2. С. 223–229.
11. Chen X., Wu Z., Liu Z. Research progress of probe design software of oligonucleotide microarrays // Journal of Biomedical Engineering. 2014. Т. 31. № 1. С. 214–221.
12. Солнцев Л.А., Старикова В.Д., Сахарнов Н.А. и др. Стратегия подбора зондов для изучения совокупности мРНК участников рецептор-опосредованного сигналинга апоптоза // Молекулярная биология. 2015. Т. 49. № 3. С. 515.
13. Gene Expression Omnibus. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>, номера доступа: GSE95126, GSE97079, GSE109959, GSE109960.

**РАЗДЕЛ 9. ДОСТИЖЕНИЯ, ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РЕАЛИЗАЦИИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЙ СТРАТЕГИИ ПО ПРОТИВОДЕЙСТВИЮ  
РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**

УДК: 614.44

**АНАЛИЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ВИЧ-ИНФЕКЦИИ  
В СУБЪЕКТАХ ПРИВОЛЖСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА В 2018 ГОДУ**

**Зайцева Н. Н., Альтова Е. Е.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** Эпидемический процесс ВИЧ-инфекции в Приволжском федеральном округе (ПФО) в 2018 г. характеризовался высоким уровнем заболеваемости и пораженности населения ВИЧ-инфекцией на значительной части территорий округа. Отмечался дальнейший рост полового пути передачи ВИЧ, реализуемого при гетеросексуальных контактах, а также продолжающейся интенсификацией эпидемического процесса в среде мужчин, имеющих секс с мужчинами (МСМ). Наблюдалось продолжение роста инфицированных возрастной категории старше 30 лет. Увеличился показатель смертности среди ВИЧ-позитивных ПФО.

**ANALYSIS OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION OF HIV INFECTION  
IN THE SUBJECTS OF THE VOLGA FEDERAL DISTRICT IN 2018**

**Zaytseva N. N., Altova E. E.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** The epidemic process of HIV infection in the Volga Federal District (VFD) in 2018 was characterized by a high incidence and prevalence of HIV infection in a large part of the district. There has been a further increase in the sexual transmission of HIV through heterosexual contacts, as well as an ongoing intensification of the epidemic process among men who have sex with men (MSM). There was a continuation of the growth of infected persons in the age group over 30 years. Mortality rate among HIV-positive people has increased.

**Введение.** ВИЧ-инфекция – актуальная инфекционная патология человека. Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в ПФО остается напряженной. Округ относится к территории с очень высоким уровнем пораженности населения ВИЧ-инфекцией, на 31.12.2018 г. в субъектах ПФО зарегистрировано 255522 инфицированных ВИЧ, показатель пораженности – 665,9 на 100 000 населения. Осуществление эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией – основа построения стратегии противодействия эпидемии и оценки эффективности мероприятий по профилактике, диагностике и лечению данного заболевания.

**Материалы и методы.** Используются данные территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД субъектов ПФО; отчетная форма мониторинга Роспотребнадзора «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ»; отчетная форма №4 «Сведения о результатах исследования крови на антитела к ВИЧ». Материалы статистически обработаны и оценены.

**Результаты и обсуждение.** В 2018 г. в субъектах ПФО выявлено 20152 новых случая ВИЧ-инфекции. Среднеокружной показатель заболеваемости составил 68,2 на 100 000 населения, что ниже уровня 2017 г. (70,5). В семи субъектах ПФО зарегистрирован уровень инцидентности, превышающий среднеокружной: Пермский край (129,5), Оренбургская (109,5), Самарская (94,4), Ульяновская (86,2), Нижегородская (72,4) области, Башкортостан (68,5), Удмуртская Республика (85,2). В 2018 г. темп прироста числа новых случаев ВИЧ-инфекции в округе имел отрицательное значение (-3,6%). Меньшее, чем в 2017 г., число вновь выявленных случаев инфицирования ВИЧ в 2018г. зарегистрировано в 11 субъектах,

положительный темп прироста был отмечен в Башкортостане, Татарстане, Саратовской области. На 31.12.2018 г. в ПФО зарегистрировано 255522 ВИЧ-инфицированных лиц, показатель пораженности – 665,9 на 100 000 населения. В Пермском крае, Самарской, Ульяновской и Оренбургской областях данный показатель превысил среднеокружной и уровень в 1,0% (1214,5; 1235,8; 1034,6 и 1009,5) соответственно.

Основным путем инфицирования остается половой путь, его доля в 2018 г. составила 72,5% (в 2017 г. – 67,0%), причем 98,7% из них реализуется при гетеросексуальных контактах. Наибольшие его значения зарегистрированы в Марий Эл (87,8%), Оренбургской (80,7%) и Ульяновской (80,6%) областях, Башкортостане (78,8%). Инфицирование ВИЧ в группе MSM зарегистрировано во всех субъектах округа, кроме Марий Эл, составляя 1,0% в структуре путей передачи ВИЧ (0,8% – в 2017 г.).

В 2018 г. в ПФО продолжается дальнейшее снижение доли парентерального пути инфицирования (26,4% в структуре путей передачи ВИЧ). Вместе с тем, в восьми субъектах округа данный показатель превысил среднеокружное значение: Удмуртская Республика (35,1%), Татарстан (33,6%); Нижегородская (34,6%); Пензенская (30,8%); Кировская (27,9%); Саратовская (27,1%) области; Чувашская Республика (28,3%); Пермский край (29,0%), что свидетельствует о высокой эпидемиологической роли данного пути в эпидемическом процессе ВИЧ-инфекции и необходимости дальнейшего и непрерывного проведения профилактических программ и биоповеденческих исследований в среде потребителей психоактивных веществ.

Доля детей, инфицированных ВИЧ перинатально, в общей структуре путей передачи в 2018 г. составила 1,0%. Взято под наблюдение 3456 детей, рожденных инфицированными матерями, 3427 из них имеют неокончательный лабораторный ВИЧ-статус. Наибольшее число детей родилось в Самарской (727 чел.), Оренбургской (422) и Нижегородской (357) областях, Пермском крае (543) и Башкортостане (412).

В структуре ВИЧ-позитивных лиц с установленными путями передачи инфекции 0,05% (7 чел.) были отнесены к категории «прочие»: два ребенка инфицировались при грудном вскармливании (Марий Эл, Чувашская Республика); пять – посредством различных бытовых гемоконтактов (Мордовия, Самарская область).

Распределение ВИЧ-позитивных лиц, выявленных в 2018 г., по возрасту представлено следующим образом: дети до 14 лет составили 1,0%; лица от 15 до 20 лет – 2,0%; 21–30 лет – 20,0%; 31–40 лет – 44,7%; 41–50 лет – 24,2%, 8,7% инфицированных были старше 50 лет.

В социальной структуре инфицированных в 2018 г., по-прежнему, доминирующее положение занимают неработающие граждане (52,2%). Вместе с тем, в последние годы возрастает доля социально-адаптированных лиц: доля работающих ВИЧ-позитивных в 2018 году (41,0%) увеличилась в 1,5 раза, по сравнению с 2010 г. (27,0%).

В 2018 г. на административных территориях округа от всех причин умерло 10258 инфицированных ВИЧ граждан, в том числе вследствие ВИЧ-инфекции – 4103. Темп прироста числа смертей среди ВИЧ-позитивных, умерших от всех причин, в отчетном году в округе составил +18,3%, значительно превышая уровень 2017 г. (+3,6%). Темп прироста в когорте умерших вследствие ВИЧ-инфекции в 2018 г. составил +5,9% (показатель 2017 г. +7,1%). Среднеокружной показатель смертности (34,7 на 100 000 населения) превысил уровни предыдущих лет как по ПФО, так и по России в целом. В субъектах ПФО на 31.12.2018 количество умерших составило 86193 человека, из которых 25893 – умерли непосредственно от причин, связанных с ВИЧ-инфекцией.

Оценивая ход реализации Государственной Стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в субъектах ПФО в 2018 г. следует сказать, что результаты ее выполнения нашли свое отражение в достижении целевых показателей в части, касающейся:

- охвата медицинским освидетельствованием населения округа (запланировано 22,0% / выполнено 25,1%);

- доли ВИЧ-положительных лиц, получающих антиретровирусную терапию (АРВТ), от общего числа инфицированных (запланировано 34,3% / выполнено 43,5%);
- доли ВИЧ-положительных лиц, получающих АРВТ, от общего числа инфицированных, состоящих под диспансерным наблюдением (запланировано 48,0% / выполнено 58,9%);
- охвата химиопрофилактикой (ХП) перинатальной передачи ВИЧ: во время беременности (запланировано 93,0% / выполнено 95,1%), во время родов (запланировано 94,0% / выполнено 98,1%).

В 2018 г. не достигнуты целевые показатели охвата ХП перинатальной трансмиссии ВИЧ новорожденных: выполнено 99,5% из запланированных 99,7% и целевые показатели охвата диспансерным наблюдением ВИЧ-положительных пациентов от общего числа лиц, зараженных ВИЧ (запланировано 79,5% / выполнено 74,0%).

**Заключение.** Эпидемический процесс ВИЧ-инфекции в ПФО в 2018 г. характеризовался снижением среднеокружного показателя вновь выявленных инфицированных ВИЧ на 3,3%, по сравнению с 2017 г., с сохраняющимся высоким уровнем пораженности населения округа ВИЧ-инфекцией на значительной части административных территорий округа. Показатель смертности среди ВИЧ-положительных ПФО превысил среднероссийский уровень, отмечен значительный прирост числа смертей от всех причин (+18,3%), а также смертей вследствие ВИЧ-инфекции (+5,9%).

Проведенный расчет прогностического показателя заболеваемости ВИЧ-инфекцией ( $T_{\text{средн. прогн.}}$ ) в 2019 г. в субъектах ПФО, при отсутствии нетипичных изменений активности факторов риска инфицирования ВИЧ, составит 68,5 на 100 000 населения.

УДК: 614.39

## **ОРГАНИЗАЦИЯ ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ВИЧ-ПОЗИТИВНЫМИ ЛИЦАМИ В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ В 2018 ГОДУ**

**Кузоватова Е. Е.**

*ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия*

**Аннотация.** На основании данных формы государственного статистического наблюдения, представленных субъектами ПФО, выполнен анализ организации мероприятий по диспансеризации ВИЧ-инфицированных в 2018 г. В округе достигнуто выполнение целевых показателей Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции на 2018 г. по анализируемым направлениям.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, диспансерное наблюдение, Приволжский федеральный округ, Государственная стратегия противодействия распространению ВИЧ-инфекции в РФ

## **MANAGEMENT OF MEDICAL CARE OF HIV-POSITIVE PERSONS IN VOLGA FEDERAL DISTRICT IN 2018**

**Kuzovatova E. E.**

*Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russia*

**Abstract.** Data of state federal statistical monitoring forms obtained from territorial entities of Volga Federal District are analyzed with a focus on evaluating management of medical care for HIV-positive persons in 2018 in accordance with the State Strategy of HIV Spread Prevention. Targeted indicators of Strategy implementation for 2018 in VFD are achieved.

**Key words:** HIV-infection, medical care, Volga Federal District, Russian Federation State Strategy of HIV Spread Prevention

**Введение.** Организация диспансерного наблюдения за инфицированными ВИЧ лицами является одной из основных задач службы профилактики и борьбы со СПИД и инфекционными заболеваниями. В рамках решения этой задачи усилия центров по профилактике и борьбе со



СПИД субъектов ПФО направлены на удержание пациентов в системе наблюдения, расширение охвата антиретровирусной терапией, формирование приверженности пациентов лечению и предупреждение развития резистентности к антиретровирусным препаратам, реализацию мероприятий по профилактике перинатальной передачи ВИЧ.

**Материалы и методы.** Проанализированы отчетные формы по исполнению основных мероприятий приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ» за 2018 год, представленных субъектами ПФО.

**Результаты и обсуждение.** В 2018 г. под наблюдением в округе состояло 181 329 ВИЧ-инфицированных, из них 2490 дети. По сравнению с 2017 г. число лиц, подлежащих наблюдению, возросло на 5,0% и составило 196 885 человек. При этом показатели охвата наблюдением сохраняются на уровне предыдущего года (в 2018 г. – 92,1%, в 2017 г. – 92,6%); целевой показатель реализации Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в РФ на период до 2020 года и дальнейшую перспективу (далее Стратегия) – 79,5% [1]. При расчете данного показателя следует учитывать всех инфицированных ВИЧ лиц, знающих и не знающих свой статус, поэтому, вероятно, число лиц, подлежащих наблюдению, больше указанных, что затрудняет анализ выполнения данного пункта Стратегии.

Охват обследованием состоявших под наблюдением лиц составил 93,9%. После снижения 2017 г. до 92,8%, данный показатель в 2018 г. вновь обнаружил тенденцию к росту, хотя и не достиг уровня 2016 г. (94,3%). Показатели охвата обследованием выше среднеокружных зарегистрированы в тех же субъектах округа, что и в 2017 г., – Республиках Мордовия (98,8%) и Чувашия (95,5%), Кировской (98,4%), Нижегородской (100%), Оренбургской (98,1%), Самарской (99,0%) и Саратовской (99,9%) областях [2].

Для контроля за эффективностью АРТ согласно стандарту выполняются исследования иммунного статуса и вирусной нагрузки (ВН). В Республиках Марий Эл, Мордовия, Чувашия и Нижегородской области в 2018 г. эти исследования выполнены у всех прошедших обследование лиц. В 2018 г. в ПФО почти треть обследованных пациентов (27,5%) имела низкие показатели иммунного статуса ( $CD4^+$  менее 350 кл/мкл). Из числа прошедших исследование ВН у 53,5% обследованных выявлено ее подавление (ниже порогового уровня 500 коп/мл).

Проблема ко-инфекции ВИЧ-туберкулез в округе в 2018 г. сохраняла актуальность. Число обследованных на туберкулез составило 147 638, в абсолютных числах оставаясь на уровне 2017 г., однако охват обследованием снизился до 86,7%, от числа прошедших диспансеризацию (в 2017 г. – 90%). Стопроцентный охват обеспечен в Республиках Марий Эл, Мордовия и Кировской области; высокие показатели отмечены в Республике Башкортостан (98,7%) и Оренбургской области (99,9%). Показатели ниже среднеокружных зарегистрированы в Удмуртской республике, Пензенской, Самарской и Ульяновской областях. Из общего числа пациентов, состоявших под наблюдением, охват обследованием на туберкулез, составил лишь 81,4% (ниже показателей 2016–2017 гг. – 85,4% и 85,0%, соответственно). В результате обследования у 2,2% ВИЧ-позитивных был установлен диагноз туберкулеза. В целом по округу в 2018 г. лечение туберкулеза получали 10 416 ВИЧ-инфицированных, 5,7% от числа состоявших под наблюдением, что ниже показателей трех последних лет (в 2015–2017 гг. – 6,7%, 6,6%, 6,9%, соответственно).

Целью назначения АРТ является увеличение продолжительности и улучшение качества жизни ВИЧ-позитивных лиц, сохранение их трудоспособности. В 2018 г. в округе получали АРТ 106 735 человек, из них впервые начали терапию 30 723 человека. Число пациентов, получающих АРТ, сравнительно с 2017 г. увеличилось в 1,2 раза. Охват терапией лиц, находившихся под наблюдением составил в среднем по ПФО 58,9% (целевой показатель Стратегии на 2018 г. – не менее 48%; 79,8% – при условии соответствующего финансирования мероприятий). Превышены среднеокружные значения в Самарской (65,2%), Оренбургской (64,1%), Нижегородской (62,9%), Кировской (59,4%) областях, Республиках Татарстан (64,2%), Мордовия (62,6%), Чувашия (61,2%), Башкортостан (61,0%).

Доля ВИЧ-положительных лиц, получающих АРТ, от общего числа зарегистрированных лиц, зараженных ВИЧ, в 2018 г. составила 54,9% (целевой показатель Стратегии при расчете от общего числа лиц, зараженных ВИЧ, – 34,3%; 60,2% при условии соответствующего финансирования мероприятий).

В назначении АРТ по неотложным показаниям в ПФО в 2018 г. нуждалось 54 193 человека (стадия 2В, 4, 5, либо уровень CD4<sup>+</sup> ниже 350 кл/мкл, а также беременные), что составляло 30% от числа лиц под наблюдением.

Удержание пациентов на терапии является важным критерием эффективности системы оказания помощи ВИЧ-инфицированным и необходимым условием успешности АРТ. За период 2016–2018 гг. ежегодно прекращало терапию более 7000. Однако, выявлена тенденция снижения доли пациентов, прекративших терапию: с 10,2% в 2016 г., 9,2% в 2017 г., до 7,1% в 2018 г. Ведущей причиной прекращения АРТ оставалась смерть пациента. В структуре причин она составила 50,2% (в 2017 г. – 40%).

В 2018 г. доля пациентов, прервавших АРТ, была наименьшей в Нижегородской области (3,7%), Республиках Чувашия (4,4%) и Татарстан (4,7%), Ульяновской (5,5%), Пензенской (5,7%) областях, Республике Башкортостан (6,4%). Территории округа значительно отличались друг от друга по доле пациентов, прервавших терапию по причине смерти, – от 4,4% в Республике Мордовия до 72,5% в Республике Башкортостан.

Из общего числа пациентов, находившихся в 2018 г. на антиретровирусной терапии, 10,5% получали ее в учреждениях ФСИН (11 184 человека). Охват АРТ пациентов, находившихся во ФСИН, составил 49,3%.

Тенденция снижения доли пациентов, сошедших с терапии, наблюдалась и в системе исполнения наказаний, однако эта доля была выше, чем в популяции пациентов, получавших АРТ, в целом по округу. Так, процент прервавших терапию в учреждениях ФСИН в 2018 г. составил 12,8% (в 2017 г. – 15,5%, в 2016 г. – 27%). Смерть пациента как причина прекращения терапии зарегистрирована в 50,8% случаев, что сопоставимо с аналогичным показателем в общей популяции находившихся на лечении.

**Заключение.** В 2018 г. организация диспансерного наблюдения за ВИЧ-положительными лицами в субъектах ПФО осуществлялась в соответствии с планом основных мероприятий по реализации Стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в РФ. Каскад диспансеризации выглядел следующим образом: из 196 885 человек, подлежащих наблюдению, на учете состояло 92,1%, из них прошли обследование 93,9%. Охват АРТ из числа состоявших на учете составил 58,9%, из числа зарегистрированных лиц – 54,9%. В 2018 г. АРТ получали пациенты, имевшие не только неотложные, но и стандартные показания к назначению терапии. Охват АРТ инфицированных ВИЧ детей был существенно выше, чем в общей популяции пациентов, – 96,3%, однако отмечено снижение охвата по сравнению с 2017 г. (99,4%). По анализируемым направлениям целевые показатели Стратегии были выполнены. Исходя из представленных данных о количестве лиц с подавленной ВН можно предполагать, что эффективность АРТ была достигнута у 73,1% ВИЧ-инфицированных. Доля этих пациентов составляет 43% от числа лиц, состоявших под наблюдением и 39,6% от общего числа ВИЧ-инфицированных в округе (пороговый уровень РНК ВИЧ принят равным 500 коп/мл).

#### Литература:

1. Государственная стратегия противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу [Электронный ресурс]. URL: <http://static.government.ru/media/files/cbS7AH8vWirXO6xv7C2mySn1JeqDIvKA.pdf> (дата обращения 29.03.2019).
2. «ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе в 2017 году». [Электронный ресурс]: Информационный бюллетень / Зайцева Н.Н., Альтова Е.Е., Кузоватова Е.Е.; ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной. Н. Новгород, 2018. – URL: [http://epid-atlas.nniiem.ru/txt\\_data/pdf/aid\\_pfo\\_2017\\_info.pdf](http://epid-atlas.nniiem.ru/txt_data/pdf/aid_pfo_2017_info.pdf) (дата обращения 29.03.2019).

## ЧАСТОТА АЛЛЕЛЯ CCR5DELTA32 В ПОПУЛЯЦИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Любимова Н. Е., Семёнов А. В.

*ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия*

**Аннотация.** ВИЧ-инфекция продолжает оставаться одной из основных социально-значимых угроз в сфере здоровья, несмотря на усилия, направленные на борьбу с эпидемией. У некоторых людей отмечали устойчивость к ВИЧ, которая может быть обусловлена индивидуальной генетической характеристикой пациента. Одним из генов, влияющих на течение СПИД, может быть ген хемокинового рецептора CCR5. Изучение распространения протективного аллеля CCR5 имеет важное прогностическое значение. Целью работы было изучение частоты встречаемости аллелей CCR5delta32 в Санкт-Петербурге. Группа обследованных составила 423 условно здоровых жителей Санкт-Петербурга, не имеющих известной истории ВИЧ. Генотип дикого типа CCR5/CCR5 обнаружен у 346 человек (81,8%), CCR5/CCR5delta32 у 72 человека (17,0%), CCR5delta32/CCR5delta32 у 5 человек (1,2%). В обследованной выборке аллель дикого типа встречался с частотой 0,90, тогда как частота делеции составила 0,10. Высокая частота встречаемости протективного аллеля делает обоснованным скрининг ВИЧ-инфицированных и группу риска по ВИЧ-инфекции.

## THE CCR5DELTA32 ALLELE FREQUENCY IN THE POPULATION OF SAINT-PETERSBURG

Liubimova N. E., Semenov A. V.

*Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur*

**Abstract.** HIV infection continues to be one of the main dangers to public health despite the efforts to fight the epidemic. Some people have resistance to HIV. It may be due to the individual genetic characteristics of the patient. One of the genes that influencing the course of AIDS may be a chemokine receptor CCR5 gene. The study of protective allele CCR5 spread has important prognostic value. The aim of this work was to study the frequency of occurrence of the CCR5delta32 allele in Saint-Petersburg. The study group included 423 healthy residents of St. Petersburg, who do not have a known history of HIV. The genotype CCR5/CCR5 was found in 346 people (81.8%), CCR5/CCR5delta32 was in 72 people (17.0%), 5 people (1.2%) had genotype CCR5delta32/CCR5delta32. In the studied samples the wild-type allele was found with frequency of 0.90, whereas the frequency of deletions was 0.10. The high occurrence of protective allele makes it reasonable screening of HIV-infected people and the risk group for HIV infection.

**Введение.** ВИЧ-инфекция продолжает оставаться одной из основных социально-значимых угроз в сфере здоровья, несмотря на усилия, направленные на борьбу с эпидемией. Эпидемическая ситуация по ВИЧ-инфекции продолжает ухудшаться. При этом нет достаточно эффективных методов лечения этого заболевания.

Индивидуальная восприимчивость/невосприимчивость человека к ВИЧ различна. Подавляющее число людей, подвергшихся воздействию ВИЧ, инфицируется и заболевает ВИЧ-инфекцией. Однако у некоторых инфицированных людей симптомы СПИД развивались на несколько лет позже. Был сделан вывод о существовании группы лиц, обладающих определённой устойчивостью к ВИЧ-инфекции. Устойчивость к ВИЧ может быть обусловлена индивидуальной генетической характеристикой пациента. Одним из генов, влияющих на течение СПИД, может быть ген бета-хемокинового рецептора CCR5. По-видимому, CCR5 играет важную роль при воспалительной реакции на инфицирование. Однако роль этого белка в иммунном ответе до конца не ясна.

Ген CCR5 локализован на коротком плече хромосомы 3 в позиции 21 (3p21). Данный locus является полиморфным. Один из аллелей гена CCR5delta32 представляет собой делецию 32 пар оснований этого гена. В результате экспрессии мутантного аллеля в

гомозиготном состоянии транслируется укороченный и функционально неактивный белок ccr5. Вследствие этого гомозиготные носители делеции обладают практически полной резистентностью к инфицированию ВИЧ-1. В гетерозиготном состоянии полиморфизм снижает риск инфицирования ВИЧ-1. Защитный эффект полиморфизмов CCR5delta32 носит доминантный характер [1, 2].

В человеческих популяциях различные аллели представлены преимущественно гетерогенно. Знание частоты распределений полиморфных аллелей может помочь предсказать эпидемическую ситуацию в определенном регионе. Аллель CCR5delta32 преимущественно распространен в европейских популяциях. Этот аллель практически полностью отсутствует в аборигенных популяциях Океании [3], Африки [4, 5], Аравийского полуострова [6, 7], Индии и Китае [3, 8, 9, 10]. В Европе аллель распространяется по градиенту с севера на юг. Его частота самая высокая в Северной Европе, в областях, прилегающих к Балтийскому и Белому морям (15–18%) [8, 11]. Наименьшая частота CCR5delta32 обнаружена в Греции (4,4%) [12].

Исследование распространения протективного аллеля CCR5 может иметь важное прогностическое значение.

**Целью** работы было изучение частоты встречаемости аллелей CCR5delta32 в Санкт-Петербурге.

**Материалы и методы.** Группа обследованных состояла из 423 условно здоровых жителей Санкт-Петербурга, не имеющих известной истории ВИЧ/СПИД, возрастом от 0 до 95 лет. Из биологических образцов (венозная кровь, буккальный эпителии, слюна) с помощью коммерческих наборов (Интерлабсервис, РФ) выделяли геномную ДНК. Генотипирование образцов проводили методом пиросеквенирования, используя коммерческие наборы «CCR5del32-скрин» (Интерлабсервис, РФ), по рекомендации фирмы-производителя.

Статистический анализ проводили при помощи статистических пакетов GraphPad 5.0.

**Результаты и обсуждение.** Проанализировали генотипы 423 условно здоровых доноров. В исследуемой выборке не было выявлено достоверного влияния пола и возраста на частоту распределения изучаемых аллелей. Распределение частот генотипов не отличается от распределения Харди-Вайнберга. Генотип CCR5 дикого типа обнаружен у 346 человек, что составило 81,8%. Было выявлено 77 носителей делеции. Из них гетерозиготных по делеции, то есть имеющих генотип CCR5/CCR5delta32, оказались 72 человека (17,0%). Среди обследованных доноров 5 человек имели генотип CCR5delta32/CCR5delta32. Частота этого генотипа составила 1,2%. В обследованной выборке аллель дикого типа встречался с частотой 0,90, тогда как частота делеции составила 0,10. Эти данные совпадают с данными, полученными другими авторами с применением метода ПЦР для определения аллельных вариантов исследуемого гена. Например, в Санкт-Петербурге при исследовании 3280 образцов пуповинной крови было обнаружено 34 образца, гомозиготных по делеции CCR5delta32/CCR5delta32, что составило 1,04%. В 591 образцах (18,02%) полиморфизм CCR5delta32 присутствовал в гетерозиготном состоянии [13]. Таким образом, в данном исследовании частота делеции оказалась 0,10, а аллель дикого типа встречался с частотой 0,90. В другом исследовании [14] частота делеции в Санкт-Петербурге была 0,13. Гомозиготных носителей делеции авторы не выявили, по-видимому, из-за небольшого размера выборки (всего 50 человек). Людей с гетерозиготным генотипом в данном исследовании было 26%. Авторы сделали вывод, что четверть населения имеет протективный аллель, а около 2% невосприимчивы к ВИЧ. В Новосибирске делеция CCR5 встречается с частотой  $11,0 \pm 1,4\%$ . Генотип дикого типа встречался среди 78,3% обследованных лиц. В 21,3% случаев встречались гетерозиготные по делеции генотипы, а гомозиготные носители делеции были выявлены лишь в 0,4% случаев [15]. Возможно, широкое распространение CCR5delta32 встречается в популяциях финно-угорского происхождения [2].

**Заключение.** Таким образом, около 20% населения Санкт-Петербурга являются носителями протективного аллеля CCR5delta32. Высокая частота встречаемости аллеля CCR5del32 делает обоснованным скрининг ВИЧ-инфицированных и группу риска по ВИЧ-инфекции.

Литература:

1. Liu R. Homozygous Defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. / R. Liu, W. A. Paxton, S. Choe et al. // *Cell*. 1996. – V. 86. – P. 367–377.
2. Боринская С.А. Снижение риска инфицирования ВИЧ и летальности у гетерозигот по делеционному аллелю CCR5del32 гена хемокинового рецептора: исследование случая фокусной нозокомиальной ВИЧ-инфекции и мета-анализ. / С.А. Боринская, Ж.М. Кожекбаева, А.В. Залесов и др. // *Acta naturae*. – 2012. – Т. 4, № 1. – С. 44–54.
3. Su Q. Distribution of CCR5- $\Delta$ 32, CCR2-64I, and SDF1-3'A in Guangxi Zhuang population / Q. Su, Zh. Mai, N. Zang et al // *J. Int. Assoc. Physicians AIDS Care (Chic)*. – 2010. – V. 9, № 3. – P. 145–149.
4. Karam W. A Frequency of the CCR5- $\Delta$ 32 chemokine receptor gene mutation in the Lebanese population. / W. Karam, R. Jurjus, N. Khoury et al // *East. Mediterr. Health J*. – 2004. – V. 10, № 4–5, P. 671–675.
5. Barmania F. Mutations in C-C chemokine receptor type 5 (CCR5) in South African individuals. / F. Barmania, M. Potgieter, M.S. Pepper // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2013. – V. 17. – P. e1148–e1153.
6. Al-Mahruqi S.H. Genetic diversity and prevalence of CCR2-CCR5 gene polymorphisms in the Omani population / S.H. Al-Mahruqi, F. Zadjali, A. Beja-Pereira et al // *Genetics and Molecular Biology*. – 2014. – V. 37, № 1. – P. 7–14.
7. Al-Jaberi S.A. Determination of the CCR5 $\Delta$ 32 frequency in Emiratis and Tunisians and the screening of the CCR5 gene for novel alleles in Emiratis / S.A. Al-Jaberi, S. Ben-Salema, M. Messedi et al // *Gene*. – 2013. – V. 259. – P. 113–118.
8. Martinson J.J. Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. / J.J. Martinson, NH Chapman, DC Rees et al // *Nature genetics*. – 1997. – V. 16, № 1. – P. 100–103.
9. Sharda S. Chemokine receptor 5 (CCR5) deletion polymorphism in North Indian patients with coronary artery disease. / S. Sharda, A. Gilmour, V. Harris et al // *International Journal of Cardiology*. – 2008. – V. 124. – P. 254–258.
10. Zhang C. Distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion in 11 Chinese populations. / C Zhang, S Fu, Y Xue et al // *Anthropol Anz*. – 2002. – V. 60, № 3. – P. 267–271.
11. Lucotte G. Frequencies of 32 base pair deletion of the ( $\Delta$ 32) allele of the CCR5 HIV-1 co-receptor gene in Caucasians: a comparative analysis. / G. Lucotte // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2002. – V. 1. – P. 201–205.
12. Stephens J.C. Dating the Origin of the CCR5-D32 AIDS-Resistance Allele by the Coalescence of Haplotypes / J.C. Stephens, D.E. Reich, D.B. Goldstein et al. // *Am. J. Hum. Genet*. – 1998. – V. 62. – P. 1507–1515.
13. Пирожков И.А. Возможности применения гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови с генотипом CCR5 delta 32/delta 32 для лечения ВИЧ-инфекции / И.А. Пирожков, А.Б. Смолянинов, А.В. Четкин и др. // *Вопросы гематологии онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 28–32.
14. Асеев М.В. Популяционные особенности частот мутаций гена хемокинового рецептора SKR-5, определяющего чувствительность к вирусу СПИДа / М.В. Асеев, А. Шауи, М. Дин и др. // *Генетика*. – 1997. – Т. 33, № 12. – С. 1724–1726.
15. Черкашина И.И. Полиморфизм гена хемокинового рецептора CCR5 у больных бронхиальной астмой и их родственников / И.И. Черкашина, С.Ю. Никулина, В.А. Шульман и др. // *Сибирский медицинский журнал*. – 2010. – Т. 25, № 1. – С. 45–50.

**О ПРОВЕДЕНИИ ИНФОРМАЦИОННО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ  
ПО ПРОФИЛАКТИКЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ТРУДОВЫХ КОЛЛЕКТИВАХ  
В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН**

**Патяшина М. А., Авдонина Л. Г., Борисова Л. О., Мокеева М. В.**

*Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан, Казань, Российская Федерация*

**Аннотация.** Статья посвящена организации профилактической работы по ВИЧ-инфекции в трудовых коллективах среди населения в Республике Татарстан с учетом результатов анализа заболеваемости ВИЧ-инфекцией среди работающего населения.

**ON THE CONDUCT OF INFORMATION AND EDUCATIONAL ACTIVITIES  
FOR THE PREVENTION OF HIV INFECTION IN LABOR COLLECTIVES  
IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN**

**Patyashina M. A., Avdonina L. G., Borisova L. O., Mokeeva M. V.**

*Office of Rospotrebnadzor in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation*

**Abstract.** The article is devoted to the organization of HIV prevention work among the working population in the Republic of Tatarstan, taking into account the results of an analysis of the incidence of HIV infection among the middle-aged population.

**Введение.** Республика Татарстан относится к территории со средним уровнем распространения ВИЧ-инфекции среди населения. Пораженность населения республики ВИЧ-инфекцией составляет 0,3%, что в 2 раза ниже среднефедеративного показателя (0,6%).

Характерной особенностью ВИЧ-инфекции в современных условиях является вовлечение в эпидемию небольших городов и населенных пунктов, в которых пораженность ВИЧ-инфекцией превышает республиканские показатели (г. Бугульма, г. Альметьевск, г. Лениногорск и др.).

В последние годы в Республике Татарстан половой путь передачи ВИЧ-инфекции занимает доминирующие позиции (2018 г. – 67,4%; 2017 г. – 65,9%), что приводит к активному вовлечению в эпидемиологический процесс лиц среднего возраста с высокой трудовой и мобильной активностью, влияющих на развитие экономики республики.

Среди вновь выявленных ВИЧ-инфицированных доля лиц 30–49 лет в 2018 году составила 71% (в 2017 г. – 70,5%).

Причиной роста количества ВИЧ-инфицированных среди лиц среднего возраста является отсутствие интереса этих слоев населения к проблеме ВИЧ, недооценка собственного риска инфицирования, рискованное сексуальное поведение, недостаточная информированность в сфере профилактики ВИЧ-инфекции.

**Материалы и методы.** Анализ эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции в Республике Татарстан в 2017–2018 гг.

**Результаты и обсуждение.** По оценке Всемирной Организации Здравоохранения, противодействию распространения ВИЧ-инфекции способствует просвещение населения с целью изменения отношения к собственному здоровью и здоровью близких.

В рамках реализации «Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 20.10.2016 г. № 2203-р, в республике ведется активная работа, направленная на повышение информированности работающего населения и доступности прохождения добровольного тестирования на ВИЧ на рабочем месте.

В целях максимального охвата работающего населения профилактическими мероприятиями по ВИЧ, на межведомственном уровне разработан План мероприятий («дорожная карта») по реализации программ по профилактике ВИЧ/СПИДа на рабочих

местах и недопущению дискриминации и стигматизации в трудовых коллективах лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией.

Республиканским соглашением между Федерацией профсоюзов Республики Татарстан, Координационным советом объединений работодателей Республики Татарстан, Кабинетом Министров Республики Татарстан о проведении социально-экономической политики и развитии социального партнерства на 2019–2020 г.г. предусмотрено проведение информационно-образовательных мероприятий по профилактике ВИЧ-инфекции в трудовых коллективах.

Управлением Роспотребнадзора по Республике Татарстан (далее – Управление) и ГАУЗ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (далее – СПИД Центр) при поддержке профсоюзов и работодателей проводится систематическая работа по профилактике ВИЧ-инфекции в трудовых коллективах с целью повышения уровня знаний населения о ВИЧ-инфекции, путях ее передачи и способах профилактики, недопустимости дискриминации ВИЧ-инфицированных и равных правах на труд лиц, живущих с ВИЧ, с проведением анонимного добровольного экспресс-тестирования на ВИЧ. В 2018 г. в трудовых коллективах республики было организовано 3283 информационно-образовательных мероприятий, охвачено 31338 рабочих и служащих. Прошли анкетирование 2477 чел., экспресс-тестирование на ВИЧ – 1 815 чел.

Специалистами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» регулярно освещаются вопросы профилактики ВИЧ-инфекции при проведении профессиональной гигиенической подготовки декретированного контингента. В 2018 году в рамках гигиенического обучения обучено более 150 000 человек.

Данные социологического скрининга, проведенного СПИД Центром, показали, что уровень информированности населения по вопросам ВИЧ-инфекции в возрасте 30–49 лет в 2018 году составил 87,1% (целевой показатель – 87%).

**Заключение.** Эффективное решение проблемы ВИЧ/СПИД лежит не столько в медицинской плоскости, сколько в социальной, поэтому необходимо проведение совместных мероприятий социальными партнерами (Управление, профсоюзы, работодатели, медицинские организации и др.).

Активная позиция всех заинтересованных министерств и ведомств обеспечивает высокий уровень профилактической работы, дает возможность максимально охватить население мероприятиями, направленными на противодействие распространению ВИЧ-инфекции, непосредственно на рабочих местах.

УДК: 004.94/614.446

## **ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАСПРОСТРАНЁННОСТИ ВИЧ/СПИД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИСКУССТВЕННЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ**

**Питерский М. В.**

*ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций»  
Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия*

**Аннотация.** В работе представлена математическая модель на основе искусственной нейронной сети для прогнозирования распространённости ВИЧ/СПИД. С использованием нейронной сети сформирован краткосрочный прогноз распространённости ВИЧ/СПИД в Уральском федеральном округе. Математическая модель продемонстрировала отсутствие предпосылок для снижения распространённости ВИЧ/СПИД на ближайшие 2 года (2019 и 2020 гг.) с показателями 1581,74 и 1677,63 на 100 тыс. населения соответственно.

# STUDY OF A POSSIBILITY OF FORECAST HIV/AIDS PREVALENCE USING ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS

Piterskiy M. V.

*FBIS «Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections» of Rospotrebnadzor,  
Yekaterinburg, Russia*

**Abstract.** This work presents a mathematical model based on an artificial neural network for predicting HIV/AIDS prevalence. Short-term prognosis of the HIV/AIDS prevalence in the Urals Federal District was made using the neural network. The mathematical model demonstrated absence of prerequisites for the HIV/AIDS prevalence decrease in the next two years (2019–2020), with the incidence rate estimates of 1581.74 and 1677.63 per 100,000, respectively.

**Введение.** Распространённость ВИЧ/СПИД среди населения многих стран мира неуклонно растёт. В связи с этим, Организацией Объединённых Наций в 2016 году определены целевые показатели новой стратегии по ее снижению, достижение которых способно остановить пандемию ВИЧ к 2030 году: 90% лиц (включая детей, подростков и взрослых), живущих с ВИЧ, знают о своем статусе; 90% лиц, живущих с ВИЧ и знающих о своем статусе, получают лечение; и 90% лиц, получающих лечение, добиваются уменьшения вирусной нагрузки [1]. Реализация этих целей потребует дополнительного бюджетного финансирования на антиретровирусные препараты, диагностические системы, профилактические программы с целью выявления ВИЧ-инфицированных лиц в группах риска. В этой связи, для планирования таких программ крайне важным является прогнозирование эпидемиологической ситуации по ВИЧ/СПИД на принципах доказательной медицины с использованием инновационных компьютерных технологий.

Известно, что основными методами прогнозирования временных рядов являются статистические методы. Однако, связанные с ними математические модели не всегда линейны, поэтому возникают проблемы при прогнозировании сложных явлений и процессов, которые можно решить, используя аппарат нейронных сетей [2].

Искусственная нейронная сеть с архитектурой многослойного персептрона свободна от жестких априорных предположений о свойствах прогнозируемых процессов и позволяет работать с исходными данными. Создаваемые математические модели дают возможность выявить неявные тенденции в динамике распространённости заболевания и имеют ряд преимуществ по сравнению с обычно используемыми методами анализа временных рядов: 1) менее требовательны к объему выборки; 2) позволяют обрабатывать противоречивые данные; 3) допускают введение информации, ранее накопленной и системно структурированной в конкретной предметной области. [3]. Именно эти уникальные свойства позволяют использовать нейронную сеть в качестве математической модели для изучения возможности прогнозирования распространённости ВИЧ/СПИД.

**Материалы и методы.** В работе использованы статистические данные о распространении ВИЧ-инфекции на территории Уральского федерального округа согласно данным официальной статистики Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом (ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора) за период с 2002 по 2017 год [4-14], а также отчётам региональных центров по профилактике и борьбе со СПИД на территории Уральского федерального округа за 2018 год.

За критерий, объективно характеризующий эпидемиологическую обстановку, был взят показатель распространённости ВИЧ/СПИД.

В качестве прогнозно-моделирующей системы использовали многослойный персептрон (искусственную нейронную сеть), созданную и обученную с использованием программного продукта STATISTICA (data analysis software system), version 10 (StatSoft Inc).

Построение нейросети включало несколько этапов: 1) построение графика временного ряда; 2) проведение одномерного (спектрального) анализа Фурье; 3) определение параметров многослойного персептрона; 4) обучение 50-ти нейросетей; 5) выбор нейросети по



наименьшему среднему абсолютной ошибки предсказанных данных; б) формирование проекции временного ряда с использованием выбранной нейросети на краткосрочный период.

Количество скрытых нейронов подбирали эмпирически от 1 до 17 возможных (по количеству анализируемых лет), функции активации для каждого варианта архитектуры сети подбирали путём последовательных экспериментов. Критерием отбора служила контрольная ошибка, рассчитанная по разности предсказанных значений со значениями временного ряда, не участвовавшими в обучении нейросети [15].

Для обучения сети был выбран алгоритм BFGS (Бройден-Флетчер-Гольдфарб-Шанно, или квази-ньютоновский метод), который является мощным алгоритмом обучения второго порядка с очень быстрой сходимостью сетей для обучения.

Исходная инициализация весов нейронов выполнялась с использованием нормального распределения со средним/минимальным равным 0 и дисперсией/максимальным равным 0,1. Это позволило нейронной сети в процессе обучения постепенно усложнять модель от более простой – линейной (малые значения весов) к более сложной – нелинейной (большие значения весов).

Для максимального уменьшения суммарной ошибки установили 2000 итераций (эпох) алгоритма.

**Результаты и обсуждение.** Изучаемый временной ряд состоял из 17 значений распространённости ВИЧ/СПИД в УрФО, охватывающих период с 2002 по 2018 год (таблица). Данный временной ряд позволяет сформировать математическую модель на основе нейросети, с верифицированной достоверностью, только на краткосрочный период: 1–2 года [16].

**Таблица.** Показатели распространённости ВИЧ/СПИД на территории Уральского федерального округа за 2002–2018 гг. (пок. на 100 000)

Год	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Распространённость ВИЧ/СПИД	324,36	405,47	457,54	504,50	539,06	582,73
Год	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Распространённость ВИЧ/СПИД	644,11	679,20	741,01	804,99	883,26	963,05
Год	2014	2015	2016	2017	2018	
Распространённость ВИЧ/СПИД	1058,06	1168,14	1273,70	1355,92	1434,11	

Согласно графику временного ряда распространённости ВИЧ/СПИД в УрФО в период 2002–2018 годов определили возрастающий тренд и отсутствие сезонной изменчивости.

Для более объективного исключения автокорреляций выполнили одномерный (спектральный) анализ Фурье и установили, что на периодограмме отсутствуют пики, характерные для сезонных изменений в данных.

Отсутствие сезонности в данных позволило установить максимально возможное количество входных нейронов многослойного персептрона. В соответствии с алгоритмами обработки критических ошибок в аналитическом модуле нейросети программы STATISTICA для имеющегося временного ряда максимально возможным является 5 входных нейронов. Шаг прогнозирования соответствовал минимально возможному 1 периоду (одному выходному нейрону).

Таким образом, оптимальная архитектура многослойного персептрона включала: 5 нейронов на входе, один выходной нейрон, передающий уровень активации на выход в неизменном виде и 5 скрытых нейронов, имеющих функцию активации гиперболического тангенса.

Подвыборки из значений временного ряда распространённости ВИЧ/СПИД на территории УрФО в период 2002 по 2016 года формировались для обучения и контроля нейросетей случайным образом в заданном соотношении: 85% на обучающую выборку (12 значений) и 15% (3 значения) на контрольную выборку. Данные за период 2017–2018 годов использовали для определения ошибки прогнозирования.

С использованием всех 50 обученных нейросетей были построены 50 рядов прогнозов с 2007 по 2016 год и определено значение средней арифметической для абсолютных ошибок каждой сети. Нейросеть под номером 6, показавшая наиболее точный прогноз распространённости ВИЧ/СПИД в УрФО в 2007–2016 году, имела среднюю абсолютную ошибку 0,322 случая на 100 тыс. населения.

Сформировав проекцию с использованием данной сети на 2017–2018 год получили относительную ошибку прогноза 2% и 3,4% соответственно.

Таким образом, построенная искусственная нейронная сеть с вероятностью 95% позволила рассчитать прогноз распространённости ВИЧ/СПИД в УрФО на 2 ближайших периода (2 года).

Краткосрочный прогноз распространённости ВИЧ/СПИД в УрФО, сформированный искусственной нейросетью на 2019 год составил 1581,74 на 100 тыс. населения, на 2020 год – 1677,63. Вероятность долгосрочного прогноза оказалась ниже 95%.

**Заключение.** Выполнение прогнозирования с использованием искусственных нейронных сетей является процессом автоматизированным. Основную сложность представляет подбор адекватных настроек многослойного персептрона, позволяющих с одной стороны получить достаточный уровень достоверности прогноза, с другой стороны избежать переобучения нейросети, при котором модель не сможет правильно работать с новыми значениями временного ряда. Таким образом, точное описание настроек многослойного персептрона для конкретной вычислительной платформы можно считать готовой математической моделью.

Прогноз распространённости ВИЧ/СПИД в УрФО показал, что при действующей системе профилактики ВИЧ-инфекции и борьбы со СПИД в УрФО сохраняется рост относительного числа лиц, живущих с ВИЧ/СПИД.

Данные данного краткосрочного прогноза могут быть использованы для принятия управленческих решений по организации противоэпидемических мероприятий, планированию дополнительных финансовых средств на закупку лекарственных препаратов и диагностических наборов.

Долгосрочный прогноз распространённости ВИЧ/СПИД с использованием нейронной сети с достоверностью выше 95% станет возможным при дополнительном объеме накопленных данных.

#### Литература:

1. Политическая декларация по ВИЧ и СПИДу: ускоренными темпами к активизации борьбы с ВИЧ и прекращению эпидемии СПИДа к 2030 году [Электронный ресурс]: принята резолюцией Генеральной Ассамблеей ООН от 8 июня 2016 года A/RES/70/266. С 6. URL: <https://www.un.org/ru/documents/ods.asp?m=A/RES/70/266> (дата обращения 11.04.2019 г.);
2. Костина Л.Н., Гареева Г.А. Нейронные сети в задачах прогнозирования временных рядов // Инновационная наука. – 2015. – № 6. – С. 71.
3. Котин В.В. Прогнозирование заболеваемости: динамические модели и временные ряды // Биотехносфера. – 2014. – № 3 (33). – С. 46–47.
4. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2008. – № 31. – С. 10–11, 15–16.
5. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2009. – № 33. – С. 10–11, 15–16.
6. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2010. – № 34. – С. 33, 38, 42.
7. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2011. – № 35. – С. 37, 42, 46.
8. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2012. – № 36. – С. 33, 38, 42.
9. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2013. – № 38. – С. 33, 38, 42.

10. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2014. – № 39. – С. 33, 38, 42.
11. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2015. – № 40. – С. 33, 37, 42.
12. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2016. – № 41. – С. 36, 41, 45.
13. Покровский В.В. и др. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень // М.: ФНМЦ ПБ СПИД. – 2018. – № 43. – С. 36, 41, 45.
14. Статистика Федерального научно-методического Центра по профилактике и борьбе со СПИДом за период 2002–2006 годов [Электронный ресурс] // Официальный сайт Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом. [сайт]. [2019] URL: <http://www.hivrussia.ru/stat/index.shtml> (дата обращения: 31.03.2019).
15. Боровиков В.П. Нейронные сети. Statistica Neural Networks. Методология и технологии современного анализа данных // М.: Горячая линия – Телеком. – 2008. С. 82–87.
16. Кондратьев М.А. Методы прогнозирования и модели распространения заболеваний // Компьютерные исследования и моделирование. – 2013. – Т. 5. – № 5. – С. 869–870.

УДК: 616-036.17

### **МОНИТОРИНГ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ НА ЮГЕ РОССИИ**

**Твердохлебова<sup>1</sup> Т. И., Матузкова<sup>1</sup> А. Н., Пшеничная<sup>2</sup> Н. Ю., Суладзе<sup>1</sup> А. Г., Журавлев<sup>3</sup> А. С.**  
*<sup>1</sup>ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

*<sup>2</sup>ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии»  
Роспотребнадзора, г. Москва, Россия*

*<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова» МЗ РФ, Москва, Россия*

**Аннотация.** Авторами проведен анализ эффективности противодействия эпидемии ВИЧ/СПИДа на Юге России и мероприятий по минимизации ее отрицательных социально-экономических последствий, повышения качества и доступности медицинской помощи ВИЧ-инфицированным пациентам. Согласно полученным данным, на Юге России достигнуты высокие результаты по обеспечению больных ВИЧ-инфекцией диспансерным наблюдением, иммунологическим и вирусологическим мониторингом и антиретровирусной терапией (АРВТ). Несмотря на положительную динамику количества больных, получающих АРВТ, существующая система лечения больных ВИЧ-инфекцией пока не может обеспечить эпидемиологическую эффективность АРВТ.

### **MONITORING THE EFFICIENCY OF DISPENSARY OBSERVATION AND TREATMENT OF PATIENTS WITH HIV INFECTION IN THE SOUTH OF RUSSIA** **Tverdokhlebova<sup>1</sup> T. I., Matuzkova<sup>1</sup> A. N., Pshenichnaya<sup>2</sup> N. Yu., Suladze<sup>1</sup> A. G., Zhuravlev<sup>3</sup> A. S.**

*<sup>1</sup>Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

*<sup>2</sup>Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор, Moscow, Russia*

*<sup>3</sup>First Moscow State Medical University. I.M. Sechenov Ministry of Health of the Russian  
Federation, Moscow, Russia*

**Abstract.** The authors analyzed the effectiveness of the response to the HIV / AIDS epidemic in southern Russia and measures to minimize its negative socio-economic impact, accessibility and quality of medical care for HIV-infected patients. According to the data obtained in the south of Russia, high results were achieved in providing HIV patients with dispensary observation, immunological and virological monitoring and antiretroviral therapy (ART). However, the current system for treating patients with HIV currently does not ensure the epidemiological effectiveness of ART.

**Введение.** В последние годы на государственном уровне были приняты меры по противодействию распространения эпидемии ВИЧ/СПИДа: осуществлялось широкое тестирование населения на ВИЧ-инфекцию; расширен доступ больных ВИЧ-инфекцией к диспансерному наблюдению и лечению; проводилась эффективная профилактика перинатальной передачи ВИЧ; разработаны новые методические документы, основанные на последних научных достижениях, позволившие существенным образом усовершенствовать действующую в стране систему эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией [1, 2].

В качестве важнейшего компонента системы мер по противодействию эпидемии должен стать мониторинг проводимых мероприятий с целью оценки их качества, объема и эффективности. При этом необходимым условием для адекватной оценки постоянно изменяющейся ситуации, для ее прогнозирования, а также для создания максимально адаптированной системы мер противодействия эпидемии является учет регионального фактора. Решение рассматриваемых задач требует анализа информации, содержащейся в утвержденных отчетных формах статистического наблюдения.

**Материалы и методы.** Были использованы материалы, полученные Южным окружным центром по профилактике и борьбе со СПИДом из 15 территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИДом Юга России за период с 2013 по 2018 гг.: данные федеральных отчетных форм статистического наблюдения: по форме № 61 «Сведения о контингентах больных болезнью, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)», по форме ежемесячного наблюдения за реализацией приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ». Обобщение полученных данных проводилось общепринятыми методами статистической обработки с помощью программного обеспечения Microsoft Office.

**Результаты и их обсуждение.** Важным направлением системы противодействия эпидемии ВИЧ/СПИДа является увеличение доступности качественной медицинской помощи ВИЧ-инфицированным пациентам, прежде всего – антиретровирусной терапии (АРВТ). ВИЧ-инфекция остается неизлечимым заболеванием, однако применение АРВТ позволяет значительно уменьшить ее негативные медицинские и социально-экономические последствия: остановить прогрессирование болезни, добиться ее контролируемого течения, повысить продолжительность жизни больных ВИЧ-инфекцией и улучшить ее качество, увеличить число рождений здоровых детей. В России к 2019 году 2,1 раза по сравнению с 2012 годом увеличился охват больных ВИЧ-инфекцией АРВТ. Расширение охвата АРВТ является дополнительным фактором снижения активности эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, благодаря снижению концентрации вируса в крови и уменьшению вероятности передачи ВИЧ. Оптимальные результаты АРВТ достигаются при незамедлительном начале лечения, как только инфекция диагностирована, независимо от показателей количества CD4-клеток [3].

Осуществление полноценной третичной профилактики и проведение эффективного лечения выявленных больных невозможно без систематического качественного диспансерного наблюдения, регламентированного соответствующими стандартами.

При анализе данных отчетных форм Роспотребнадзора «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ» установлено, что в СКФО в 2018 г. диспансерным наблюдением были охвачены более 95% подлежащих пациентов (96,3%), а в ЮФО – 97,8%.

Несмотря на высокий охват диспансерным наблюдением подлежащих больных, необходимо обратить внимание на качество его проведения. В 2018 году охват больных иммунологическим и вирусологическим мониторингом в ЮФО составил 95,7% и 94,6%, соответственно, в СКФО – 92,9% и 91,0%, соответственно. Количество пациентов с уровнем CD4 менее 350 кл/мкл среди прошедших обследование в ЮФО составил 24,1% (11 865 чел.), в СКФО – 32,5% (3071 чел.). Удельный вес пациентов, состоящих на диспансерном учете с подавленной вирусной нагрузкой (РНК ВИЧ менее 500 копий/мл), составлял в 51,1% в ЮФО и 35,1% – в СКФО.

Как показывает мировой опыт, одним из наиболее эффективных медицинских мероприятий по противодействию эпидемии ВИЧ/СПИД, является широкое внедрение АРВТ. Число больных ВИЧ-инфекцией, вовлеченных в программы АРВТ на Юге России, за последние 3 года увеличилось в 2 раза, и к началу 2018 года составляло 35 842 чел. – 59,5% от общего числа пациентов, состоящих на диспансерном учете. В 2018 году на Юге России впервые начали прием АРВТ 8742 пациентов (7015 чел. в ЮФО и 1727 чел в СКФО), из них по неотложным показаниям (CD4 менее 350 кл/мкл, наличие вторичных заболеваний) – 2217 больных ВИЧ-инфекцией (1948 чел. в ЮФО и 269 чел в СКФО).

Рост применения АРВТ, появление новых препаратов и схем тесно связаны с проблемой резистентности ВИЧ. Для пациентов, получающих АРВТ, в зависимости от длительности приема препаратов уровень распространенности резистентности может составлять от 5–18,8% в течение первых 12 месяцев терапии до существенно более высоких показателей в последующие годы. Среди пациентов с вирусологической неэффективностью терапии через 12 месяцев после ее начала 60–81% в разных регионах мира имеют резистентность ВИЧ к АРВ препаратам, в основном к НИОТ и ННИОТ, у остальных пациентов основной причиной неэффективности терапии является низкая приверженность лечению. Несмотря на широкое внедрение АРВТ и расширение спектра используемых АРВП, у значительной части больных ВИЧ-инфекцией не достигается желаемого эффекта лечения. Отрицательным фактором, не позволяющим достичь полноценного эффекта от внедрения АРВТ, является прерывание приема АРВП и отмена лечения. В 2018 году на Юге России 8,4% пациентов, получавших АРВТ, прервали лечение: в ЮФО – 8,9% (2656 человек), в СКФО – 6,0% (368 чел.). В 2018 году в ЮФО зарегистрировано 657 случаев смерти больных ВИЧ-инфекцией, прервавших антиретровирусную терапию, в СКФО – 231.

Важным показателем эффективности противодействия эпидемии ВИЧ/СПИДа и мероприятий по минимизации ее отрицательных социально-экономических последствий, является уровень смертности от ВИЧ-инфекции. По данным формы мониторинга Роспотребнадзора состоянию на 31 декабря 2018 г. в ЮФО умерло 23956 больных ВИЧ-инфекцией, а в СКФО – 4374 человек. Общее число умерших больных ВИЧ-инфекцией в 2018 г. на Юге России составило 2762 человек. Показатель смертности в 2018 году составил, соответственно, в ЮФО – 13,5, в СКФО – 5,3 на 100 тыс. населения. При этом среди всех летальных исходов в 2018 г. менее половины случаев приходилось на умерших вследствие ВИЧ-инфекции: в ЮФО 36,6%, в СКФО – 39,8%.

**Заключение.** На Юге России достигнуты высокие результаты по обеспечению больных ВИЧ-инфекцией диспансерным наблюдением, иммунологическим и вирусологическим мониторингом и АРВТ. Несмотря на положительную динамику количества больных, получающих АРВТ, существующая система лечения больных ВИЧ-инфекцией пока не может обеспечить эпидемиологическую эффективность АРВТ. Это связано с неполным охватом лечением всех людей, живущих с ВИЧ, в том числе из-за недостатков по своевременному выявлению больных, а также с проблемами в формировании приверженности лечению и диспансерному наблюдению.

#### Литература:

1. Рындич А.А., Моргачева Я.В., Суладзе А.Г., Твердохлебова Т.И. Особенности развития эпидемиологического процесса ВИЧ-инфекции на Юге России // Инфекция и иммунитет. – 2017. – № 5. С. 696.
2. Рындич А.А., Матузкова А.Н., Суладзе А.Г., Сухова А.Г., Твердохлебова Т.И., Буравлев А.Ю. Характеристика эпидемической ситуации и оценка доступности различных видов медицинской помощи больным ВИЧ-инфекцией на Юге России за период 2016–2017 гг. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2018. – № 35 (35). – С. 22–26.
3. World Health Organization. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV, ISBN 978 92 4 150956 5 (NLM classification: WC 503.2); september 2015 // URL: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf) (дата обращения 09.04.2019).

**ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ НА ЮГЕ РОССИИ:  
МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

**Твердохлебова Т. И., Суладзе А. Г., Рындич А. А., Сухова А. Г., Колпаков Д. С.**  
*ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»  
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия*

**Аннотация.** В статье освещаются основные показатели проявления эпидемического процесса на Юге России (пораженность, заболеваемость, факторы передачи, половозрастная структура, охват тестированием) за период с 2013 г. по 2018 г., свидетельствующие о прогрессировании эпидемии ВИЧ-инфекции. Приведены результаты изучения структуры штаммов ВИЧ: преобладали субтип А1 и В ВИЧ-1, с 2010 года начала регистрироваться рекомбинантная форма CRF63\_02A1.

**HIV INFECTION IN THE SOUTH OF RUSSIA: MOLECULAR-  
EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS**

**Tverdokhlebova T. I., Suladze A. G., Ryndich A. A., Sukhova A. G., Kolpakov D. S.**  
*Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор,  
Rostov-on-Don, Russia*

**Abstract.** The article analyzes the main indicators of the manifestation of the epidemic process in southern Russia (prevalence, incidence, transmission factors, gender and age structure, test coverage) for the period from 2013 to 2018. The progression of the HIV epidemic is recorded. The results of studying the structure of HIV strains are presented: subtypes A1 and B prevailed in HIV-1, and in 2010, the recombinant form CRF63\_02A1 began to be recorded.

**Введение.** Одной из основных проблем глобального общественного здравоохранения во всем мире остается ВИЧ-инфекция. От этой болезни за всю историю наблюдения умерло по разным причинам уже более 35 миллионов человек, в 2017 году – около 1,0 миллиона [1]. По данным Федерального научно-методического центра, на 31 декабря 2018 г. кумулятивное количество зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции среди граждан Российской Федерации составило 1 326 239 человек. К концу 2018 г. в стране проживало 1 007 369 россиян с диагнозом ВИЧ-инфекция, исключая 318 870 умерших больных [2].

**Материалы и методы.** Были использованы материалы, полученные Южным окружным центром по профилактике и борьбе со СПИДом из 15 территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИДом Юга России за период с 2013 по 2018 гг.: данные федеральных отчетных форм статистического наблюдения. Для секвенирования и филогенетического анализа были использованы образцы крови, полученные от больных, проживающих в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах России. Обобщение полученных данных проводилось общепринятыми методами статистической обработки.

**Результаты и их обсуждение.** Южный (ЮФО) и Северо-Кавказский (СКФО) федеральные округа на протяжении всего периода регистрации случаев ВИЧ-инфекции относились к «спокойным» регионам относительно среднероссийских показателей с устойчивой тенденцией прогрессирования эпидемического процесса. Республика Крым и город Севастополь вошли в состав ЮФО с более высокими показателями пораженности и заболеваемости, чем в самых «неблагополучных» по ВИЧ-инфекции территориях Юга РФ. Однако, тенденция развития эпидемического процесса сохранилась, но показатели, его характеризующие, несколько увеличились.

За весь период наблюдения было зарегистрировано 105 285 случаев ВИЧ-инфекции. Умерло 27 788 ВИЧ-инфицированных. На диспансерном наблюдении по перинатальному контакту находилось 13 888 детей, из них 958 был поставлен диагноз ВИЧ-инфекция [3].

На 31 декабря 2018 года показатель пораженности ВИЧ-инфекцией составлял 249,8 на 100 тыс. населения (проживало 65 749 человек). При этом среднероссийский показатель был выше в 2,7 раза.

Наименее пораженными субъектами Юга РФ являются Республики Дагестан, Калмыкия, Кабардино-Балкария и Карачаево-Черкессия. Наиболее пораженными – Республика Крым, город Севастополь и Волгоградская область. Кроме того, пораженность ВИЧ-инфекцией в некоторых муниципальных образованиях намного выше, чем в целом по стране. Так, в Республике Крым, в городе Волжский, в Камышинском и Среднеахтубинском районах Волгоградской области, показатели пораженности выше среднероссийских почти в 1,5 раза.

В течение анализируемого периода количество новых случаев ежегодно увеличивалось, при этом показатели заболеваемости были ниже среднероссийских в 2–3 раза, а темп их прироста незначительно снизился.

Наиболее высокие показатели заболеваемости регистрировались у лиц репродуктивного возраста, при этом чаще всего заболевали мужчины в возрасте 30–44 лет.

Наблюдается неравномерный рост заболеваемости на территории округов. Так, в 2018 году на 9 территориях Юга наблюдался рост заболеваемости, на 6 – снижение. Рост показателей отмечен на территории Республики Кабардино-Балкария почти в 1,5 раза, в Северной Осетии – на 38,9%. В то же время, в Ингушетии этот показатель снизился на 30,8%.

Ведущими факторами риска заражения ВИЧ на протяжении последних лет оставались гетеросексуальный путь и внутривенное введение наркотиков. В 2018 году по сравнению с 2017 годом число новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией при употреблении инъекционных наркотиков снизилось на 14,6%, а число людей, заразившихся ВИЧ при «незащищенных» гетеросексуальных контактах, выросло на 10,7%, что свидетельствует об активизации передачи ВИЧ-инфекции гетеросексуальным путем.

Кроме того, в 2018 году ВИЧ-инфекция была диагностирована у 181 мужчины, имеющих секс с мужчинами, что на 7,1% выше показателя 2017 года.

В 2018 году на Юге РФ диагноз ВИЧ-инфекция был установлен 48 детям, которые заразились ВИЧ от матерей во время беременности и родов, и 22 детям, заразившимся при грудном вскармливании.

Поскольку в сдерживании эпидемии ВИЧ-инфекции доказана эффективность предложенного ЮНЭЙДС принципа «тестируй и лечи», регулярно проводится анализ скрининга на ВИЧ населения Юга России.

Показано, что на протяжении последних лет ежегодно увеличивается охват тестированием. В 2018 году он достиг максимальных значений и по сравнению с 2017 вырос на 14,4%, составив 23,1 теста на 100 человек. Низкий охват тестированием был отмечен в Дагестане и Карачаево-Черкесской Республике. Высокие показатели охвата тестированием отмечались в Северной Осетии, в Ингушетии, в Волгоградской и Астраханской областях [4].

Наряду с увеличением охвата населения Юга России тестированием на ВИЧ повысилась и выявляемость ВИЧ у различных контингентов населения. Так, многолетняя динамика выявляемости ВИЧ у беременных имеет тенденцию к росту и за последние 12 лет увеличилась почти в 2 раза.

В группах высокого риска инфицирования ВИЧ, таких как: больные наркоманий, гомо- и бисексуалисты, и лица, находящиеся в местах лишения свободы, выявляемость ВИЧ также выросла за последние годы. В 2015 году среди гомо- и бисексуалистов отмечен пик выявляемости ВИЧ-инфекции. Это обусловлено проведенными на отдельных территориях Юга России дозорными сероэпидемиологическими и биоповеденческими исследованиями, которые рекомендованы ЮНЭЙДС с целью определения стадии эпидемии ВИЧ-инфекции.

Изучение молекулярно-биологических характеристик штаммов ВИЧ-1, циркулирующих на территории ЮФО и СКФО, показало, что на фоне преобладания ВИЧ-1 субтипа A1 (вариант IDU-A), характерного для России в целом, а также второго по частоте встречаемости ВИЧ-1 субтипа B, в последние годы на территории Юга выявляется все

большее число заносов других субтипов и рекомбинантных форм вируса. С 2010 года в нашем регионе стала регистрироваться рекомбинантная форма CRF63\_02A1. Субтип В, наиболее часто встречающийся в группе мужчин, имеющих секс с мужчинами, вероятнее всего, был завезен в наш регион из Украины, США и стран Западной Европы.

По состоянию на конец 2018 года доминирующим субтипом ВИЧ-1 в ЮФО оставался субтип А1. Кроме того, в прошлом году был обнаружен субтип G у пациента из Архангельской области. Также было зарегистрировано 9 новых случаев инфицирования субтипом В в Краснодарском крае, Республике Дагестан и Ростовской области, а у 3-х образцов вируса ВИЧ-1 от пациентов из Краснодарского и Ставропольского краев и Республики Дагестан была определена рекомбинантная форма CRF63\_02A1.

Характеристика биологических особенностей возбудителя ВИЧ использовалась при проведении эпидемиологических исследований случаев заражения, в том числе, в очагах ВИЧ-инфекции.

**Заключение.** На Юге России продолжается развитие эпидпроцесса ВИЧ-инфекции, растут показатели заболеваемости и пораженности, оставаясь при этом ниже, чем в целом по стране. Уровень пораженности в некоторых муниципальных образованиях ЮФО превышает среднероссийские показатели. Основными факторами риска заражения ВИЧ остаются парентеральное употребление наркотиков и «незащищенные» сексуальные контакты. Охват обследованием на ВИЧ-инфекцию ежегодно увеличивается и в 2018 составлял 23,1 теста на 100 человек. По состоянию на конец 2018 года доминирующим субтипом ВИЧ-1 в ЮФО оставался субтип А1.

#### Литература:

1. Информационный бюллетень ЮНЭЙДС о глобальной эпидемии СПИДа, июль 2018. // URL:<http://www.unaids.org/ru/resources/fact-sheet>. Дата обращения 15.02.2019.
2. Справка ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ФНМЦ по профилактике и борьбе со СПИДом, эпидемиологический отдел «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2018 г.».
3. Матузкова А.Н. и др. Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции и профилактики перинатальной трансмиссии ВИЧ на Юге России // Журнал инфектологии. – 2018. – Т. 10. – № 3. – С. 91–96.
4. Рындич А.А. и др. Оценка организации тестирования на ВИЧ населения Юга России в 2000–2016 годах / А.А. Рындич, Я.В. Моргачева, А.Г. Суладзе, Т.И. Твердохлебова, Д.В. Воронцов, Э.А. Яговкин // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2017. – Т. 9, № 4. – С. 86–92.

УДК: 616-036

### **ОБЗОР ЭПИДСИТУАЦИИ ПО ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В СИБИРСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ В 2018 ГОДУ**

**Тюменцев А. Т., Левахина Л. И., Довгополюк Е. С., Сергеева И. В.**

*ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, Омск, Россия*

**Аннотация.** В статье представлен эпидемиологический анализ параметров эпидемии и основных проявлений эпидемического процесса ВИЧ-инфекции на 12 административных территориях Сибирского федерального округа (СФО) по состоянию на начало 2019 года. Используются данные форм федерального статистического наблюдения за ВИЧ-инфекцией. Эпидемия ВИЧ-инфекции в СФО остается напряженной в 2018 году. Показатель заболеваемости в 2018 г. составил 120,4 на 100 тысяч населения. Наиболее пораженными ВИЧ-инфекцией являлись территории Иркутской, Кемеровской, Новосибирской областей, где наблюдалась высокая заболеваемость и распространенность ВИЧ-инфекции. Краткосрочный прогноз заболеваемости населения СФО ВИЧ-инфекцией остается неблагоприятным, сохраняя высокий уровень заболеваемости.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, заболеваемость, распространенность, выявляемость.



## A REVIEW OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION ON HIV INFECTION IN THE SIBERIAN FEDERAL DISTRICT IN 2018

Tyumenzev A. T., Levahina L. I., Dovgopolyuk E. S., Sergeeva I. V.

*Omsk Reserch Institute of natural local infections, Omsk, Russia*

**Abstract.** The article presents an epidemiological analysis of the parameters of the epidemic and the main manifestations of the epidemic process of HIV infection in the 12 administrative territories of the Siberian Federal district (SFO) as of the beginning of 2019. The data of forms of Federal statistical monitoring of HIV infection were used. The HIV epidemic in SFD remains tense in 2018. Morbidity rate in 2018 amounted to 120.4 per 100 thousand population. The most affected by HIV infection were the territories of Irkutsk, Kemerovo, Novosibirsk regions, where there was a high incidence and prevalence of HIV infection. The short-term prognosis of HIV infection in the population of SFD remains unfavorable, while maintaining a high level of morbidity.

**Key words:** HIV infection, incidence, prevalence, detection.

**Введение.** ВИЧ-инфекция является социально значимым заболеванием. Государственная стратегия противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации (РФ) на период до 2020 года определила дальнейшую перспективу государственной политики РФ по предупреждению распространения хронического заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека. В контексте всемирной пандемии ВИЧ-инфекции каждая страна нуждается в информации о национальных особенностях эпидемии. России, как и другим странам, необходимы данные о заболеваемости и распространенности ВИЧ-инфекции в уязвимых группах и среди общей популяции, а также информация об изменении данных показателей для определения тенденций развития эпидемии [1].

Проблема распространения ВИЧ-инфекции более 25 лет остается актуальной для мирового сообщества, масштабы распространения вируса иммунодефицита человека приобрели глобальный характер и представляют реальную угрозу социально-экономическому развитию большинства стран мира [2].

В России эпидемия ВИЧ-инфекции распространяется неравномерно. В каждом из федеральных округов в связи с географическим положением и социально-экономическими условиями входящих в его состав территорий, распространение вируса имеет свои закономерности [3].

**Цель исследования.** Изучение эпидемических проявлений ВИЧ-инфекции на территории Сибирского федерального округа.

**Материалы и методы.** В основу исследования положено наблюдение за эпидемическим процессом ВИЧ-инфекции на территории Сибирского федерального округа. Материалом для исследования послужили формы федерального статистического наблюдения, № 4 «Сведения о результатах исследования крови на антитела к ВИЧ» территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, формы ежемесячного наблюдения «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ» субъектов СФО, данные экспресс-информаций «Об эпидемической ситуации по ВИЧ-инфекции», данные информационных бюллетеней Сибирского федерального окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД.

**Результаты и обсуждение.** Сибирским федеральным окружным центром по профилактике и борьбе со СПИД проведен анализ эпидемической ситуации по ВИЧ-инфекции за 2018 г. При составлении данной справки использовались данные Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии, территориальных управлений Роспотребнадзора и данные региональных центров по профилактике и борьбе со СПИД.

Общее число россиян, инфицированных ВИЧ, зарегистрированных в Российской Федерации и живущих на 31 декабря 2018 г., достигло 1 007 369 человек. Умерло по разным причинам 318 870 ВИЧ-инфицированных. С 2005 по 2017 годы в стране регистрировался ежегодный рост количества новых выявленных случаев инфицирования ВИЧ. В 2011–2015 годах ежегодный прирост количества новых случаев ВИЧ-инфекции составлял в среднем 10%, в 2016 г. – 4,1%, в 2017 г. – 2,2% по сравнению с предыдущим годом. Случаи ВИЧ-инфекции зарегистрированы во всех субъектах Российской Федерации. ВИЧ-инфекция в последние годы в Российской Федерации диагностируется в более старших возрастных группах. Если в 2001 г. 87% ВИЧ-инфицированных получали диагноз в возрасте 15–29 лет, в 2018 г. – 82% в возрасте старше 30 лет. Преимущественно в 2018 г. ВИЧ-инфекция диагностируется в возрасте 30–50 лет (71% больных). Наибольший уровень пораженности населения наблюдается в возрастной группе 30–44 года. Среди мужчин в возрасте 35–39 лет 3,3% жили с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции. Среди населения в возрасте 15–49 лет 1,2% были инфицированы ВИЧ. Ведущей причиной летальных исходов среди инфицированных ВИЧ остается туберкулез [4].

В Сибирском федеральном округе (СФО) в 2018 году по данным 12 региональных центров по профилактике и борьбе со СПИД зарегистрировано 23 285 новых случаев ВИЧ-инфекции. Показатель заболеваемости населения СФО составил 120,4 против 126,3 на 100 тысяч населения в 2017 г. Среднемесячное число выявленных ВИЧ-положительных лиц составило 1 940 человек вместо 2 034 – в 2017 г. Общее число зарегистрированных ВИЧ-инфицированных на 01.01.2019 г. составило 279 760 человек, что соответствует 21,4% от всех выявленных лиц с ВИЧ в Российской Федерации. Кумулятивный показатель пораженности ВИЧ-инфекцией в СФО достиг 1 446,9 на 100 тысяч населения [4].

Как и в предыдущие годы регистрации, заболеваемость ВИЧ-инфекцией в 2018 г. характеризуется неравномерным распределением по территориям СФО. Территориальные показатели заболеваемости ВИЧ-инфекцией значительно варьируют и составляют от 11,0 на 100 тысяч населения в Республике Тыва до 194,3 в Кемеровской области. Как и в 2017 году лидирующие позиции занимают 3 территории: Кемеровская (194,3), Иркутская (141,7) и Новосибирская области (135,6). В 2017 году Красноярский край был на 5 ранжированном месте, в 2018 году поднялся на 4 место. Рост показателя отмечен в Республике Тыва с 6,5 на 100 тысяч населения в 2017 году до 11,0 в 2018 г. и Забайкальском крае с 38,6 на 100 тысяч населения в 2017 г. до 46,0 в 2018 г.

Основной причиной заражения ВИЧ-инфекцией в СФО в 2018 году являются незащищенные половые контакты среди различных контингентов населения. При установлении путей передачи ВИЧ-инфекции в СФО в 2018 году преобладающим путем передачи является половой путь (45,9%). Однако, отмечено снижение доли полового пути, по сравнению с 2017 годом (60,3%), из-за высокой доли неустановленного пути передачи (30,3%). Парентеральный путь в 2018 году составляет 22,6%.

В 2018 году в СФО среди ВИЧ-инфицированных, по-прежнему, как и в 2017 году преобладают мужчины (59,2%). Женщин было зарегистрировано 9 496 инфицированных ВИЧ (40,8%).

При анализе возрастной структуры ВИЧ-инфицированных в 2018 г. установлено следующее: первое место возрастная структура 30–39 лет – 44,8%, второе место – 40–49 лет (23,7%), третье место – 20–29 лет (19,0%) и возрастная категория «старше 50 лет» составляет 9,9%.

Согласно формы № 4 охват всего населения обследованием на ВИЧ в СФО увеличился с 24,8% в 2017 г. до 27,4% в 2018 г. Показатель выявляемости ВИЧ-инфекции в среднем по СФО – остался на прежнем уровне и составил 0,5%, по территориям варьирует от 0,04 в Республике Тыва до 0,8% в Кемеровской области. В структуре всего обследованного населения округа наибольший объем приходится на код 118 («прочие») – 34,2% (в 2017 г. – 39,6%).

Охват обследованием на антитела к ВИЧ групп риска (сумма кодов 102+103+104+112) от общего числа обследованных в СФО составил 8,5% (в 2017 г. – 7,5%). Высокий удельный вес подтвержденных ИФА в реакции ИБ отмечен в следующих группах: больные ИППП – 55,5%; больные наркоманией – 46,5%; обследованные по клиническим показаниям – 39,6%; лица, находящиеся в местах лишения свободы – 39,4%; беременные – 30,8%, обследованные при эпидемиологическом расследовании – 30,6%. Выявляемость ВИЧ-инфекции в группах риска в СФО – 1,4% (в 2017 г. – 1,8%).

По данным отчетной формы ежемесячного наблюдения по реализации приоритетного национального проекта «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ» план обследований российских граждан на антитела к ВИЧ в 2018 году выполнен на 111,0%. Охват медицинским освидетельствованием граждан РФ среди населения СФО на ВИЧ-инфекцию составил 26,4%, что на 2,7% больше чем 2017 г.

Количество ВИЧ-инфицированных российских граждан в СФО, состоящих на диспансерном учете, составило 161 576 человек, из них 21 344 (13,2%) взяты на учет впервые. Дети и подростки от 0 до 17 лет составили 1,7% (2 728 человек). Доля ВИЧ-инфицированных российских граждан, состоящих на диспансерном наблюдении от числа подлежащих диспансерному наблюдению составила 81,3% (2017 г. – 88,2%). Наиболее низкие показатели охвата диспансерным наблюдением ВИЧ-инфицированных пациентов отмечены в Новосибирской области (68,7%), Иркутской области (75,6%) и Красноярском крае (78,9%).

Охват обследованием диспансерных пациентов снизился на 3,6% по сравнению с прошлым годом и составил 88,8%. Снижение произошло за счет следующих территорий: Алтайский край, Р. Бурятия, Иркутская и Томская области. Среди пациентов, прошедших обследование, показатель охвата по определению иммунного статуса (CD 4) в 2018 году составил 93,4% (+2,1%), а вирусной нагрузки 90,9% (+2,5%). Определение иммунного статуса (CD 4) и вирусной нагрузки (ВН) в разрезе территорий варьирует от показателей ниже среднего по СФО в Томской, Новосибирской и Кемеровской областях, в Алтайском и Красноярском краях и до 100% в Республиках Алтай, Тыва, Хакасия, Алтайском крае (по CD 4).

Из числа пациентов, прошедших обследование по определению иммунного статуса (CD 4) в 2018 г. доля лиц с уровнем CD4 менее 350 кл/мкл составила 38,3%, при этом в Иркутской области, Алтайском крае, Томской и Омской областях данный показатель выше средне окружного. Доля пациентов с подавленной вирусной нагрузкой – РНК ВИЧ менее 500 копий в мл составила по СФО 44,5% среди лиц, прошедших обследование по определению вирусной нагрузки в 2018 г.

Количество ВИЧ-инфицированных пациентов, имеющих диагноз активного туберкулеза, снизилось в 1,2 раза с 17 610 в 2017 г. до 14 243 в 2018 г., доля таких пациентов составляет 8,8%. Доля пациентов, обследованных на туберкулез, из числа прошедших диспансерное обследование в 2018 г. увеличилась на 2,1%, составив 89,9%. К территориям с показателем охвата ниже среднего по СФО относятся: Забайкальский (71,3%), Алтайский (78,3%) и Красноярский (83,1%) края, Томская (77,8%) и Иркутская (81,8%) области.

В 2018 г. количество ВИЧ-инфицированных пациентов, получавших антиретровирусную терапию (АРВТ) (включая ГУФСИН) достигло 96 936 человек, что на 32 723 пациента или 33,8% больше чем в 2017 г. При этом впервые взятых на АРВТ 35 359 человек или 36,5% от всех получающих лечение. Доля пациентов, получающих АРВТ в 2018 г. от общего числа ВИЧ-инфицированных составила 48,8%, а от состоящих под наблюдением 60,0%. Половина (51,0%) ВИЧ-инфицированных состоящих на диспансерном наблюдении в 2018 г. нуждались в АРВТ по неотложным показаниям (CD4 менее 350 кл/мкл, наличие вторичных заболеваний, беременность).

Из получавших лечение лиц прервали его по различным причинам 9 495 пациентов (9,8%) против 8,5% – в 2017 г., из них умерло 3 726 человек – 39,0% от всех прервавших лечение.

В 2018 году в СФО зарегистрировано 4 904 ВИЧ-инфицированных женщин, имевших беременность, беременность закончилась родами в 3 640 случаях, что составило 74,2% от числа зарегистрированных женщин с подтвержденным статусом. Химиопрофилактика передачи ВИЧ от матери ребенку проводилась в полном объеме (во время беременности, в родах и новорожденному) 3 363 парам «мать и ребенок» – 91,7%, против – 87,3% в 2017 г. Доля беременных женщин, которым проводилась химиопрофилактика передачи ВИЧ или ВААРТ во время беременности составила 95,1% 2017 г. – 91,9%). Доля беременных женщин, получивших химиопрофилактику в родах составила 98,6%. Количество новорожденных, получивших химиопрофилактику – 3 653 ребенка (99,6%), показатель сохранился на уровне прошлого года. Диагноз ВИЧ-инфекция выставлен 76 детям, рожденным от ВИЧ позитивных матерей в 2018 г., риск реализации ВИЧ-инфекции среди детей, обследованных двукратно методами, направленными на выявление нуклеиновых кислот ВИЧ, составил 2,1%.

В 2018 г. в СФО умерло 11 750 ВИЧ-инфицированных, что на 3 980 человек больше, чем в 2017 г. Общее число умерших ВИЧ-инфицированных в СФО составило 64 992 (23,2%) человека. Наибольшее число умерших с ВИЧ установлено в Кемеровской области – 18 842 человека, в Иркутской области – 15 514 человек, в Алтайском крае – 8 300.

**Заключение.** Таким образом, эпидситуация по ВИЧ-инфекции в Сибирском федеральном округе, как и в Российской Федерации, продолжает оставаться напряженной. Сохраняется высокий уровень заболеваемости ВИЧ-инфекцией, увеличивается количество смертей ВИЧ-инфицированных, активизируется выход эпидемии из уязвимых групп населения в общую популяцию. Требуется усиленно осуществлять организационные и профилактические мероприятия по противодействию эпидемии ВИЧ-инфекции в округе.

#### Литература:

1. Глобальная статистика ВИЧ // Информационный бюллетень ЮНЭЙДС. URL: <http://www.unaids.org/ru/resources/909090> (дата обращения: 05.03.2019).
2. Голиусова М.Д. Эпидемия ВИЧ-инфекции в Российской Федерации и ее особенности на современном этапе // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2011. – № 6. – С. 97–100.
3. Смольская Т.Т., Огурцова С.В. Обзор состояния эпидемии ВИЧ-инфекции в Северо-Западном федеральном округе РФ в 1987–2009 гг. // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2011. – Т. 3, № 1. – С. 27–35.
4. Покровский В.В. Справка ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2018 / Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом // – М.: 2018.

Научное издание

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ**

**НАУЧНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ  
НАСЕЛЕНИЯ: АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ**

Всероссийской научно-практической конференции  
с международным участием, посвященной 100-летию  
ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

Дизайн обложки Н.В. Васильевых

Издательство «РЕМЕДИУМ ПРИВОЛЖЬЕ»  
603022 Нижний Новгород, ул. Пушкина, д. 20, оф. 4.  
Тел.: (831) 411-19-83 (85)  
E-mail: [remedium@remedium-nn.ru](mailto:remedium@remedium-nn.ru)  
[WWW.REMEDIUM-NN.RU](http://WWW.REMEDIUM-NN.RU)

Подписано в печать 14.08.2019 г.  
Отпечатано «Издательский салон» ИП Гладкова О.В.  
603022 Нижний Новгород, Окский съезд, д. 2, оф. 227.  
Тел./факс: (831) 439-45-11, тел.: (831) 416-01-02

Тираж 500 экз.

