

личения количества больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, при которых ТБ развивается как вторичное заболевание, быстрое определение резистентности к противотуберкулезным препаратам (ПТП) влияет на положительный исход заболевания. Золотым стандартом среди быстрых тестов является метод прямого секвенирования.

Целью нашей работы явилось сравнение определения чувствительности МБТ к основному ПТП рифампицину с помощью культурального метода и секвенирования.

Материалом для исследования явилось 135 образцов мокроты от 128 больных легочным туберкулезом, у которых традиционными микробиологическими методами было определено бактериовыделение. При исследовании методом секвенирования с помощью набора реагентов «Амплиценс® МТС-Rif-seq» (производства ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) 33 образцов от 32 впервые выявленных больных ТБ без ВИЧ-коинфекции, в 37,5% случаев была выявлена устойчивость к рифампицину. В то время как при тестировании 12 образцов у аналогичной группы из 11 больных ВИЧ/ТБ, она была обнаружена в 45,5% случаев. Исследование 77 образцов мокроты у 72 больных хроническим ТБ, выявило наличие резистентного ТБ у 80,6% больных без ВИЧ-инфекции и у 84,6% из 13 больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

Метод секвенирования позволяет не только подтвердить наличие резистентности, но и определяет все возможные виды мутационных изменений в *rpoB*-гене. Кроме того, он позволяет выявить одновременное присутствие смеси штаммов МБТ в организме одного пациента. Среди всех проанализированных нами образцов в 99 были обнаружены мутации, при этом 8 образцов представляли собой смеси штаммов. Из 13 обнаруженных вариантов мутаций наиболее частой явилась 531 Leu, встретившаяся в нашей выборке в 69,4% случаев.

Время, требуемое для определения чувствительности МБТ методом секвенирования, составило 2–4 дня, тогда как получение результатов с помощью культурального метода —  $58,2 \pm 15,6$  дней.

Таким образом, метод секвенирования позволяет в кратчайшие сроки получить более информативные, по сравнению с культуральным методом, данные о резистентности МБТ, необходимые для корректного лечения больных ТБ на фоне его распространения, в том числе у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

#### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПАТОГЕННОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ В ОЦЕНКЕ ИХ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ

Е.В. Анганова<sup>1,2</sup>, Е.Д. Савилов<sup>1,2</sup>, А.В. Духанина<sup>1</sup>, Н.Н. Чemezova<sup>1</sup>, Л.А. Распопина<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, г. Иркутск; <sup>2</sup>ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования», г. Иркутск; <sup>3</sup>ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница», г. Иркутск

Факт выделения условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ) при острых кишечных инфекциях (ОКИ), как и их количественная оценка не всегда

определяют способность изолята вызывать заболевание (Бондаренко В.М., 2011). Для выявления этиологической значимости энтеробактерий при ОКИ необходимо заключение об их патогенном потенциале на молекулярно-генетическом уровне.

Клинические штаммы УПЭ (представители родов *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Kluuvera*, *Morganella*, *Pantoea*, *Serratia* и *Providencia*), выделенные от детей с ОКИ, находящихся на лечении в Иркутской областной инфекционной клинической больнице, протестированы на наличие следующих генетических маркеров патогенности: *sfaA*, *sfaG* гены, ответственные за адгезию S типа, *fimA* ген — адгезия I типа, *hlyA*, *hlyB* — продукция гемолизина, *igr-2* — синтез железорегулируемого белка. Выявлена генотипическая гетерогенность энтеробактерий по оцениваемым признакам. Нуклеотидные последовательности генов, кодирующих указанные факторы патогенности, обнаружены у 23,4% штаммов. Наибольшая частота обнаружения была характерна для *hlyA* и *hlyB* генов (9,7% от всех протестированных штаммов и 60,9% от штаммов с наличием нуклеотидных последовательностей искомым генов). Среди генов, ассоциированных с адгезией, чаще обнаруживались маркеры *sfaA* и *sfaG*, а частота встречаемости генетических детерминант адгезинов I типа (*fimA*) оказалась значимо ниже ( $p < 0,05$ ). Наибольшую долю среди штаммов с наличием генетических детерминант патогенности составили *Klebsiella* spp. и *Citrobacter* spp. (39,0 и 24,4% соответственно). Самый широкий набор маркеров патогенности отмечен у штаммов *Klebsiella* spp. (*sfaA*, *sfaG*, *fimA*, *hlyB*, *hlyA*, *igr-2*). Выявлена связь между наличием генетических детерминант патогенности у выделенных от больных детей штаммов энтеробактерий и клиническими проявлениями вызываемых ими инфекций (продолжительность и уровень лихорадки, а также длительность диареи). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности определения генетических маркеров патогенности условно-патогенных энтеробактерий для выявления их этиологической значимости.

#### РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА ПЦР ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫХ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* И *ESCHERICHIA COLI*

Л.В. Анисимова, К.А. Никифоров, Г.Н. Одинокоев, Г.А. Ерошенко, В.В. Кутырев

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

Штаммы, циркулирующие в природных очагах чумы, как правило, чувствительны к действию различных антибиотиков, однако, в 1995 г. на о. Мадагаскар от больного чумой был выделен штамм *Yersinia pestis* с множественной лекарственной устойчивостью к стрептомицину, хлорамфениколу, тетрациклину, канамицину, ампициллину, спектиномицину, сульфониламидам. Изучение резистентного штамма *Y. pestis* показало, что гены устойчивости к антибиотикам расположены на конъюгативной плазмиде pIP1202, которая могла с высокой частотой передаваться другим штаммам возбудителя чумы. В течение трех последующих лет на этой же территории было изолировано еще несколько антибиотикоустойчивых штаммов *Y. pestis*. В 2002–2005 гг. у штаммов салмонелл и у других энтеробактериаль-

ных патогенов, выделенных из различных продуктов в США, были выявлены плазмиды, практически идентичные плазмиде rP1202. О возрастающем распространении антибиотикоустойчивых бактериальных штаммов свидетельствует также большая вспышка острой кишечной инфекции в Германии, вызванная энтерогеморрагической кишечной палочкой *E. coli* O104:H4, с завозом инфекции в другие страны Европейского региона и США. Используемые в настоящее время для определения антибиотикоустойчивости микробиологические методы занимают достаточно продолжительное время, что затрудняет своевременный выбор препарата для лечения больного человека. Большой эффективностью и быстротой получения результатов отличается метод ПЦР, предназначенный для детекции различных генов патогенности.

Нами разработан комплекс ПЦР для выявления у штаммов *Y. pestis* и *E. coli* генов резистентности к различным антибиотикам. На основе нуклеотидных последовательностей плазмид антибиотикорезистентности *Y. pestis*, представленных в базе данных NCBI GenBank, а также данных литературы по антибиотикоустойчивым патогенным штаммам *E. coli* нами сконструированы олигонуклеотидные праймеры для детекции генов резистентности к стрептомицину, тетрациклину, хлорамфениколу, канамицину, полимиксину, ванкомицину, гентамицину. Подобраны оптимальные условия проведения ПЦР. Разрешающая способность сконструированных ПЦР исследована на коллекции антибиотикостойчивых штаммов *Y. pestis* и *E. coli* и показана их эффективность для выявления резистентных к лекарственным препаратам штаммов бактерий. Разработанный способ позволяет быстро и эффективно проводить детекцию генов антибиотикоустойчивости у штаммов *Y. pestis* и *E. coli*.

### **ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛЕКТИНСВЯЗЫВАЮЩЕГО КОМПОНЕНТА LACTOBACILLUS FERMENTUM 90 TS-4 (21) В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЦЕНОЗАХ С ДРОЖЖЕПОДОБНЫМИ ГРИБАМИ**

**И.В. Анохина, Э.Г. Кравцов, Я.А. Рыбас**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов», медицинский факультет, Москва*

Было протестировано 20 клинических изолятов дрожжеподобных грибов *Candida albicans* на предмет зависимости их адгезивной активности от динамики менструального цикла и возможности влиять на эту адгезию лектинсвязывающим компонентом, выделенным из культуральной жидкости молочнокислых бактерий [*Lactobacillus fermentum* 90 TS-4(21)].

Установлено, что для 75% изолятов дрожжеподобных грибов *Candida albicans* изменение гормонального фона организма женщины является существенным фактором в процессе адгезии к клеткам-мишеням (влагалищные эпителиоциты). Прослеживается значимое увеличение адгезии в период овуляции и резкое снижение последней в начале и в конце менструального цикла.

Если выделенные на 9 день менструального цикла клетки-мишени проинкубировать с лектинсвязывающим компонентом, то из 20 клинических изо-

лятов торможение адгезии проявится у 35% культур. При инкубации влагалищных эпителиоцитов с лектинсвязывающим компонентом в период овуляции торможение адгезии демонстрирует 90% дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Среди этих изолятов 12 культур претерпевают сдвиг адгезивной активности в сторону увеличения в контроле и уменьшения в опыте. Обработка клеток-мишеней лектинсвязывающим компонентом в конце менструального цикла сокращает количество отвечающих на это действие культур до 45%.

Таким образом, среди 20 клинических изолятов дрожжеподобных грибов *Candida albicans* 75% культур представлены гормонзависимыми, 25% — гормоннезависимыми микроорганизмами. Попытки модулировать адгезивную активность с помощью лектинсвязывающего компонента молочнокислых бактерий выявили, что наибольший ингибирующий эффект проявляется в отношении гормонзависимых культур дрожжеподобных грибов *Candida albicans* и только в овуляционную фазу менструального цикла.

### **САЛЬМОНЕЛЛЕЗ, ВЫЗВАННЫЙ SALMONELLA ENTERICA СЕРОВАРА ORANIENBURG, СВЯЗАННЫЙ С УПОТРЕБЛЕНИЕМ СУХОЙ МОЛОЧНОЙ СМЕСИ ДЛЯ ДЕТЕЙ**

**М.В. Афанасьев<sup>1</sup>, М.В. Чеснокова<sup>1</sup>, Р.И. Пещерова<sup>1</sup>, Л.П. Нурсаянова<sup>2</sup>, Н.С. Казанская<sup>3</sup>, М.Ю. Шестопапов<sup>1</sup>, С.В. Балахов<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск; <sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Иркутской области, г. Иркутск;*

*<sup>3</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии по Иркутской области, г. Иркутск*

В этиологической структуре пищевых зоонозов сальмонеллез занимает лидирующие позиции, как в мире, так и в Российской Федерации. Среди сальмонелл, вызывающих заболевания людей, преобладают возбудители *S. enterica* сероваров Enteritidis и Typhimurium. В связи с этим, зарегистрированные случаи сальмонеллеза в г. Усолье-Сибирское Иркутской области с 2 ноября 2011 г. по 16 января 2012 г. среди детей, обусловленные редко встречающимся сероваром Oranienburg, и связанные с употреблением сухой адаптированной молочной смеси, представляются достаточно интересными. В процессе эпидемиологического расследования было изучено 13 штаммов *S. enterica*, выделенных от больных детей ( $n = 7$ ; 53,8%; от 2 до 7 мес.), взрослых ( $n = 2$ ; 15,4%; 24–27 лет) и образцов молочной смеси ( $n = 4$ ; 30,8%). Изоляция штаммов, их микробиологическая и серологическая характеристика проводилась стандартными методами. В качестве дополнительного теста выполнялась ускоренная масс-спектрометрическая идентификация с применением MALDI-ToF масс-спектрометра Microflex® и программного комплекса «Biotyper» (Bruker Daltonics, Германия). Расширенная генетическая характеристика штаммов включала ПЦР-детекцию гена инвазивности *inv A*, изучение плазмидного спектра и сравнительный анализ рестрикционных профилей, полученных с помощью эндонуклеаз рестрикции XbaI и SpeI методом электрофореза в перемешанном поле (PFGE-анализ). Все исследованные штаммы имели типичные для вида биохимические