

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ю.А. Тюрин, Р.С. Фассахов

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

²ЗАО «Синтол», Москва

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

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

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

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