

## МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

### ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

*М.В. Альварес Фигероа<sup>1, 2</sup>, Е.А. Долгова<sup>1, 2</sup>, Д.М. Флигель<sup>2</sup>.* Особенности применения метода ПЦР для анализа материала парафиновых блоков при дифференциальной диагностике туберкулеза. <sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; <sup>2</sup>Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом

Доказательная дифференциальная диагностика туберкулеза (ТБ) предусматривает обнаружение возбудителя заболевания, которое осуществляется не только при исследовании экскретуемых жидкостей, но и тканей. Гистологическое исследование основано на визуализации патологических изменений в тканях с обнаружением эпителиоидно-клеточных гранулем, образование которых чаще обусловлено возбудителем ТБ. На этом основано гистологическое подтверждение ТБ в МКБ-10. Однако на современном этапе необходимо определение этиологического фактора, лежащего в основе воспалительного процесса. С целью выявления микобактерий туберкулеза (МБТ) в парафиновых блоках применяют бактериоскопию с окраской по Цилю-Нильсену, иммуногистохимическое исследование и ПЦР-анализ, который обладает наибольшей аналитической чувствительностью и специфичностью.

Цель работы – определение условий подготовки парафиновых блоков для возможности проведения гистологического и ПЦР-исследований и особенности дизайна набора реагентов на основе ПЦР для работы с этим видом материала.

В результате исследований нами определены критические параметры подготовки парафиновых блоков для дальнейшего исследования методом ПЦР: влияние разных фиксаторов, особенности использования парафина для заливки и пробоподготовка материала блоков. Определены принципы дизайна набора реагентов: подобрана длина ампликона, необходимость использования экзо- и эндогенного внутренних контрольных образцов, выявлен подход для определения информативности образца, а также алгоритм количественной оценки обсемененности ткани МБТ.

*О.П. Дрибноходова, К.О. Миронов, Е.А. Дунаева, Г.А. Шипулин.* Разработка набора реагентов «АмплиСенс Пироскрин» для детекции генетических полиморфизмов с помощью системы генетического анализа «РугоMark Q24». ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Анализ индивидуальных генетических особенностей, в том числе определение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), может быть использован для выявления лиц, предрасположенных к различным заболеваниям, и для выбора оптимальных схем лечения. Для детекции SNP используется широкий спектр методов, но только методы секвенирования, в том числе пиросеквенирование, позволяют однозначным и специфичным образом определять нуклеотидную последовательность.

На основании литературных данных было выбрано 124 SNP и разработаны системы для их детекции, которые были объединены в набор реагентов «АмплиСенс® Пироскрин». Для детекции SNP была использована система генетического анализа «РугоMark Q24» («Qiagen», Германия). При разработке набора использовались реагенты производства ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии (Москва) и «Qiagen» (Германия). В рамках проведенной работы разработан универсальный протокол проведения анализа, позволяющий анализировать SNP в любой комбинации. Набор выпускается в 28 формах комплектации, предназначенных для определения SNP, ассоциированными с риском развития различных патологических состояний и фармакогенетическими особенностями. Для 24 форм комплектации получено регистрационное удостоверение (ФСР № 2012/13246 от 19 марта 2012 г.). Новые профили могут использоваться для оценки индивидуальных фармакогенетических особенностей («UGT1A1-скрин», «ФАРМА-скрин-1б»), в гепатологии («UGT1A1-скрин», «IL28B-скрин»), в акушерстве, онкологии и

спортивной медицине («VEGFA/NOS3-скрин»). Поскольку использованная система генетического анализа является открытой платформой, существует возможность расширения набора «АмплиСенс® Пироскрин» за счет включения в него новых актуальных генетических полиморфизмов.

*И.В. Карандашова, В.А. Долгин, А.Д. Неверов, Е.Б. Лебедева, В.П. Чуланов.* Распространенность генотипов IL28B среди больных хроническим гепатитом С, получавших и не получавших противовирусную терапию. ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) rs8099917 (RS17) и rs12979860 (RS60) гена интерлейкина 28B (IL28B) человека связаны с вероятностью достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО) при лечении хронического гепатита С (ХГС) препаратами интерферона в комбинации с рибавирином. Благоприятными для лечения ХГС являются генотип СС (по сравнению с СТ и ТТ) по RS60 и ТТ (по сравнению с TG и GG) по RS17.

Цель работы – изучение распространенности различных генотипов в RS60 и RS17 среди больных ХГС, не достигших УВО после проведенного лечения, и больных, ранее не получавших лечение. Исследовано 184 образца цельной крови больных ХГС, инфицированных генотипом 1 вируса гепатита С (ВГС), 125 из которых принадлежали пациентам, ранее не получавшим лечение, 59 – пациентам, прошедшим 48 нед лечения и не достигшим УВО. Генотип IL28B определяли с помощью набора реагентов «АмплиСенс®Геноскрин-IL28B-FL» (ЦНИИЭ). Среди больных, не получавших лечение, было выявлено следующее соотношение генотипов (в %) по RS60: СС - 19,2, СТ - 62,4, ТТ - 18,4; по RS17: ТТ - 40,8, TG - 52, GG - 7,2; среди не достигших УВО - по RS60: СС - 8,5, СТ - 62,7, ТТ - 28,8; по RS17: ТТ - 33,9, TG - 55,9 и GG - 10,2. Достоверные отличия между группами наблюдались лишь по распределению генотипов по RS60 ( $p < 0,03$ , критерий Манна-Уитни). Генотип СС встречался достоверно реже, а ТТ – достоверно чаще у пациентов, не достигших УВО, по сравнению с больными, не получавшими лечения. Полученные данные подтверждают большую прогностическую значимость полиморфизма RS60 по сравнению с RS17 для российской популяции больных ХГС с генотипом 1 ВГС.

*Л.С. Карань<sup>1</sup>, М.А. Сайфуллин<sup>2</sup>, Н.М. Колясникова<sup>1, 3</sup>, К.А. Грднева<sup>1</sup>, В.В. Малеев<sup>1</sup>.* Расшифровка завозных тропических болезней с использованием комплекса молекулярно-биологических и иммунологических методов исследования. <sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ, Москва; <sup>2</sup>ГКУЗ Инфекционная клиническая больница № 1, Москва; <sup>3</sup>ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН, Московская область

Проблема расшифровки случаев острых лихорадочных заболеваний у туристов, вернувшихся из стран тропического и субтропического климата, является актуальной и требующей знания клинических симптомов и методов диагностики инфекционных заболеваний, относящихся к природно-очаговым и встречающимся в тропиках. Алгоритм диагностики включает в себя клинический и биохимический анализ крови, мочи, анализ крови на присутствие малярийного плазмодия. В случае отрицательного результата на малярию при наличии лихорадки и сыпи проводятся исследования на лихорадку денге, чикунгунья, CMV, EBV, HIV, риккетсиозы; при наличии лихорадки и повышенного уровня печеночных трансаминаз - на вирусные гепатиты, лихорадку денге, рифт-валли, лимфотропную вирусную инфекцию, риккетсиозы, Ку-лихорадку, бруцеллез, лептоспироз, висцеральный лейшманиоз (при наличии панцитопении и спленомегалии), туберкулез, брюшной тиф, трипаносомоз; при наличии лихорадки и эозинофилии - на шистосомоз. Так, в 2010-2013 гг. в ЦНИИ эпидемиологии при исследовании 50 проб крови от пациентов, вернувшихся в основном из юго-восточной Азии, были лабора-

торно подтверждены (обнаружение РНК/ДНК и/или специфических антител) 27 случаев завоза лихорадки денге в Москву из Индонезии, Таиланда, Доминиканской республики, лихорадка цуцугамуши выявлена у 2 больных, вернувшихся из Таиланда и Вьетнама, лептоспироз диагностирован у 2 пациентов, отдохавших в Таиланде и Мексике, висцеральный лейшманиоз обнаружен у туриста, выезжавшего в Испанию и Мексику, лихорадка чикунгунья – у больной, вернувшейся с Бали.

*И.А. Карпова, Э.А. Имельбаева, А.Ж. Гильманов. Об эффективности оценки состояния вагинальной микрофлоры молекулярно-генетическими методами.* ГБУЗ РБ Научно-исследовательская генетическая лаборатория, г. Стерлитамак, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

Исследования последних лет показали, что в возникновении целого ряда патологий, в том числе вызывающих неблагоприятные исходы беременности, значительную роль играют инфекции урогенитального тракта, передаваемые половым путем. Ввиду того что условно-патогенные микроорганизмы при хронических формах инфекций присутствуют в небольших количествах и не культивируются на обычных питательных средах, их детекция традиционными бактериологическими методами не очень эффективна (а зачастую и невозможна), а иммунный ответ организма часто оказывается стертым. В связи с этим в ГБУЗ РБ НИГЛ г. Стерлитамака в последние 3 года были внедрены молекулярно-генетические методы оценки биоценоза урогенитального тракта в ПЦР с помощью наборов «Фемофлор 16», «Фемофлор 8», «Фемофлор 4», выявляющих ДНК основных возбудителей бактериальных инфекций (*Enterobacter* spp., *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp.), а также ДНК *Cytomegalovirus* в лейкоцитах крови.

За 2010–2012 гг. с применением наборов «Фемофлор» было обследовано 607 пациенток в возрасте от 18 до 49 лет (в основном 26–35 лет); биоматериал забирался в гинекологических кабинетах. У 46–56% пациенток был выявлен абсолютный и относительный вагинальный нормоценоз, причем на его фоне ДНК уреоплазм была обнаружена у 33–36% женщин, грибов рода кандиды – у 2–7%. Умеренный дисбаланс микробной флоры был констатирован у 16–20% пациенток, у 50% из них выявлялись уреоплазмы. Выраженный дисбаланс микрофлоры урогенитального тракта был установлен у 28–34% обследованных, у них уреоплазмы выявлены в 43–51%, микоплазмы – в 18–21%, грибы рода кандиды – в 4–6% случаев, сочетанная инфекция – у 52–54% пациенток. Уреоплазмы, микоплазмы и грибы рода кандиды в 9% случаев обнаруживались при нормальном количестве лактобактерий, в 15% случаев – на фоне незначительного снижения количества нормобиоты. При отсутствии или значительном снижении количества лактобактерий у 62% пациенток обнаруживалась микоплазменная и (или) кандидозная инфекция.

Для оценки правильности исследование одного и того же биологического материала проводятся двумя методами: ПЦР в реальном времени (полуколичественный метод) и ПЦР по конечной точке (качественный метод). Результаты исследований в 95% случаев совпадают, что свидетельствует о точности методов и их высокой эффективности для диагностики дисбиоза урогенитального тракта у женщин.

*А.А. Кишкун. Требования к аналитической чувствительности ПЦР-технологий для лабораторного мониторинга лечения хронического вирусного гепатита С.* ФГУ Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

Основным молекулярно-генетическим методом диагностики, определения прогноза и мониторинга эффективности лечения вирусного гепатита С (ВГС) служит метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Особое значение применение метода ПЦР имеет у больных хроническим ВГС, так как у большинства из них отсутствует корреляция между наличием вирусной репликации и активностью печеночных ферментов. В таких случаях только по результату ПЦР можно судить о наличии вирусной репликации, особенно если конечный результат выражается количественно. Метод ПЦР позволяет установить генотип ВГС, что имеет важ-

ное значение не только для подбора пациентов с хроническим ВГС к проведению лечения интерфероном- $\alpha$  и рибавирином, но и определения продолжительности терапии. На этом возможности метода ПЦР не исчерпываются. С его помощью лаборатории в состоянии выявлять полиморфизм в регионе, примыкающем к гену интерлейкина 28В (IL28В), генотип которого во многом определяет исходный прогноз эффективности лечения хронического ВГС.

На протяжении многих лет в основе лечения хронического ВГС лежала монотерапия интерфероном- $\alpha$ . В дальнейшем протоколы лечения включали комбинированную терапию интерфероном- $\alpha$  и рибавирином или пегилированным интерфероном и рибавирином.

В мае 2011 г. Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) утвердило препараты боцепревири и теллапревири в качестве первых лекарственных препаратов прямого действия для лечения хронического ВГС. Новые схемы лекарственной терапии ВГС предусматривают применение боцепревири и теллапревири в комплексе с пегилированным интерфероном и рибавирином (тройная схема терапии).

Целью лечения пациентов с хроническим ВГС является достижение устойчивого вирусологического ответа (УВО). Продолжительность лечения, необходимого для достижения УВО, определяется темпами снижения вирусной нагрузки в крови и исходным клиническим состоянием больного (стадия фиброза, уровень вирусной нагрузки, генотип ВГС). Тактику ведения пациента при комбинированной терапии позволяет определить результат исследования вирусной нагрузки при помощи количественной ПЦР на 4-й, 12-й и 24-й нед терапии. Если пациент не достигает 2 log снижения уровня вирусемии по сравнению с исходной через 12 нед, есть менее 3% вероятности достижения УВО. УВО – надежный критерий элиминации вируса из организма, поэтому достижение УВО можно рассматривать как излечение. Для мониторинга эффективности лечения хронического ВГС необходимо было использовать ПЦР-метод с аналитической чувствительностью количественного определения РНК ВГС  $\leq 50$  МЕ/мл.

Введение в клиническую практику протоколов с тройными схемами лекарственной терапии ВГС не только внесли изменения в алгоритм лабораторного мониторинга, но и существенным образом повысили требования к аналитической чувствительности ПЦР-метода.

Схемы терапии с использованием боцепревири предусматривают 4-недельное вводное лечение пегилированным интерфероном и рибавирином, а затем 24-недельное тройное лечение боцепревири/интерферон/рибавирин. В клинических рекомендациях Американской ассоциации по изучению заболеваний печени (AASLD) указывается на необходимость определения вирусной нагрузки в конце 8-й и 24-й недель терапии. Пациенты с ВГС, которые ранее не получали противовирусное лечение и у которых РНК ВГС не обнаруживается в эти 2 срока, должны быть оценены в качестве кандидатов для прекращения дальнейшего курса терапии (укороченный 28-недельный курс терапии). Однако пациенты, которые ранее получали противовирусную терапию или вирусная нагрузка в сыворотке крови у них составляла  $\geq 100$  МЕ/мл на 8-й нед, но не определялась на 24-й нед должны пройти полный 36-недельный курс тройной терапии, а затем комбинированное лечение интерферон/рибавирин в течение 12 недель, при общей продолжительности лечения 48 недель.

Пациенты, получающие лечение теллапревири, не имеют 4-недельного вводного лечения пегилированным интерфероном и рибавирином. Вместо этого им сразу же проводится 12-недельная тройная терапия - теллапревири/интерферон/рибавирин, а затем не менее 24 нед лечение интерфероном/рибавирином, в общей сложности 28 нед. Определение вирусной нагрузки проводят в конце 4-й и 12-й нед терапии. Больные, у которых РНК ВГС не обнаруживается на 4-й и 12-й нед оцениваются на предмет прекращения укороченной 28-недельной терапии. Если уровень вирусной нагрузки  $< 1000$  МЕ/мл в обеих временных точках, то пациентам проводится двойная терапия интерфероном/рибавирином в течение дополнительных 36 нед, в общей сложности 48 нед лечения. Пациенты с частичным снижением вирусной нагрузки или отсутствием таковой, также будут оставаться

на двойной терапии дополнительных 36 нед, в течение 48 нед в общей сложности.

При использовании любого препарата лечение должно быть прекращено в любое время, если уровень вирусной нагрузки превышает рекомендованный порог – > 100 МЕ/мл в случае бопревира и > 1000 МЕ/мл для телапревира, из-за возможных негативных последствий для будущих курсов терапии.

Лабораторный мониторинг за лечением ВГС должен осуществляться с использованием надежного метода ПЦР. FDA рекомендует использовать лабораторные ПЦР-технологии с нижним пределом количественного определения РНК ВГС ≤ 25 МЕ/мл и пределом обнаружения 10–15 МЕ/мл. С позиций гепатологов эти аналитические характеристики играют ключевую роль в мониторинге лечения больных ВГС, так как позволяют корректировать схемы лечения в отношении каждого конкретного пациента.

В заключение необходимо отметить, что лабораторный мониторинг за лечением ВГС позволяет сократить продолжительность лечения почти в половине случаев – от 12 до 20 нед и существенно повысить его эффективность.

**Е.С. Ковалева, Б.Ю. Гумилевский. Иммуногенетическое профилирование для лабораторного мониторинга эффективности терапии гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов.** ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава РФ

Поиск путей совершенствования терапевтических технологий и доступных критериев прогнозирования успешности лечения ВГС-инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов является чрезвычайно важной задачей.

Цель исследования – создание и внедрение алгоритма лабораторной диагностики эффективности терапии хронического вирусного гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов. В исследовании принимали участие 80 ВИЧ-инфицированных пациентов с вирусным гепатитом С, проходивших комплексное лечение пегилированным интерфероном-α и рибавирином. Материалом для исследования служила кровь, взятая из вены. На протяжении лечения для лабораторного мониторинга определялись полиморфизмы генов системы интерферона: rs2069707 (гена IFN), rs2071430 (гена MxA), rs62522600 (гена AZIN), rs4986791 (гена TLR4) (метод real-time ПЦР, тест-системы «Литех»), вирусная нагрузка ВИЧ и ВГС (real-time ПЦР, тест-системы «Roshe»), показатели иммунного статуса (метод проточной цитометрии "BD FACScount"). Также определялся генотип вируса ВГС (ПЦР, тест-системы "Cobas AmpliCor"). В результате исследования были выявлены генетические полиморфизмы в системе гена IFN, которые могут быть использованы в качестве ДНК-маркеров для прогнозирования эффективности терапии. Вместе с тем снижены уровни РНК ВИЧ при наличии устойчивого вирусологического ответа к ВГС и увеличение количества активированных CD4-Т-лимфоцитов также являются предикторами успешности противовирусной терапии. На основании полученных результатов составлены иммуногенетический профиль и диагностический алгоритм, которые позволят не только повысить качество лабораторного мониторинга на всех этапах противовирусной терапии, но и прогнозировать эффективность лечения вирусного гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**А.Р. Мавзютов, Г.Е. Ефимов, Б.Р. Кулуев, Д.Я. Хайдарова, Г.М. Шайхиева. Оценка частоты обнаружения антибиотико-резистентных энтеробактерий дискодиффузионным методом и ПЦР.** ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, ООО ИЦ Лаборатория, Уфа

Для определения антибиотикочувствительности *Enterobacteriaceae* в большинстве случаев используется дискодиффузионный метод, однако полученные при этом данные могут варьировать ввиду изменчивости фенотипических признаков. В этой связи представляются перспективными молекулярно-генетические методы, ориентированные на выявление фрагментов ДНК, ассоциированных с генами антибиотикорезистентности.

Нами была определена чувствительность клинических штаммов *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* и *E.coli* к гентамицину, тобрамицину, тетрациклину, амикацину дискодиффузионным методом и при использовании ПЦР с

праймерами к фрагментам ДНК, ассоциированным с резистентностью к данным антибиотикам. При оценке резистентности дискодиффузионным методом частота встречаемости культур, резистентных к одному антибиотику, составила 25,3%; во всех случаях имела место монорезистентность *Salmonella enteritidis* к тетрациклину, тогда как полирезистентность к двум и более антимикробным препаратам была обнаружена в 4,2% случаев только у *Klebsiella pneumoniae*. При детекции фрагментов ДНК, ассоциированных с генами антибиотикорезистентности, методом ПЦР монорезистентные культуры были обнаружены в 20,8% случаев. Из них генетические маркеры резистентности к одному антибиотику как у *Salmonella enteritidis*, так и у *Shigella flexneri* были выявлены в 13,3% случаев, у *Klebsiella pneumoniae* – в 26,7%, у штаммов *E. coli* – в 46,7%. Генетические маркеры резистентности к двум и более антибактериальным препаратам среди протестированных клинических штаммов *Enterobacteriaceae* методом ПЦР были выявлены в 13,8% случаев, причем *Salmonella enteritidis* среди них не было, штаммы *Shigella flexneri* составляли 30%, *Klebsiella pneumoniae* – 40% и *E.coli* – 30%. Достоверность различий в частоте выявления монорезистентных к антибиотикам энтеробактерий дискодиффузионным методом и методом ПЦР оказалась незначимой (критерий Стьюдента  $t$  0,68), но полирезистентные к антибиотикам культуры *Enterobacteriaceae* методом ПЦР выявлялись в сравнении с дискодиффузионным методом достоверно чаще (критерий Стьюдента  $t$  2,09).

Полученные данные указывают на диагностическую ценность метода ПЦР при выявлении полирезистентных штаммов микроорганизмов в сравнении с дискодиффузионным методом.

**А.Ю. Миронов, О.А. Дмитренко, С.В. Жулина, Ю.В. Иванов. Микробиологический мониторинг стафилококковой пневмонии: молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Staphylococcus aureus*.** ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, ФГБУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, ГУЗ ГКБ № 15 им. О. М. Филатова, Москва

Количество внутрибольничных инфекций в РФ составляет 2,5 млн. случаев в год и имеет тенденцию к росту. Этиологическая значимость *Staphylococcus aureus* как возбудителя пневмоний нарастает в связи с широким распространением как в госпитальной, так и появлением во внебольничной среде метициллинрезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA). Стафилококковая пневмония характеризуется мультилобарным поражением, прогрессирующим течением, сопровождается высокой летальностью. Накапливаются данные о повышенной вирулентности определенных генетических линий *S. aureus*. Цель работы — определение молекулярно-генетических характеристик штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов с пневмонией в ЛПУ. Исследовано 107 клинических проб биоматериала (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж) от больных с пневмонией, проходивших лечение в ГУЗ Москвы ГКБ № 15 им. О. М. Филатова с 2005 по 2011 г. Диагноз пневмонии при жизни установлен и подтвержден данными аутопсии у 80,8% пациентов, у 11,5% пневмония выявлена только на секции, 7,7% случаев связаны с гнойным трахеобронхитом или одной из форм ХОБЛ. Из подтвержденных данными аутопсии инфекций нижних дыхательных путей 64% случаев являлись внутрибольничными, связанными как с активизацией эндогенной микрофлоры, так и с экзогенным инфицированием. Выделение, идентификация чистых культур, определение антибиотикограммы проводилось в соответствии с общепринятыми методами. Приоритетным патогеном пневмонии является *S. aureus*. Выделено 107 клинических штаммов *S. aureus*: из мокроты и бронхоальвеолярного лаважа – 79 штаммов, ткани лёгких при аутопсии – 28 штаммов. Из патологических очагов при внутрибольничных пневмониях в 68,8% изолирован метициллинрезистентный *S. aureus* (MRSA), в 18,8% – метициллинчувствительный *S. aureus* (MSSA), в 12,4% – MRSA и MSSA. При внебольничных пневмониях изолирован только MSSA. Молекулярное типирование штаммов включало исследование структурного полиморфизма генов *coa* и *spa*, определение структурных компонентов SCCmec и набора генов, кодирующих синтез токсинов, обладающих суперантигенной активностью: *sea*, *seb*, *sec*, *seg*, *seh*, *tst*, *lukS-PV*, *lukF-PV* методами ПЦР и секвенирования. Для биоинформационного анализа использован сайт [www.spaserver.ridom.de](http://www.spaserver.ridom.de). 68,8% изолятов идентифицированы как MRSA. Подавляющее большинство их принадлежало к spa-типам t-008 и spa t-030, которые специфичны для ранее охарак-



теризованных отечественных госпитальных эпидемических штаммов MRSA: REMRSA-2 (t-008, SCCmec композитная) и REMRSA-3 (spa-t-030, SCCmecIII). Появился новый госпитальный штамм MRSA spa-тип – t-032, вызвавший летальные случаи заболевания, принадлежащий к международному штамму EMRSA-15. Среди MRSA идентифицированы единичные изоляты, принадлежащие spa-типам t-024, t-632. Выявлена гетерогенность MSSA-изолятов, которые принадлежали к более чем 20 различным spa-типам. Один из генов тестированных токсинов несет 95,6% штаммов MRSA и 84,8% MSSA. Доминировали штаммы, несущие гены, кодирующие синтез энтеротоксинов A, C, G. Единичные изоляты несли гены *ist*, *lukS-PV*, *lukF-PV*. В этиологии стафилококковой пневмонии ведущая роль принадлежит токсигенным эпидемически успешным штаммам MRSA и MSSA. Разработаны алгоритмы рациональной антимикробной химиотерапии стафилококковых пневмоний в многопрофильном ЛПУ Москвы. Микробиологический контроль за циркулирующей патогеном остаётся одним из ключевых факторов, способствующих оптимизации эпиднадзора в ЛПУ, а лабораторная диагностика – основным прикладным инструментом обнаружения и характеристики изолированных культур микробов. Качество эпиднадзора зависит от эффективности микробиологического мониторинга, который оценивается по интенсивности выделения культур от общего числа исследованных проб, антибиограммы, что в свою очередь зависит от соблюдения в полном объёме существующей схемы лабораторной диагностики. Полученные данные необходимо использовать для улучшения системы инфекционного контроля, схем лечения больных, создания новых лечебных и профилактических препаратов.

**А.Ю. Миронов, А.В. Соколенко. Индикация *Vibrio cholerae* O1/O139 в анализе методом полимеразной цепной реакции на разных стадиях некультивируемой трансформации.** ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва; НИИ биологии ЮФУ, Ростов-на-Дону

ПЦР – один из востребованных методов индикации и идентификации микробов. Высокая специфичность и чувствительность позволяют в режиме реального времени определять видовую принадлежность микроба. Возможность работы с нативным материалом без выделения чистой культуры делает ПЦР пригодной для индикации и идентификации некультивируемых форм (НФ) патогенов. Из-за морфологических изменений клетки в некультивируемом состоянии (НС) и вариабельности экстрагируемой ДНК патогена, особенно из объектов окружающей среды, при проведении ПЦР с НФ возможны затруднения.

Цель работы — индикация в анализе НФ *V. cholerae* O1/O139 на разных стадиях некультивируемой трансформации методом ПЦР. При санитарно-бактериологическом контроле окружающей среды в случае с *V. cholerae* наибольшее значение имеет наличие у патогена генов, входящих в состав VP1: *Ictx AB*, *toxR*, *tcpA*. Используются праймеры к указанным генам. Изучена амплификация в культурах вегетативных штаммов, 3-суточных НФ, 6-месячных НФ, ревертантах и культурах ревертантов, паспортированных *in vitro*. В культурах ревертантов исходных штаммов и их перекисьюстойчивых вариантов тестируемые гены сохранялись. Исключение составил ревертант, устойчивый к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> после пассажа *in vitro*: на его треке не обнаружен амплификат к *ctx AB*. В НФ разного возраста гены, входящие в VP1-1, не детектировались, несмотря на то что из 3-суточных НФ получены ревертаны. Используются праймеры к генам, кодирующим дополнительные факторы патогенности: *zot*, *hap*, *rstA* в переходных (стравирующих) культурах, 20-суточных НФ, 11-месячных НФ. В переходных популяциях токсигенного штамма *V. cholerae* O139 в анализе с морской водой тестируемые гены не детектировались, в пробах с речной водой слабые амплификаты обнаружены лишь с праймером к гену *hap*. В анализе с речной водой, в которых находились 20-суточных НФ, амплификация наблюдалась с праймерами к *tcpA*, *hap*, *toxR*. В более старых некультивируемых пробах (максимальный возраст составил 11 мес) из анализа с дистиллированной, морской и речной водой положительный ответ получен со всеми использованными праймерами. В агаровых культурах ревертантов независимо от длительности пребывания в НС среды микробиома и способа реверсии сохраняются полноценный СТХФ элемент с генами *ctx AB*, *zot*, *ace* и фланкирующие их последовательности RS, а также гены *rtxC*,

*rtxC*, *tcpA*, *toxR*, *hap*. В ПЦР в переходном и некультивируемом состоянии у *V. cholerae* O1/O139 может изменяться чувствительность к используемым праймерам в сторону уменьшения, что затрудняет индикацию возбудителя в воде. Отсутствие амплификации со специфическими праймерами требует выяснения возможных механизмов явления и может быть связано с перестройкой топологии ДНК, вязкости цитоплазмы, функциональными перестройками ЦПМ и клеточной стенки.

**В.С. Насонова, Д.А. Кувейда. Использование ПО FRT Manager для стандартизации, автоматизация результатов диагностики методом ПЦР и интеграция с ЛИС.** ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Для автоматизации лабораторной диагностики методом ПЦР необходима разработка специализированного ПО. Возможности ПО должны позволять стандартизировать и автоматизировать исследование и обработку результатов.

Цель – разработка FRT Manager для автоматизации проведения ПЦР-исследования и анализа результатов, с функцией мини-ЛИС и/или интеграции с ЛИС других разработчиков. Стандартизация, оптимизация ПЦР-исследований в режиме реального времени, контроль качества на всех уровнях (внутреннего контроля реакции, контрольных образцов этапов пробоподготовки и амплификации, статуса постановки), безопасное хранение данных, возможность интеграции с ЛИС.

В ходе апробации проведено сравнение автоматизированной и ручной работы на ПЦР-амплификаторах Rotor-Gene Q ("Qiagen", США), iQ5 ("Bio-Rad", США) и CFX 96 ("Bio-Rad", США). Было показано, что автоматизированный запуск для каждого прибора, анализ результатов и передача данных в ЛИС позволяют сократить время на каждое исследование, сократить количество ошибок оператора, позволяют увеличить пропускную способность лаборатории.

Функциональные особенности ПО FRT Manager также имеют ряд преимуществ по сравнению со стандартным ПО приборов: встроенная библиотека шаблонов запуска на приборе, отдельные алгоритмы анализа результатов, автоматическая обработка результатов, контроль качества исследований.

Возможности ПО FRT Manager позволяют решить вопросы стандартизации и автоматизации ПЦР-исследований для различных задач, в т.ч. скрининга инфекционных заболеваний, позволяют обеспечить интеграцию ПЦР-лаборатории в единое информационное пространство клиничко-диагностической лаборатории.

**Д.Н. Петухов, О.А. Веселова, А.Т. Подколзин, Г.А. Шунулин. Применение лабораторных методов этиологической диагностики в очагах групповой заболеваемости диарейными инфекциями в Российской Федерации в 2011–2012 гг.** ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Целью работы явилось выявление потенциала по повышению эффективности этиологической диагностики ОКИ в очагах групповой заболеваемости путем анализа эффективности применяемых диагностических методик и их соответствия спектру детектируемых патогенов. Данные о количестве зарегистрированных очагов групповой заболеваемости, количестве и возрастном составе пострадавших, спектре применяемых диагностических методик и эффективности их применения ежеквартально предоставлялись в референс-центр по мониторингу возбудителей ОКИ ([www.epid-oki.ru](http://www.epid-oki.ru)) учреждениями Роспотребнадзора в субъектах РФ согласно требованиям нормативно-методической документации.

В 2011 и 2012 гг. в референс-центр была предоставлена информация о 965 очагах групповой заболеваемости (478 в 2011 г. и 487 в 2012 г.). Наиболее часто выявляемыми патогенами в очагах групповой заболеваемости ОКИ были ротавирусы группы А (32%), норовирусы (29%), нетифоидные сальмонеллы (19%) и шигеллы (9%). Очаги с неустановленной этиологией заболевания выявлялись в 7% случаев, и еще в 6% этиология заболевания связывалась с условно-патогенной микрофлорой, часто без убедительной доказательной базы.

Первичное применение бактериологических исследований для выявления энтеробактерий при диарейных заболеваниях является типичным подходом к организации лабораторных исследований в очагах. При этом статистика свидетельствует о двукрат-

ном превалировании в них агентов вирусной природы. Подобный диссонанс находит отражение в увеличении доли исследований, проводимых с применением таких универсальных диагностических методик, как ПЦР. Статистика свидетельствует о том, что даже в очагах с выявлением бактериальных патогенов методики на основе ПЦР в 2012 г. применялись в 28–31%. В очагах норовирусной инфекции они составляли основу этиологической диагностики (применялись в 88% очагов) и даже в очагах ротавирусной инфекции, при которой традиционно используются методы выявления антигенов возбудителей с применением ИФА, амплификационные тесты находили применение в 50% случаев.

Результаты работы свидетельствуют о существенном изменении спектра лабораторных методов этиологической диагностики ОКИ в очагах групповой заболеваемости, что свидетельствует о модернизации диагностических алгоритмов, применяемых в практике работы учреждений Роспотребнадзора и ЛПО. Оптимизация этого процесса должна опираться на анализ информативности и экономической целесообразности применения данных алгоритмов на практике.

*А.П. Сафонова, Н.А. Хромова, О.В. Белякова.* **Опыт организации и проведения мероприятий для предотвращения контаминации продуктами амплификации в лабораториях молекулярных методов диагностики.** ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Основные проблемы при использовании ПЦР в лабораторной диагностике связаны с тем, что процесс амплификации носит цепной характер, по его завершении образуется миллиардное количество продуктов – ампликонов, являющихся матрицей для амплификации. Несмотря на появление новых методов детекции, исключающих открывание пробирок после проведения амплификации, контаминация остается актуальной проблемой. Существует опасность попадания их из амплификационной в другие зоны, что приводит к появлению ложноположительных результатов. Для предотвращения этого необходимо регулярно проводить мониторинг загрязнения продуктами амплификации путем исследования смывов с рабочих поверхностей оборудования и помещений.

Цель нашей работы – оценить эффективность мер по предупреждению контаминации, определить порядок и периодичность проведения смывов. Для проведения ПЦР в количественном формате использовали наборы реагентов «АмплиСенс HCV<sup>®</sup>-монитор-FL» и «АмплиСенс HBV<sup>®</sup>-монитор-FL» с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени. Смывы брали еженедельно до начала работы зондами с ватным тампоном в пробирки с 300 мкл ТЕ-буфера. Смывы проводили во всех зонах ПЦР в лаборатории, исследуя 60 контрольных точек. Уровень контаминации с рабочих поверхностей приборов для амплификации и детекции в режиме реального времени составил от 50 до 200 копий ДНК HBV/РНК HCV, а по помещениям до 50 копий. По результатам исследования в лаборатории введена ежедневная обработка приборов, а также после постановки роторов и штативов. Генеральные уборки проводятся еженедельно. Рабочие боксы и центрифуги обрабатывают ежедневно в конце рабочего дня хлорсодержащими препаратами. Эти мероприятия позволили снизить уровень загрязнения продуктами амплификации до 10 копий/реакция на рабочих поверхностях оборудования и привели к отрицательному результату по помещениям.

*О.Ю. Сильвейстрова, Э.А. Домонова, О.Ю. Штулина.* **Валидация набора реагентов для количественного определения ДНК вируса Эпштейна–Барр методом полимеразной цепной реакции с гибридно-флуоресцентной детекцией.** ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

На современном этапе лабораторная диагностика инфекционных заболеваний невозможна без использования молекулярно-биологических методов. Предприятия-изготовители предлагают большое количество разнообразных наборов реагентов для выполнения данных исследований в подавляющем большинстве не имеющих единой величины измерений. Ранее в ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора проведена валидация наборов реагентов «АмплиСенс<sup>®</sup> CMV-скрин/монитор-FL», «АмплиСенс<sup>®</sup> Parvovirus B19-FL» относительно международных стандартов ВОЗ (Сильвейстрова О.Ю. и др., 2013).

Цель работы – валидация набора реагентов «Ампли-Сенс<sup>®</sup> EBV-

скрин/монитор-FL» (ПУ ФСР № 2010/09503) относительно международного стандарта ВОЗ (1st WHO International Standard for Epstein–Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques, NIBSC code: 09/260 (Version 2.0, Dated 12/01/2012), Великобритания). Стандарт ВОЗ представляет собой лиофилизированный образец ДНК EBV (штамм B95-8, тип 1) с концентрацией 5·10<sup>6</sup> МЕ/мл, разведенный в универсальном буфере, содержащем Tris-HCl, человеческий сывороточный альбумин и трегалозу. Осуществляли три серии независимых экспериментов согласно МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (2009) в одинаковых условиях. Для проведения измерений использовали набор реагентов «АмплиСенс<sup>®</sup> EBV-скрин/монитор-FL» и стандартный образец предприятия (СОП) № 101 ПКО ДНК EBV с концентрацией 1,04·10<sup>7</sup> копий/мл (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Пятикратные разведения международного стандарта ВОЗ и СОП проводили в диапазоне концентраций ДНК EBV от 10<sup>7</sup> до 10<sup>2</sup> на деионизованной стерильной воде. Постановки ПЦР и анализ результатов выполняли на приборе с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени «Rotor-Gene Q» («Qiagen», ФРГ), в соответствии с инструкцией производителя. По результатам трех серий экспериментов средняя концентрация СОП ДНК EBV составила 6,79 lg копий/мл (s = 0,10) или 6,1·10<sup>6</sup> МЕ/мл. Таким образом, набор реагентов «АмплиСенс<sup>®</sup> EBV-скрин/монитор-FL» валидирован относительно международного стандарта ВОЗ. Коэффициент пересчета ДНК EBV из копий/мл в МЕ/мл для данного набора реагентов составил 1,7.

*О.Ю. Штулина, А.П. Сафонова, Н.А. Хромова, О.В. Белякова, Г.А. Штулин.* **Разработка многоуровневой системы внутрилабораторного контроля качества в молекулярно-биологической лаборатории.** ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Поскольку внешний контроль качества лабораторных исследований проводится редко и не охватывает всего перечня молекулярно-биологических исследований, внутрилабораторный контроль качества (ВЛКК), организованный в лаборатории, является важнейшим инструментом в обеспечении качества выполняемых исследований. ВЛКК должен охватывать все этапы анализа – преаналитический, аналитический и постаналитический. Для этого используются различные контрольные материалы – прежде всего контрольные образцы, входящие в состав набора реагентов. Реже используются производственные контроли и контрольные панели, их необходимо закупать, перечень ограничен. Контрольные образцы можно также изготавливать самостоятельно, но при этом они должны быть хорошо охарактеризованы и стабильны при хранении.

Цель работы – разработать многоуровневую систему ВЛКК, позволяющую контролировать все этапы ПЦР-анализа. Определить перечень необходимых контрольных образцов, охватывающих весь спектр лабораторных исследований, и периодичность их использования. Первый уровень ВЛКК – ежедневное слежение за положительными и отрицательными контролями, которые входят в состав набора реагентов. Второй уровень – использование контрольных материалов с известной концентрацией ДНК/РНК, адекватных клиническим образцам – проводится ежедневно. Третий уровень – использование контрольных образцов, зарегистрированных в ЛИС как пробы от пациентов – проводится 1 раз в неделю, 1 раз в месяц. Четвертый уровень – «валидационный», используется при введении новой лабораторной услуги, при необходимости проверить соответствие результатов исследований между разными методами исследования или при подозрении на сбой в выполнении уже налаженной методики. Проводится 1 раз в три–шесть месяцев, раз в год. Разработанная система ВЛКК позволяет своевременно выявлять ошибки в работе или организации процесса, корректировать и предупреждать их.

*С.Б. Яцышина, Т.В. Сничак<sup>1</sup>, Л.К. Катосова<sup>2</sup>, С.С. Ким<sup>3</sup>, М.Н. Прадед, И.В. Зубкова<sup>2</sup>.* **Комплексная этиологическая диагностика внебольничной пневмонии у детей.** ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, <sup>1</sup>ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, <sup>2</sup>ФГБУ Научный центр здоровья детей РАМН, Москва, <sup>3</sup>ДП № 138, Москва

Клинико-рентгенологическая картина при внебольничной пневмонии (ВП) у детей не всегда позволяет даже ориентировочно судить об этиологии болезни, что затрудняет выбор адекватной терапии.

Цель работы – оценка эффективности комплексной этиологической лабораторной диагностики и определение доли вирусов в спектре возбудителей ВП у детей. Обследовано 56 детей (1-17 лет) с рентгенологически подтвержденной ВП средней тяжести. Трахеальный аспират (39 проб) и мазки из ротоглотки (56 проб), полученные у детей до антибиотикотерапии, подвергались бактериологическому исследованию и ПЦР с наборами производства ФБУН ЦНИИЭ для обнаружения РНК вирусов гриппа А (InfA) и В; респираторно-синциального вируса (RSv), метапневмовируса (Mpv), коронавирусов, вирусов парагриппа 1–4, риновирусов (Rv), ДНК аденовирусов (Adv), бокавируса, *Mycoplasma pneumoniae* (M.pn.) и *Chlamydomphila pneumoniae* (C.pn.). Методом ИФА тестировали парные сыворотки на антитела к M.pn. и C.pn. («Savyon Diagnostics», Израиль и «ELISA-medac», Германия). В качестве контроля исследовались мазки из носо-ротоглотки 474 условно здоровых детей. По совокупности исследований этиология ВП определена у 53 (94,6%) детей. В этиологической

структуре ВП *Streptococcus pneumoniae* (S. pn.) составил 26,8%, M.pn. – 30,3%, C. pn. – 10,7%, вирусы – 32,1%. Тем не менее вирусы обнаружены у 71,7% детей, из них в виде моноинфекции – в 39,5%, ко-инфекции – в 7,9%, вирусно-бактериальной инфекции – в 52,6% случаев. НК вирусов и M. pn. чаще обнаружены в аспиратах, чем в мазках (78,9% против 34,2%,  $p < 0,001$ ). Среди вирусов превалировал RSv (22,6% против 2,1% в группе сравнения), Mpv, Adv и InfA обнаружены у больных (по 11,3%) чаще, чем в контроле (по 0,2 и 0,6%). Вирусно-бактериальные ассоциации чаще включали S. pn., чем M. pn. (73,3% против 23,5%,  $p < 0,01$ ). Положительные результаты ПЦР на M. pn. и C.pn. совпали с результатами ИФА. Таким образом, комплекс лабораторных методов исследования повышает эффективность этиологической диагностики ВП. Аспираты из трахеи являются наиболее адекватным биологическим материалом для ПЦР и бактериологических исследований при диагностике ВП у детей. Вирусная инфекция может быть причиной ВП у детей младшего возраста, или во многих случаях предшествует ВП, что объясняет высокую частоту обнаружения вирусов при ВП. В спектре вирусной этиологии ВП средней тяжести у детей в нашем исследовании (2008 г., 2011 г.) превалировал RSv.

## ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ – АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ И НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ

*А.П. Шепелин, О.В. Полосенко, И.И. Марчихина, Л.П. Шолохова.* **Разработка и оценка качества новых питательных сред на основе различных гидролизатов.** ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Минздрава РФ (Московская область, г. Оболонск)

Оснащение бактериологических лабораторий новыми качественными питательными средами (ПС) для успешного контроля качества воды, пищевых продуктов, клинического материала, лекарственных препаратов в соответствии с требованиями Фармакопеи США (USP XXIII, 1995), Европейской фармакопеи (EP II) и Государственной фармакопеи РФ дает возможность получения сопоставимых результатов анализов, проводимых отечественными и зарубежными лабораториями. В ФБУН ГНЦПМБ разрабатываются и совершенствуются новые ПС, сбалансированные по своему составу, характеризующиеся высоким качеством и экономичностью, не уступающие импортным аналогам. В течение последних лет были разработаны питательные среды с использованием питательных основ, выпускаемых в институте. Специфическую активность питательных сред оценивали общепринятыми методами. Тест-штаммы, выращенные на разработанных ПС, проверяли на видовое соответствие с помощью анализатора MALDI-TOF («Mikroflex, Bruker Daltonics», Германия) и идентификационных тест-систем.

Установили, что разработанные ПС по физико-химическим и биологическим показателям соответствуют требованиям, предъявляемым к средам-аналогам и имеют ряд преимуществ.

Замена в прописи цетримидного агара хлорида магния на сульфат в присутствии фосфатов калия усиливает образование пиоцианина; применение вместо сульфата калия 1- и 2-замещенных фосфатов улучшает дифференцирующие свойства ПС; её обогащение дрожжевым экстрактом стимулирует рост псевдомонад, а налидиксовая кислота усиливает ингибицию сопутствующей микрофлоры.

Использование обработанной по специальной технологии желчи повысило селективные свойства бульона Моссея, а эффективность накопления ряда энтеробактерий на этой среде намного выше, чем у сред-аналогов.

Введение малахитового зеленого в состав агара БФЛС усилило ингибирующую способность ПС.

Комбинация 1-изопропил-β-D1-тиогалактопиранозиды с 5-бром-4-хлор-3-индолил-β-D-глюкуронидом усилила интенсивность окрашивания колоний энтеробактерий в хромаре, что улучшило дифференциацию колиформных микроорганизмов и кишечных патогенов.

Включение в состав лактозного ТТХ-агара с тергитолом-7 додецилсульфата натрия повысило ее ингибиторные свойства. Упрощен способ приготовления ПС – исключены этапы автоклавирования и стерилизации раствора ТТХ методом мембранной фильтрации.

*А.П. Шепелин<sup>1</sup>, О.В. Полосенко<sup>1</sup>, Г.Г. Харсеева<sup>2</sup>, Э.Л. Алутина<sup>2</sup>, О.М. Бум<sup>2</sup>.* **Питательные среды для культивирования дифтерийных микробов.** <sup>1</sup>ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Минздрава РФ, г. Оболонск; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

В настоящее время для культивирования коринебактерий применяются транспортные среды, селективно-элективные среды (среда Тинсдаля-Садыковой, среда Клауберга II, кровяной теллуритовый агар, коринебакагар) и среды для накопления чистой культуры (сывороточный агар). В отделе питательных сред ФБУН ГНЦПМБ (Оболонск) разработана питательная среда - коринебакагар, содержащая стимулятор роста гемофильных микроорганизмов, полученный посредством ферментативного гидролиза суспензии черного альбумина, панкреатический гидролизат рыбной муки, глюкозу, агар и 2% раствор теллурита калия. Коринебакагар обладает по сравнению с кровяно-теллуритовым агаром улучшенными ростовыми свойствами: чувствительностью –  $10^7$ , скоростью роста – 19–20 ч, количеством колоний при посеве взвеси дифтерийных микробов из разведения  $10^6$  – 63–123.

Для выделения дифтерийных бактерий при минимальном их содержании в анализе была разработана на основе коринебакагара двухфазная питательная среда. Двухфазность и введение дополнительных стимуляторов роста способствовали повышению показателей ростовых свойств питательной среды за счет сокращения логарифмической фазы роста дифтерийных микробов в процессе культивирования.

*И.Ю. Егорова, Ю.О. Селянинов.* **Дифференциально-диагностические среды для выявления гемолитической активности у бактерий с низкой продукцией данного признака.** ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии, РАСХН (г. Покров)

Гемолитическая активность относится к основным факторам патогенности многих бактерий и используется в качестве диагностического признака. Однако, несмотря на значимость гемолитинов, их выявляемость у некоторых микроорганизмов вследствие низкого уровня экспрессии затруднена. К данной группе микроорганизмов, например, относятся листерии, сибиреязвен-