

**Таблица №1.** Частота выявления генов, кодирующих различные факторы вирулентности и их комбинаций, у коллекционных изолятов *Y enterocolitica*.

ail	yst	yadA	Внешняя среда (n=218)	Человек (n=82)
+	+	+	9 (4,1%)	12(14,6%)
+	+	-	24(11,0%)	23(28,0%)
-	+	-	11(5,0%)	5(6,1%)
-	+	+	1(0,5%)	0(0,0%)
-	-	-	173(79,4%)	42(51,2%)

**Обсуждение:** Факт выделения изолята из окружающей среды не может свидетельствовать об отсутствии у него потенциальных факторов вирулентности. Выявление изолята из клинического материала хоть и свидетельствует о его способности к эффективной колонизации ЖКТ, однако также не может являться доказательством наличия у него вирулентных свойств. Однако достоверное различие по более высокой частоте выявления в материале от пациентов комбинации всех трех детектируемых генов ( $p=0,003$ , Fisher's Exact Test) либо комбинации *ail* и *yst* ( $p=0,0005$ , Fisher's Exact Test) может косвенно свидетельствовать о их значимости в формировании манифестных форм кишечного иерсиниоза.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В НАДЗОРЕ ЗА ПОЛИОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Подколзин А.Т., Шипулин Г.А., Малеев В.В.

ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

Методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) уже давно нашли широкое применение в надзоре за энтеровирусной инфекцией, вызванной неполомиелитными энтеровирусами. Основой надзора за полиовирусами традиционно являлись вирусологические методы в комплексе с применением реакции нейтрализации и ИФА для внутритиповой дифференцировки полиовирусов (ITD). С 2004 года МАНК были рекомендованы ВОЗ как тест для ITD (WHO Polio Laboratory Manual 4th Edition 2004). С 2008 года ВОЗ рекомендовала для решения данной задачи применение МАНК в формате RealTime PCR. Опыт применения RealTime PCR для ITD в 2008-2009 годах показал 30% повышение эффективности ITD для штаммов полиовирусов вакцинного происхождения (VDPV) и позволило, в соответствии со

стратегическим планом GPEI (Global Polio Eradication Initiative) на 2011-2012 годы рассматривать данный метод как эффективный инструмент детекции всех полиовирусов, позволяющий повысить оперативность работы в очагах групповой заболеваемости (GPEI Annual Report – 2009). Однако предлагаемые ВОЗ в настоящее время алгоритмы применения МАНК основаны на первичном культуральном этапе работ с применением клеточных линий RD и L20B с последующим тестированием культуральной жидкости. Данные алгоритмы, повышая эффективность ITD, не решают проблем большой длительности, высокой стоимости вирусологических тестов и малой возможности их масштабирования для проведения популяционных исследований. В связи с вышеизложенным, в 2009 году в ФГУН ЦНИИ эпидемиологии было начато производство экспериментальной партии комплекта реагентов Амплисенс Poliovirus-FL, предназначенных для детекции энтеровирусов группы С (HEV-C, включающие полиовирусы) и вакцинных полиовирусов (Sabin 1/2/3) в образцах клинического материала. Следует отметить, что данный тест не является заменой вирусологических методов исследования в надзоре за полиовирусами, но позволяет существенно сократить объемы требуемых вирусологических исследований. **Целью** настоящей работы явилась оценка возможности применения данного теста для мониторинга циркуляции полиовирусов. В соответствии с данной целью решались следующие **задачи**: оценить распространенность энтеровирусов группы С (включая полиовирусы) и вакцинных штаммов полиовирусов при отсутствии циркуляции в популяции диких типов полиовирусов, оценить возможность выявления данным тестом штаммов полиовирусов дикого типа при его носительстве в популяции.

**Материалы и методы:** В исследование были включены пациенты детского возраста, с различной патологией, госпитализированные в стационары г Москвы в 2008-2009 гг. Исследовались образцы фекалий и спинномозговой жидкости (у пациентов с серозными менингитами). Для оценки возможности выявления штаммов полиовирусов дикого типа было проведено исследование образцов фекалий от лиц, контактировавших с пациентом с синдромом острого вялого паралича (ОВП) (экстракция НК и р-ция обратной транскрипции проводилась на территории Таджикистана, ПЦР и секвенирование образцов – в ФГУН ЦНИИ эпидемиологии).

**Результаты:** Из 459-ти образцов фекалий РНК энтеровирусов была выявлена в 44-х образцах, энтеровирусов группы С (HEV-C) – в 11-ти образцах, вакцинных штаммов полиовирусов – в 8 образцах. Три образца (HEV-C «+», Sabin «-»), которые по данному алгоритму должны расцениваться как подозрительные на содержание полиови-

русов дикого типа, были исследованы с применением метода прямого секвенирования VP1-участка их генома. В результате этой работы была установлена их принадлежность к неполиомиелитным HEV-C энтеровирусам (Coxsackie A 24).

При исследовании 678-ми образцов спинномозговой жидкости были выявлены 78 образцов, содержащих РНК энтеровирусов. Энтеровирусы группы С в данных образцах выявлены не были.

При исследовании образцов фекалий, полученных от четырех контактировавших с больным ОВИ лиц (предварительно охарактеризованных как носители) во всех образцах были получены положительные результаты в тесте на энтеровирусы группы С (диапазон Ст - 25,3 - 30,6) и отрицательные - в тесте на вакцинные полиовирусы (HEV-C «+», Sabin «-»). Секвенирование участка генома VP1, проведенное на кДНК, выделенной из клинических образцов позволило отнести данный полиовирус к штаммам индийской ветки полиовирусов дикого типа, серотипа 1 ((VO1150) 2489-3145):

CAGATGCTCGAGAGCATGATTGACAACACAGTCCGCGAAAC  
 AGTAGGGGCTTCAACCTCTCGGGACGCTCTCCCAAACACCGAA  
 TCCAGCGGCCAGCCCACCTAAGGAAATTCGGCGCTCACCG  
 CAGTAGAGACGGGAGCCACAACCCGTTGGTTCCSTCAGACAC  
 CGTACAAACTAGACATGTTCATCCAGCACAGATCGCGGTCAAG  
 TCCAGTGTGAGTCTTCTTCGCACGCGGTGCGTGTGTACCAT  
 AATGACAGTGGACAATTCGGCCTCCACTACGTCAAAGACAAG  
 TTATTCTCTGTGTGGAAAATCACGTACAAGGACACTGTGCAGTT  
 GAGGAGAAAATTAGAGTTTTTCACTTATTCAGGTTTGACATG  
 GAGTTCACTTTTGTAAATCACAGCAAACSTTTACAGAGACCAATAA  
 TGGACATGCTTTGAACCAGGTSTATCAAATCATGTATGTGCCAC  
 CAGGCGCACCAGTGCAGAAAAGTGGGATGATTATACTTGGCA  
 AACATCATCGAACCCATCAATTTTTCTACACATACGGCACAGCAC  
 CGGCCCGCATCTCCGTACCGTACGTTGGTATATCAAATGCSTAC  
 TCACASTTTTATGACGGGTTTTCTAAAGTACCGTTGAAAGATCA  
 ATCAGCG

**Заключение:** Испытания разработанного теста на образцах клинического материала показали его высокую эффективность. При проведении скрининговых популяционных исследований возможно сокращение объемов вирусологических тестов по выявлению полиовирусов до 9,6% от общего количества исследуемых клинических образцов. Также разработанный тест позволит сократить объем вирусологических тестов на 0,65% по выявлению образцов, подозрительных на содержание полиовирусов дикого типа на территориях, свободных от циркуляции диких полиовирусов. Тестирование образцов клинического материала от контактных лиц, выделявших дикий полиовирус

1 типа, позволило характеризовать данный метод как эффективный способ выявления носителей в очагах групповой заболеваемости полиомиелитом.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НОРОВИРУСОВ–ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ ГАСТРОЭНТЕРИТОВ В МИНСКЕ В 2009–2010 ГГ.

Поклонская Н.В., Амвросьева Т.В., Игнатъев Г.М., Гринкевич П.И.,  
Безручко А.А., Хило А.Н.

ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», Минск, Республика Беларусь

**Введение.** Норовирусы (сем. *Caliciviridae*, род *Norovirus*) вносят значительный вклад в развитие острых гастроэнтеритов (ОГЭ), уступая по частоте вызываемых ими заболеваний у детей только ротавирусам, и являются доминирующими этиологическими агентами вспышек, в том числе пищевых, во всех возрастных группах. Исходя из этого, **целью** представленной работы было изучение вклада норовирусов (НВ) в формирование спорадической заболеваемости ОГЭ у детей г. Минска и Минской обл., идентификация их доминирующих геновариантов и сравнение с вирусами, вызвавшими групповую заболеваемость в тот же период времени.

**Материалы и методы.** Дифференциальную диагностику норовирусной инфекции проводили у детей в периоды спорадической заболеваемости в 2009–10 гг., а также у взрослых во время 4-х вспышек ОГЭ. Всего было обследовано 190 детей и 41 взрослый пациент. Для обнаружения маркеров кишечных вирусных инфекций в исследуемых образцах методом ПЦР и ОТ-ПЦР использовали диагностические тест-системы АмплиСенс (норо-, рота-, астро-, адено- и энтеровирусы), а также вариант «in house» ОТ-ПЦР (саповирусы). Проведено 983 исследования, в том числе в отношении норовирусов – 213, аденовирусов – 134, астровирусов – 213, саповирусов – 147, ротавирусов – 157, энтеровирусов – 119. Для генотипирования НВ, обнаруженных в пробах фекалий, использовали фрагмент гена РНК-полимеразы (RdRp), локализованный в 3'-участке RdRp. Матрицей для проведения реакции секвенирования являлся продукт амплификации 340 нт. Поиск гомологичных последовательностей в базе данных NCBI GenBank осуществляли с помощью программы BLAST. Компьютерный анализ последовательностей (множественное выравнивание, определение оптимальной модели нуклеотидных замен, филогенетическую реконструкцию и определение достоверности ее