

совых международных мероприятий в различных странах, в том числе в Российской Федерации, может явиться тем событием, когда инфекционный больной (в т.ч. чумой) ненамеренно явится источником болезни для окружающих.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнов Ю.И., Мишанькин Б.Н., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Тлатов А.Г. Чума в США Эпидемиол. инф. болезни. 2006, (1): 45-48.
2. Домарадский И.В. Чума. М., 1998.
3. Международные медико-санитарные правила (ММСП, 2005). ВОЗ, Женева, 2006.
4. Отчет о состоянии здравоохранения в мире, 1996 г. Отчет генерального директора. ВОЗ, Женева, 1996.
5. Barnes A.M. WHO Informal Consultation on Plague Surveillance and Control. BVI/1979. Working paper N1 — Geneva, 1979.
6. Gruver K.S., Guthrie J.W. Parasites and selected diseases of collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the trans-Pecos region of Texas *J. Wildl. Dis.* 1996, 32 (3): 560-562.
7. Koster F.T. *Drag. Ther. Clin. Ther. Hosp.* 1984, 9 (9): 64-71.
8. Perlman D.C., Primas R., Raucher B. et al. Imported Plague — New York City, 2002. *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2003, 52 (31): 725-728.
9. Plague in the Americas. WHO, Washington, 1965.
10. Tikhomirov E. Epidemiology and Distribution of Plague. *Plague Manual: Epidemiology, Distribution, Surveillance and Control. WHO/CDS/CSR/EDS/99.2.* — Geneva, 1999.
11. Velemirovič B. *CRC Handbook Series in Zoonoses.* Vienna, 1979, 1: 560-596.
12. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1961, (33): 365.
13. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1966, (47): 608.
14. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1970, (25): 273-274.
15. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1970, (31): 326-327.
16. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1970, (36): 382.
17. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1973, (36): 357.
18. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1983, (39): 301.
19. *Wkly Epidemiol. Rec. (WER).* 1991, (44) 321-324.

Поступила 25.04.16

Контактная информация: Арутюнов Юрий Иванович, к.м.н.,
344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40, р.т. (863)240-27-03

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

*Т.П.Шмелькова, Е.В.Сазанова, А.Л.Кравцов, Т.А.Малюкова,
Ю.А.Попов, А.В.Бойко, З.Л.Девдариани, Т.Н.Шуковская*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ IN VITRO: СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Проанализированы различные методы оценки вирулентных свойств возбудителей инфекционных болезней in vitro: молекулярно-генетические, культурально-биохимические, иммунологические, физиологические. Отмечены преимущественное использование молекулярно-генетических методов, целесообразность комплексного подхода, актуальность поиска новых информативных показателей вирулентности. Исследование биологических свойств патогенов in vitro является первым скрининговым этапом оценки их вирулентности.

Журн. микробиол., 2016, № 6, С. 100—108

Ключевые слова: вирулентность *in vitro*, патогенные микроорганизмы, факторы вирулентности, методы оценки вирулентности

T.P.Shmelkova, E.V.Sazanova, A.L.Kravtsov, T.A.Malyukova,
Yu.A.Popov, A.V.Boiko, Z.L.Devdariani, T.N.Schukovskaya

DETERMINATION OF VIRULENCE PROPERTIES OF PATHOGENIC MICROORGANISMS *IN VITRO*: STATE-OF-ART

Russian Research Institute for Plague Control «Microb», Saratov, Russia

Various methods for evaluation of virulence properties of causative agents of infectious diseases *in vitro* were analyzed: molecular-genetic, cultural-biochemical, immunologic, physiologic. Predominant use of molecular-genetic methods, expediency of a complex approach, relevance of search of novel informative parameters of virulence are noted. Study of biological properties of pathogens *in vitro* is the first screening stage of evaluation of their virulence.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 6, P. 100—108

Key words: *in vitro* virulence, pathogenic microorganism, virulence factors, methods of evaluation of virulence

Оценку вирулентности микроорганизмов и их эпидемической значимости проводят при лабораторной диагностике возбудителей инфекционных заболеваний в лабораториях регионального и федерального уровня (МУК 4.2.2870-11; 4.2.2939-11; 4.2.2940-11; 4.2.3010-12) при подготовке и проведении международных массовых мероприятий, эпидемиологическом расследовании чрезвычайных ситуаций биологического генеза [18]. При анализе клинического материала определение патогенного потенциала возбудителей оппортунистических и нозокомиальных инфекций необходимо для прогнозирования вероятности развития заболевания, риска возникновения осложнений при манифестной форме инфекции, а также при разработке новых технологий лабораторной диагностики, профилактики и терапии инфекционных болезней [4, 7].

«Золотым стандартом» методов оценки вирулентности является определение LD_{50} — средней смертельной (летальной) дозы микробных клеток, вызывающей гибель половины инфицированных животных. В качестве лабораторных животных чаще всего используют мышей, морских свинок, кроликов. Подбор лабораторных животных для определения вирулентности возбудителей антропонозных инфекций вызывает особую трудность [31]. При оценке вирулентности возбудителей зоонозных инфекций, таких как чума, для повышения информативности необходимо использовать два вида лабораторных животных — мышей и морских свинок (МУ 3.1.3.2355-08). Кроме того, в литературе представлены альтернативные биологические модели для определения вирулентных характеристик патогенов — растения, насекомые, простейшие [9, 27, 32, 41, 42, 49]. Однако вследствие различной физиологии не всегда данные о вирулентности возбудителя, полученные на биомоделях, отражают патогенность штамма для человека. Так, по составу и субстратной специфичности лейкоцитарных протеиназ, от которых зависит, в частности, чувствительность макроорганизма к бактериальным эндотоксинам, люди в значительной степени отличаются от мышей и морских свинок [11].

Единичные исследования по оценке вирулентных свойств патогенов *in vitro* появились еще в середине прошлого века [33], в настоящее время эта практика получила дальнейшее развитие, что объясняется не только гуманностью и этикой проводимых научных исследований, но и очевидной экономической целесообразностью.

Все методы, используемые при этом подходе можно разделить на молекулярно-генетические, культурально-биохимические, иммунологические, физиологические.

Молекулярно-генетические методы основаны на обнаружении генетических детерминант факторов патогенности. В 80-е годы прошлого века для этих целей применяли генетическое зондирование, в настоящее время, в основном, полимеразную цепную реакцию. Так, дифференциацию авирулентных и вирулентных штаммов *Yersinia pestis* проводят по выявлению генов *igp2* (остров патогенности хромосомной области пигментации), *hmsH* (*hms*-локус хромосомной области пигментации), *IcrV* (плазмида *pCad*) с использованием коммерческого набора реагентов [12, 15]. Токсигенность и эпидемическую значимость возбудителя холеры определяют по детекции генов холерного токсина *ctxAB* и токсин-корегулируемых пилей адгезии *tcpA* [12]. Вирулентные штаммы *Bacillus anthracis* всегда несут плазмиды *pXO1* (ген *pagA* определяет синтез протективного антигена) и *pXO2* (ген *capA* — один из генов, необходимых для синтеза полиглутаминовой капсулы), вакцинные штаммы содержат одну плазмиду *pXO1*, авирулентные штаммы либо лишены этих плазмид, либо содержат только одну плазмиду *pXO2* [37]. Вирулентные штаммы возбудителя туляремии содержат ген *iglC*, который отвечает за синтез белка размером 23 кДа, играющего важную роль в персистенции патогена в макрофагах [30]. Инактивация гена *pdpD* приводит к снижению вирулентности *Francisella tularensis*, а гена *rdpA* — к аттенуированию штамма [38]. Для обнаружения патогенных буркхольдерий рекомендованы кластер генов *LPS*, кодирующий капсульный липополисахарид, гены системы III-типа секреции (*TTS1*), флагеллярный ген, *house-keeping* гены *pagK* и *gltB* [12]. А.Л. Гинцбург и др. [6] определяли генетические маркеры вирулентности условно патогенных энтеробактерий, ассоциированных с генами ингибиторов лизоцима и генотоксичности. Патогенные и сапрофитные лептоспиры различают по ПЦР-детекции гена — маркера вирулентности, кодирующего липопротеин внешней мембраны *LipL32* [17]. Вирулентности *Staphylococcus aureus* оценивают по наличию гена *agr*, регулирующего экспрессию ряда факторов патогенности [39], генов колонизации *clfA* и *clfB*, детерминирующих процесс прикрепления стафилококков к эпителиоцитам слизистой оболочки носовых ходов [20, 48]. Патогенность изолятов *Gardnerella vaginalis* характеризовалась экспрессией гена *vly*, определяющего синтез вагинолизина [24]. Потеря детерминант системы секреции VII типа (*ESX-1* системы) у *Mycobacterium tuberculosis* ведет к аттенуации штамма [25]. Генетические маркеры патогенности выявлены у возбудителей псевдотуберкулеза, кишечного иерсиниоза (МУ 3.1.1.2438-09) и других патогенов. Во всех перечисленных выше примерах, как и во многих других случаях, детекцию генов вирулентности осуществляли посредством полимеразной цепной реакции со специфическими олигонуклеотидными праймерами. Кроме того, в последнее десятилетие детерминанты вирулентности выявляют с помощью секвенирования. Так, анализ полных нуклеотид-

ных последовательностей ДНК патогенных и непатогенных для человека видов бруцелл выявил отсутствие у непатогенных видов девяти областей генома, кодирующих вероятные факторы вирулентности [43].

Культурально-биохимические методы базируются на выявлении продуктов экспрессии генов вирулентности. Дифференциацию штаммов *Y. pestis* на вирулентные и авирулентные проводят по признаку пигментсорбции. На синтетической среде Джексона-Берроуза с геминимом или цветной дифференциально-диагностической полусинтетической среде HmsD вирулентные бактерии вырастают в виде небольших черно-бурых колоний (Pgm^+), а бактерии, утратившие вирулентность, образуют более крупные бесцветные колонии (Pgm^-) [12]. Е.И. Еременко др. [8] разделяют культуры *B. anthracis* на 5 групп: высоковирулентные, умеренно вирулентные, слабо вирулентные, авирулентные и апатогенные по продукции экзотоксина и капсулы. Регистрацию продукции капсулы проводят по морфологии колоний в атмосфере CO_2 и в обычных условиях. Капсулообразование сопровождается характерным ростом возбудителя в виде гладких слизистых колоний, в мазках из которых при микроскопии обнаруживаются капсульные бациллы. Продукция экзотоксина визуализируется по концентрическим ореолам иммунопреципитации в виде белых тонких колец при росте возбудителя на специальной среде «Сопэк» (среда для сочетанного определения продукции экзотоксина и капсулы). По образованию ободка (опалесцирующего просветления) вокруг колоний *Candida albicans* определяют наличие фосфолипидной активности патогена, необходимой для реализации его вирулентных свойств [7]. Дифференциацию патогенных и сапрофитных лептоспир проводят по результатам выращивания культур при температуре $13^\circ C$ или в присутствии 8-азагуанина. В этих условиях хорошо размножаются только сапрофитные лептоспиры [12]. Идентификацию вирулентных иерсиний — возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза — осуществляют по их способности к аутоагглютинации (образование рыхлого хлопьевидного осадка при культивировании в жидкой среде) и по отсутствию роста на средах с дефицитом кальция — кальцийзависимость роста (МУ 3.1.1.2438-09). Эпидемическую значимость холерных вибрионов с делением штаммов на токсигенные и атоксигенные оценивают по их липазной активности с помощью антилипидного диагностикума на полимерных сферах, триацилглицеролипидной активности возбудителя на плотных питательных средах [12]. Клинические изоляты *Enterococcus faecalis* способны к инактивации лактоферрина и антигемоглобиновой активности, что используют при дифференциации патогенных и апатогенных штаммов [19]. Вирулентный потенциал культур *S. aureus* определяют по ассоциированной с патогенностью антикарнозиновой активности [5]. Рибонуклеазная активность возбудителей сапронозных инфекций (*Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*), изолированных из клинического материала, была выше, чем у штаммов этих же видов, выделенных из объектов окружающей среды [1].

Иммунологические методы используют для оценки результатов взаимодействия изучаемых микроорганизмов с материалом макроорганизма-хозяина. Эпидемически значимые токсигенные штаммы *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп в отличие от атоксигенных не лизируют эритроциты барана в пробе Грейга (МУК 4.2.2218-07), способны к адгезии эритроцитов крови человека в мазке [2]. В процессе инкубации штаммов *F.tularensis* в нормальной (неим-

мунной) сыворотке человека только клетки авирулентных штаммов взаимодействуют с комплементом сыворотки. Детекция реакции идет по высвобождению внутриклеточного фермента — кислой фосфатазы [12]. Кроме того, вирулентные и авирулентные штаммы *F. tularensis* обладают различной устойчивостью к бактерицидному действию нормальной сыворотки человека. Клетки вирулентных штаммов возбудителя туляремии в отличие от авирулентных после инкубации в сыворотке хорошо растут на плотной питательной среде [12]. Реакция агглютинации является экспресс-методом, позволяющим дифференцировать вирулентные штаммы *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis* от авирулентных (МУ 3.1.1.2438-09). Для исследования патогенных и непатогенных штаммов *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* применяют ракетный иммуноэлектрофорез с целью обнаружения антигенного комплекса 8 — основного фактора патогенности возбудителей сапа и мелиоидоза [13]. Вирулентные штаммы *Y. pestis* характеризуются устойчивостью к перевариванию макрофагами [16]. Согласно нашим данным, клетки авирулентных штаммов *Y. pestis* не повреждают лейкоциты крови человека *in vitro*, тогда как клетки вирулентных штаммов вызывают гибель до 95% лейкоцитов по результатам проточно-цитометрического мониторинга ДНК-флуоресценции клеток крови после их взаимодействия с возбудителем чумы. Вирулентные штаммы *B. anthracis* отличают от авирулентных по длительности пребывания в цитоплазме макрофага. Выход вегетативных клеток вакцинного штамма СТИ-1 из макрофагов наблюдали через 24 часа инкубации, вегетативные клетки вирулентного штамма выходили из макрофагов к 6 часам [14]. Вирулентность *Porphyromonas gingivalis* оценивают при моделировании раневой инфекции *in vitro*. Возбудитель гингивитов, в отличие от других оральных бактерий, ингибирует миграцию эпителиальных клеток, следовательно, препятствует заживлению раны [34]. Патогенные штаммы *G. vaginalis* обладают большей цитотоксичностью по отношению к клеточной линии HeLa, чем непатогенные, и способностью замещать *Lactobacillus crispatus* в монослое клеток HeLa [24]. Высоковирулентные штаммы *Cryptococcus neoformans*, по сравнению со слабовирулентными, индуцируют более интенсивную выработку ИЛ-13, ИЛ-10 и ИЛ-17 перитонеальными макрофагами мышей [21]. Факторы вирулентности бактерий могут оказывать нейтрализующее влияние на активность нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) — одного из наиболее эффективных механизмов захвата и киллинга патогенных микроорганизмов [23]. A. Seper et al. [45] установили, что при колонизации кишечника возбудитель холеры продуцирует во внеклеточное пространство две нуклеазы — Dns и Xds для разрушения НВЛ. Все штаммы, дефектные по продукции данных нуклеаз, быстро погибают в нейтрофильных ловушках. Аналогичные нуклеазы выявлены и у *Streptococcus pneumoniae* [47]. Согласно Riyara D. et al. [44] повышенный уровень образования НВЛ регистрируют при контакте нейтрофилов с клетками *B. pseudomallei*, дефектными по синтезу полисахаридной капсулы и/или по продукции факторов вирулентности, относящихся к секреторной системе III типа. *Aspergillus fumigatus* продуцирует такие медиаторы вирулентности как экзополисахарид галактозаминогалактан и N-ацетил-галактозамин, повышающие устойчивость возбудителя к нейтрофильным ловушкам [35].

Физиологические методы основаны на изменении метаболизма вирулентных

штаммов патогенов. Согласно нашим данным, культуры вирулентных и авирулентных штаммов *Y. pestis* имеют различную динамику роста. Отмечен более скоростной выход (до 48 ч) клеток вирулентных штаммов возбудителя чумы из состояния репликации ДНК в отличие от клеток авирулентных штаммов, «задерживающихся» в экспоненциальной фазе роста, что, очевидно, соответствует понятию «быстрого» роста вирулентных штаммов в организме хозяина и увеличивает шансы развития инфекционного процесса. Выявлены различия в содержании суммарного белка и ДНК в клетках вирулентных и авирулентных штаммах *Legionella pneumophila*, отношение интенсивности красной флуоресценции (белок) к зеленой (ДНК) у авирулентных штаммов выше, чем у вирулентных [46]. Способность патогенных микроорганизмов к образованию биопленки также расценивают как один из факторов патогенности [28, 40, 50]. Но данное положение не однозначно, у пневмококков «биопленочные» клетки менее вирулентны, чем «планктонные» [10, 22]. Клинические изоляты *G. vaginalis*, выделенные от женщин с бактериальным вагинозом и без него, не имеют статистически установленной достоверности различий в индексах образования биопленки [24].

Таким образом, к настоящему времени апробирован и успешно используется широкий спектр подходов к оценке вирулентных свойств патогенных бактерий *in vitro*. В результате геномного, протеомного и серологического анализов возбудителей определяют ранее неизвестные факторы вирулентности [26, 29]. Проведенный анализ существующих технологий показывает полное доминирование молекулярно-генетических методов в числе прочих, но, кроме того, что проведение подобных анализов достаточно затратно, наличие генетических детерминант факторов патогенности не всегда сопровождается их фенотипическим проявлением. Следовательно, данные молекулярно-генетического тестирования необходимо подкреплять биохимическим типированием возбудителей. Однако только в условиях чувствительного организма возможно полное проявление возбудителем своего вирулентного потенциала, многообразия тактики, направленной на выживание патогена в агрессивной среде. В связи с этим, при оценке вирулентности *in vitro* используют комплексный анализ, сопоставляя его с результатами экспериментов на биомоделях. Например, при определении вирулентности клинических изолятов *Salmonella enteritidis* наряду с вычислением LD_{50} для мышей проводили анализ нескольких показателей вирулентности *in vitro*: выживаемость возбудителя в кислой среде, в активированных перитонеальных макрофагах мыши, в присутствии активированного кислорода и азота, в условиях дефицита питательных веществ (продолжительная стационарная фаза роста); способность к инвазии в клетки эпителия на модели клеточной линии HeLa [36]. При сравнительном анализе факторов персистенции (патогенности) вибрионов и аэромонад различной экотопической принадлежности определяли комплекс показателей: гемолитическую активность, липазную активность, лецитиназную активность, ДНКазную и РНКазную активность, антилизоцимную активность, активность против интерферона, антикомплементарную активность [3].

Исследование биологических (биохимических, генетических, физиологических) свойств патогенов в системе *in vitro* является первым скрининговым этапом оценки их вирулентности. Поиск информативных показателей виру-

лентности микроорганизмов актуален и имеет большой практический выход. В то же время, классический метод с использованием традиционных, адекватных для каждого конкретного возбудителя биомоделей, остается необходимым звеном лабораторной диагностики инфекционных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко А.В., Бойко О.В. Рибонуклеазная активность бактерий как фактор персистенции некоторых возбудителей сапронозных инфекций. Журн. микробиол. 1997, 4: 71-73.
2. Брилис В.И., Брилине Т.А., Ленцер А.А., Ленцер Х.П. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. Лаб. дело. 1986, 4: 210-212.
3. Бухарин О.В., Бойко А.В., Журавлева Л.А. Факторы персистенции и (или) патогенности вибрионов и аэромонад различной экологической принадлежности. Журн. микробиол. 1998, 5: 30-33.
4. Бухарин О.В., Вальшева И.В., Карташова О.Л., Сычева М.В. Характеристика вирулентного потенциала клинических изолятов энтерококков. Журн. микробиол. 2013, 3: 12-18.
5. Бухарин О.В., Чернова О.Л., Матюшина С.Б. Способность стафилококков к инактивации карнозина. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1999, 5: 545-546.
6. Гинцбург А.Л., Костюкова Н.Н. Аналитический обзор НИР, выполненных к 31 декабря 2013 г. в рамках комплексной проблемы, координируемой научным советом по микробиологии 46.0. Журн. микробиол. 2014, 4: 120-125.
7. Горовиц Э.С., Карпунина Т.И. Морфометрический анализ в оценке вирулентности *Candida albicans*. Клиническая лабораторная диагностика. 2005, 9: 29-30.
8. Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Фунтикова Т.Н. Способ дифференциации штаммов сибиреязвенного микроба по вирулентности *in vitro*. Патент РФ на изобретение 2101351, 1998.
9. Король Е.В., Меринова Л.К., Нехезина М.О., Шубникова Е.В. Цитотоксическое действие *Burkholderia serasia* на клетки *Tetrahymena pyriformis* при совместном культивировании. Вестник Волгоградского гос. мед. университета. 2014, 1 (49): 125-127.
10. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Пневмококковые био пленки как форма персистенции: образование, структура, роль в патогенезе, иммунный ответ. Журн. микробиол. 2015, 4: 55-62.
11. Кравцов А.Л. Проточно-цитофлуориметрическое исследование бактерицидных гранул в фагоцитах крови животных с различной видовой чувствительностью к экспериментальному заражению чумой. Журн. микробиол. 2015, 1: 23-31.
12. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырев (ред.). М., 201.
13. Напалкина Г.М., Корсакова И.И., Храпова Н.П., Пивень Н.Н., Ломова Л.В., Булатова Т.В. Дифференциация патогенных и непатогенных буркхольдерий с помощью ракетного иммуноэлектрофореза. Проблемы особо опасных инфекций. 2010, 4 (106): 37-38.
14. Носков А.Н. Молекулярные аспекты патогенеза сибирской язвы. Журн. микробиол. 2014, 4: 92-101.
15. Осина Н.А., Бугоркова Т.В., Кутырев В.В., Куклев В.Е. Набор и способ ускоренной идентификации чумного микроба с одновременной дифференциацией вирулентных и авирулентных штаммов *Yersinia pestis*, определением их плазмидного профиля. Патент РФ 2473701, 2013.
16. Пустовалов В.Л., Васильева Г.И., Киселева А.К. Устойчивость к фагоцитозу вирулентных штаммов чумного микроба в зависимости от температуры культивирования. Вопросы профилактики природноочаговых инфекций. Саратов, 1983, с. 16-21.
17. Самсонова А.П., Петров Е.М., Аляпкина Ю.С., Алексеева Н.В., Земская М.С., Терехов А.А., Гинцбург А.Л., Ананьина Ю.В. Ген, кодирующий липопротеин внешней мембраны LipL32, как генетическая мишень для разработки схем дифференциации и генотипирования лептоспир. Мол. генет. микробиол. вирусол. 2008, 1: 3-8.

18. Специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ): эволюция научной концепции и практического применения. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырев (ред.). ООО Буква, 2014.
19. Сычева М.В., Карташова О.Л. Биологические свойства энтерококков различного происхождения. Журн. микробиол. 2015, 2: 11-14.
20. Уткина Т.М., Попова Л.П., Карташова О.Л., Хазеева Г.Д., Халиуллина А.А. Фенотипическая характеристика и генетические детерминанты патогенности *Staphylococcus aureus*, выделенные у бактерионосителей, проживающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения воздушной среды. Журн. микробиол. 2015, 4: 35-40.
21. Филиппова Л.В., Фродова Е.В., Учеваткина А.Е., Васильева Н.В., Киселева Е.П. Продукция цитокинов макрофагами при взаимодействии со штаммами *Sructococcus neoformans* разной вирулентности *in vitro*. Проблемы медицинской микологии. 2011, 3: 45-49.
22. Blachette-Cain K., Hinojosa C.A., Akula Suresh Babu R. et al. *Streptococcus pneumoniae* biofilm formation is strain dependent, multifactorial, and associated with reduced invasiveness and immunoreactivity during colonization. mBio. 2013, 4 (5): e00713-00745.
23. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. Science. 2004, 303: 1532-1535.
24. Castro J., Alves P., Sousa C. et al. Using an *in-vitro* biofilm model to assess the virulence potential of bacterial vaginosis or non-bacterial vaginosis *Gardnerella vaginalis* isolates. Scientific Reports. 2015, 5: doi: 10.1038/srep11640.
25. Champion P.A.D. Disconnecting *in vitro* ESX-1 secretion from mycobacterial virulence. J. Bacteriol. 2013, 195 (24): 5418-5420.
26. Clark T.R., Noriega N.F., Bublitz D.C. et al. Comparative genome sequencing of *Rickettsia rickettsii* strains that differ in virulence. Infect. Immun. 2015, 83: 1568-1576. doi: 10.1128/IAI.03140-14.
27. D'Argenio D.A., Gallagher L.A., Berg C.A. et al. *Drosophila* as a model host for *Pseudomonas aeruginosa* infection. J. Bacteriol. 2001, 183: 1466-1471.
28. Domenech M., Ramos-Sevillano E., Garcia E. et al. Biofilm formation avoids complements immunity and phagocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. Infect. Immun. 2013, 81: 2606-2615.
29. Gat O., Grosfeld H., Ariel N. et al. Search for *Bacillus anthracis* potential vaccine candidates by a functional genomic-serologic screen. Infect. Immun. 2006, 74 (7): 3987-4001. doi: 10.1128/IAI.00174-06.
30. Golovliov I., Ericsson M., Sandström G. et al. Identification of proteins of *Francisella tularensis* induced during growth in macrophages and cloning of the gene encoding a prominently induced 23-kilodalton protein. Infect. Immun. 1997, 65 (6): 2183-2189.
31. Humphrey T.J., Williams A., McAlpine K. et al. Isolates of *Salmonella enteritidis* PT4 with enhanced heat and acid tolerance are more virulent in mice and more invasive in chickens. Epidemiol. Infect. 1996, 117: 79-88.
32. Inglis T.J.J., Rigby P., Robertson T.A. et al. Interaction between *Burkholderia pseudomallei* and *Acanthamoeba* species results in coiling phagocytosis, endamebic bacterial survival, and escape. Infect. Immun. 2000, 68 (3): 1681-1686.
33. King E.O., Frobisher M., Parsons E.I. *In vitro* test for virulence of *Corynebacterium diphtheriae*. Amer. J. Public Health and Nation's Health. 1949, 39 (10): 1314-20. doi: 10.2105/AJPH.39.10.1314.
34. Laheij A., Loveren C., Deng D. et al. The impact of virulence factors of *Porphyromonas gingivalis* on wound healing *in vitro*. J. Oral Microbiol. 2015, 7: 27543. <http://dx.doi.org/10.3402/jom.v7.27543>.
35. Lee M.J., Liu H., Barker B.M. The fungal exopolysaccharide galactosaminogalactan mediates virulence by enhancing resistance to neutrophil extracellular traps. PLoS Pathog. 2015, 22. doi: 10.1371/journal.ppat.1005187.
36. Lu S., Manges A.R., Xu Y. et al. Analysis of virulence of clinical isolates of *Salmonella enteritidis* *in vivo* and *in vitro*. Infect. Immun. 1999, 67 (11): 5651-5657.
37. Mock M., Fouet A. Anthrax. Annu. Rev. Microbiol. 2001, 55: 647-671.

38. Nano F.E., Zhang N., Cowley S.C. et al. A Francisella tularensis pathogenicity island required for intramacrophage growth. *J. Bacteriol.* 2004, 186 (19): 6430-6436. doi: 10.1128/JB.186.19.6430-6436.2004.
39. Novick R.P., Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci. *Annu. Rev. Genet.* 2008, 42: 541-546.
40. O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* 2000, 54: 49-79.
41. Panayidou S., Ioannidou E., Apidianakis Y. Human pathogenic bacteria, fungi, and viruses in *Drosophila*: Disease modeling, lessons, and shortcomings. *Virulence.* 2014, 5 (2): 253-269.
42. Rahme L.G., Ausubel F. M., Cao H. et al. Plants and animals share functionally common bacterial virulence factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000, 97: 8815-8821.
43. Rajashekara G., Glasner J.D., Glover D.A. et al. Comparative whole-genome hybridization reveals genomic islands in *Brucella* species. *J. Bacteriol.* 2004, 186 (15): 5040-5051.
44. Riyara D., Buddhisa S., Korbsrisate S. et al. Neutrophil extracellular traps exhibit antibacterial activity against *Burkholderia pseudomallei* and influenced by bacterial and host factors. *Infect. Immun.* 2012, 80 (11): 3921-3929.
45. Seper A., Hosseinzadeh A., Gorkiewicz G. et al. *Vibrio cholerae* evades neutrophil extracellular traps by the activity of two extracellular nucleases. *PLoS Pathog.* 2013, 9(9): e1003614. doi: 10.1371/journal.ppat.1003614.
46. Tyndall R.L., Hand R.E., Mann R.C. et al. Application of flow cytometry to detection and characterization of *Legionella* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 1985, 49 (4): 852-857.
47. Wartha F., Beiter K., Albiger B. et al. Capsule and D-alanylated lipoteichoic acids protect *Streptococcus pneumoniae* against neutrophil extracellular traps. *Cell. Micro.* 2007, 9: 1162-1171.
48. Wertheim H.F., Waish E., Choudhury R. et al. Key role for clumping factor B in *Staphylococcus aureus* nasal colonization of humans. *PloS Med.* 2008, 5 (1): 17.
49. Williamson D.A., Mills G., Johnson J.R. et al. In vivo correlates of molecularly inferred virulence among extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) in the wax moth *Galleria mellonella* model system. *Virulence.* 2014, 5 (3): 388-393.
50. Yoong P., Cywes-Bentley C., Pier G.B. et al. Poly-N-acetylglucosamine expression by wild-type *Yersinia pestis* is maximal at mammalian, not flea, temperatures. *mBio.* 2012, 3(4): e00217-12. doi:10.1128/mBio.00217-12.

Поступила 16.06.06

Контактная информация: Шмелькова Татьяна Петровна, к.б.н.,
410005, Саратов, Университетская, 46, р.т. (8452) 51-52-30

© Л.В.ПУЗЫРЕВА, А.Д.САФОНОВ, 2016

Л.В.Пузырева, А.Д.Сафонов

ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННЫЕ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРРА, У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Омский государственный медицинский университет

Обзор посвящен особенностям клинических проявлений инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна-Барра (ВЭБ) у ВИЧ-инфицированных пациентов, вопросам диагностики и проведению противовирусной терапии в случае сочетания данных инфекций. У лиц на стадии СПИД развиваются опухолевые образования, ассоциированные с ВЭБ: неходжкинские лимфомы, в том числе лимфома Беркитта, первичная В-клеточная лимфома ЦНС, назофарингеальная карцинома. Известно, что возникновение лимфоидных интерстициальных пневмонитов и лейкоплакии ассоциировано с ВЭБ. В настоящее время известен большой перечень препаратов, являющихся ингибиторами репликации ВЭБ, однако нет четкой патогенетически обоснованной схемы лечения больных с данной инфекцией на фоне ВИЧ-инфекции.