

18. Rettinger A., Krupka I., Grünwald K. et al. *Leptospira* spp. strain identification by MALDI TOF MS is an equivalent tool to 16S rRNA gene sequencing and multi locus sequence typing (MLST). *BMC Microbiology* 2012, 12: 185.
19. Stoyanova N., Tokarevich N., Gracheva L. et al. Leptospirosis in North-West Russia. *EpiNorth*. 2004, 2: 29–32.
20. Voronina O.L., Kunda M.S., Aksenova E.I. et al. The characteristics of ubiquitous and unique *Leptospira* strains from the collection of Russian centre for leptospirosis. *BioMed Res. Int.* 2014: 649034.
21. Xiao D., Zhang C., Zhang H. et al. A novel approach for differentiating pathogenic and non-pathogenic *Leptospira* based on molecular fingerprinting. *J. Proteomics*. 2015, 119: 1–9.

Поступила 25.08.16

Контактная информация: Зуева Елена Викторовна, к.б.н.,
197101, С.-Петербург, ул. Мира, 14, р.т. (812)232-31-55

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*И.В.Савельева*¹, *С.Н.Тихонов*², *В.Н.Савельев*¹, *Д.А.Ковалев*¹, *С.В.Писаренко*¹,
*Е.С.Котенев*¹, *Б.В.Бабеншев*¹, *Л.С.Зинич*², *Н.Н.Пидченко*², *А.Н.Куличенко*¹

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ, ВЫДЕЛЕННЫХ В УКРАИНЕ В 1994 — 2011 ГГ.

¹Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, ²Противочумная станция Республики Крым, Симферополь

Цель. Ретроспективный анализ биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов возбудителя холеры, выделенных в период эпидемий в Украине в 1994 — 2011 гг. *Материалы и методы.* С помощью традиционных бактериологических и генетических методов исследованы фенотипические и молекулярно-генетические свойства 5 штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных от больных холерой, и 4 штамма — из объектов окружающей среды. Детекцию ДНК генов токсигенности и генов, присущих биовару Эль Тор или классическому, осуществляли методом ПЦР с использованием набора реагентов: «АмплиСенс-Vibrio cholerae FRT» и «Гены *Vibrio cholerae* ctxB-rstR-rstC, РЭФ» (экспериментальная тест-система). Секвенирование геномов 4 штаммов возбудителя холеры осуществляли на генетическом анализаторе Ion Torrent Personal Genome Machine. *Результаты.* Штаммы холерных вибрионов, идентифицированные в Украине в 1994 и 2011 гг. как типичный токсигенный биовар Эль Тор (*V.cholerae* O1, El Tor, Ogawa, Hly-, ctxA⁺, trxA⁺), содержат в своем геноме гены классического холерного вибриона и являются генетически измененными (гибридными) вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор, продуцирующими энтеротоксин СТ1 и обладающими повышенной вирулентностью, что клинически выразилось в преобладании тяжелых форм течения холеры в Мариуполе Донецкой области в 2011 г. Геномные последовательности четырех исследуемых штаммов депонированы в международную базу данных DDBJ/EMBL/GenBank. *Заключение.* По результатам сравнения геномных последовательностей исследуемых штаммов с геномами штаммов *V. cholerae* из международной базы данных GenBank установлено, что исследуемые изоляты входят в клад штаммов, ассоциируемых со вспышками холеры на Гаити и на Азиатском континенте, откуда в 2010 г. генетически измененные штаммы холерных вибрионов биовара Эль Тор были завезены на Гаити.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 49—55

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, холера, ПЦР, гентипирование, гибридные варианты биовара Эль Тор

I.V.Savelieva¹, S.N.Tikhonov², V.N.Saveliev¹, D.A.Kovalev¹, S.V.Pisarenko¹,
E.S.Kotenev¹, B.V.Babenyshchev¹, L.S.Zinich², N.N.Pidchenko², A.N.Kulichenko¹

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF BIOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC PROPERTIES OF STRAINS — CAUSATIVE AGENTS OF CHOLERA — ISOLATED IN UKRAINE IN 1994 — 2011

¹Stavropol Research Institute for Plague Control, ²Station for Plague Control of the Republic of Crimea, Simferopol, Russia

Aim. Retrospective analysis of biological and molecular-genetic properties of strains — causative agents of cholera — isolated in the period of epidemics in Ukraine in 1994 — 2011. **Materials and methods.** Phenotypic and molecular-genetic properties of 5 strains of cholera vibrios, biovar El Tor isolated from cholera patients and 4 strains from the environmental samples were studied using traditional bacteriological and genetic methods. Detection of DNA for toxigenicity genes and genes characteristic for El Tor and classic biovar were carried out by PCR method using reagent kits «AmpliSens-*Vibrio cholerae* FRT» and «*Vibrio cholerae* ctxB-rstR-rstC genes, REF» (an experimental test system). Sequencing of genomes of 4 strains of causative agents of cholera was carried out in genetic analyzer Ion Torrent Personal Genome Machine. **Results.** Strains of cholera vibrios identified in Ukraine in 1994 and 2011 such as a typical toxigenic biovar El Tor (*V. cholerae* O1, El Tor, Ogawa, Hly-, ctxA+, tcpA+) contain genes of the classic cholera vibrio in their genome and are genetically altered (hybrid) variants of cholera vibrio biovar El Tor producing enterotoxin CT1 and having increased virulence, that was clinically manifested in predominance of severe forms of cholera in Mariupol of Donetsk region in 2011. Genome sequences of the 4 studied strains were deposited into the international database DDBJ/EMBL/GenBank. **Conclusion.** The studied isolates were established to belong to a clade of strains associated with cholera outbreaks in Haiti and Asian continent, from where genetically altered strains of cholera vibrios biovar El Tor were introduced to Haiti in 2010, based on results of comparison of genomic sequences of the studied strains with genomes of *V. cholera* strains from the international database GenBank.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 1, P. 49—55

Key words: *Vibrio cholerae*, cholera, PCR, genotyping, hybrid variants of El Tor biovar

ВВЕДЕНИЕ

В период седьмой пандемии, начавшейся в 1961 г. на о. Сулавеси (Индонезия), холера в Украину (Одесса) была завезена морским транспортом из неблагополучных по холере стран Азиатского континента в 1970 г. Из биологического материала 1982 больных был выделен типичный токсигенный холерный вибрион биовара Эль Тор (*Vibrio cholerae* O1, El Tor, Ogawa, Hly-, ctxA⁺, tcpA⁺). В последующие годы крупные вспышки завозного характера регистрировали в Республике Крым (Симферополь, 1994 г.); в 1991, 1994, 1995 гг. — в Николаевской, Одесской, Херсонской и Донецкой (1994, 2011 гг.) областях и были вызваны токсигенными штаммами холерного вибриона биовара Эль Тор (*Vibrio cholerae* O1, El Tor, Ogawa, Hly-, ctxA⁺, tcpA⁺) [1, 2, 4].

Вспышки холеры в Украине протекали в летне-осенний период года, при высокой температуре воздуха, на территориях со значительной плотностью населения, при реализации массовых факторов передачи возбудителя (вода, пищевые продукты) на фоне грубых нарушений при эксплуатации систем водоснабжения и канализации [5].

С 27.05.2011 по 31.08.2011 гг. была зарегистрирована вспышка холеры в Мариуполе (Донецкая область) — крупном портовом и промышленном городе. Всего было зарегистрировано 58 случаев инфицирования, в том числе

33 больных и 25 носителей. Вспышка была вызвана токсигенными штаммами *V. cholerae* O1 серогруппы, которые относились к биовару El Tor, серовару Ogawa и содержали основные гены патогенности $ctxA^+$, $tcpA^+$. С фекалиями больных (носителей) возбудитель попал в городскую централизованную канализационную систему Мариуполя, выгребные ямы для нечистот, ливневую канализацию, затем в реки Кальчик, Кальмиус и Азовское море.

Развитию вспышки способствовали интенсивные дождевые осадки, подтопления частных канализационных колодцев, аварии в централизованной канализационной системе города, несанкционированные сбросы сточных вод в ливневую канализацию и впоследствии в реки Кальчик, Кальмиус и Азовское море. Заражение людей происходило при отлове, разделке и употреблении в пищу рыбы, пойманной в контаминированной холерными вибрионами речной и морской воде, а также при купании в море или питье необеззараженной воды из рек.

Предположительно эпидемически опасные штаммы холерного вибриона биовара Эль Тор были завезены туристами, вернувшимися в 2011 г. в Украину из Гаити, Доминиканской Республики и Африки, где в то время наблюдались эпидемии холеры [6].

Эпидемические вспышки холеры в Украине в 1994 и 2011 гг. характеризовалась преобладанием тяжелых форм течения болезни с выраженным обезвоживанием (III — IV степень), которая отмечена у 68,8% больных. Другая особенность вспышки холеры в 2011 г. заключалась в том, что выделенные от больных и из объектов окружающей среды (вода реки Кальмиус, выпадающая в Азовское море в районе городского пляжа, вода моря, рыба) 136 культур, идентифицированные как *Vibrio cholerae* O1, El Tor, Ogawa, Hly-, $ctxA^+$, $tcpA^+$, обладали полирезистентностью к антибактериальным препаратам (левомицетину, ампициллину, стрептомицину, бензилпенициллину, ампициллину) [3].

Приведенные данные об особенностях течения эпидемического процесса холеры в 1994 и 2011 гг. позволяют сделать вывод о том, что этиологическим агентом инфекции были холерные вибрионы биовара Эль Тор с повышенной токсигенностью и полирезистентностью к антибактериальным препаратам, что характерно для генетически измененных (гибридных) вариантов холерного вибриона биовара Эль Тор, получивших глобальное распространение в мире в начале девяностых годов XX столетия [8,9,11]. Диагностическими препаратами для идентификации и детекции генетически измененных вариантов холерного вибриона биовара Эль Тор Украина не располагала.

Цель работы — ретроспективный анализ биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов возбудителя холеры, выделенных в период вспышек в г. Мариуполь Донецкой области в 1994 и в 2011 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы 9 штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор: 3 штамма выделены от людей и 1 из объектов окружающей среды (сточная вода инфекционной больницы) в г. Мариуполь Донецкой области Украины в период эпидемий холеры в 1994 г.; 1 штамм холерных вибрионов от больного и 1 штамм из воды канала и 2 штамма из морской воды в 2011 г.; 1 штамм холерных вибрионов Эль Тор изолирован от больного в 1995 г. Морфологические, биохимические, серологические, фаголизательные свойства штаммов холерных вибрионов изучали в соответствии с МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры». Детекцию ДНК генов токсигенности и генов, присутствующих

биоварам Эль Тор или классическому, осуществляли методом ПЦР с использованием набора реагентов «АмплиСенс-Vibrio cholerae FRT», предназначенного для детекции в материале от людей или в пробах из объектов окружающей среды холерных вибрионов O1 (по *hlyA*-гену) и O139 (по *wbeF*-гену) серогрупп с одновременным определением генов токсигенности (*ctxA* и *tcrA*), и с помощью разработанного нами набора реагентов для идентификации токсигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1, определения их биовара и дифференциации штаммов биовара Эль Тор на типичные токсигенные и генетически измененные варианты методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с электрофорезным учетом результатов «Гены *Vibrio cholerae* *ctxB*-*rstR*-*rstC*, РЭФ». Для определения размеров ампликонов использовали DNA Ladder 100.

Праймеры к мишеням основных генов патогенности профагов CTX^{CL}_{ϕ} (*ctxB*^{CL}, *rstR*^{CL}), CTX^{EL}_{ϕ} (*ctxB*^{EL}, *rstR*^{EL}) и гена *rstC* профага RSI_{ϕ} [7, 8, 12] изготовлены в Ставропольском противочумном институте.

Секвенирование геномов 4 штаммов возбудителя холеры (*V. cholerae* 31, *V. cholerae* 39, *V. cholerae* 43, *V. cholerae* 56) осуществляли на генетическом анализаторе модели Ion Torrent Personal Genome Machine. Оценка качества первичных данных проводили с помощью программы FastQC. Функциональную аннотацию геномных последовательностей осуществляли с использованием ресурсов «Rapid Annotations using Subsystems Technology (RAST)» и «NCBI GenBank Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP)».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении фенотипических и молекулярно-генетических свойств штаммов холерных вибрионов, обусловивших эпидемические вспышки холеры в Украине в 1994 и 2011 гг., установлено, что данные микроорганизмы являются грамотрицательными, аспорогенными, полиморфными прямыми или слегка изогнутыми палочками, активно подвижными, с одним полярно расположенным жгутиком, индофенолоксидазоположительными, ферментирующими глюкозу в аэробных и анаэробных условиях до кислоты (без газа), расщепляющими маннозу, сахарозу, маннит, не активными в отношении лактозы, арабинозы, дульцита, инозита, декарбоксилирующие лизин и орнитин, не обладающие аргининдегидролазой, агглютинирующимися холерной сывороткой O1 серогруппы и типовой Ogawa, и, таким образом, таксономически относятся к роду *Vibrio* семейства *Vibrionaceae*, виду *Vibrio cholerae* O1 серологической группы, серовару Ogawa. Устойчивость к 50 ЕД полимиксина В, агглютинация эритроцитами морской свинки, образование ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра, лизис диагностическим бактериофагом Эльтор II и устойчивость к бактериофагу «С» позволяют отнести выделенные в г. Мариуполь Донецкой области штаммы к *Vibrio cholerae* O1 серологической группы, биовару Эль Тор.

Результаты генетической идентификации всех 9 изучаемых штаммов микроорганизмов с помощью мультилокусной ПЦР (набор «АмплиСенс-Vibrio cholerae FRT») показали, что все холерные вибрионы, выделенные от людей и из объектов окружающей среды, относятся к виду *V. cholerae* (*hlyA*⁺) O1 серологической группы (*wbeT*⁺), геномы которых, за исключением штамма № 137, выделенного из морской воды в 2011 г., содержат гены токсигенности — *ctxA* и *tcrA*.

С целью определения изменений основных генов токсигенности в резуль-

тате эволюционных преобразований генома типичного токсигенного холерного вибриона Эль Тор в первый 30-летний период седьмой пандемии холеры с помощью экспериментальной ПЦР-тест-системы «Гены *Vibrio cholerae* *ctxB-rstR-rstC*, РЭФ») изучена структура генов профагов CTX_{ϕ} и $RS1_{\phi}$ штаммов холерных вибрионов, выделенных в г. Мариуполь Донецкой области в 1994 и 2011 гг. (табл.).

Из представленных данных (табл.), следует, что у всех изучаемых штаммов (кроме № 137) в структуре профага CTX_{ϕ} присутствуют гены токсигенности как холерного вибриона Эль Тор, так и гены классического биовара в различных сочетаниях: $ctxB^{CL}$, $rstR^{CL}$, $rstR^{EL}$, $rstC$ (III генотип, штаммы № № 12, 43, 80, 551 — выделены в 1994 — 1995 гг.); $ctxB^{CL}$, $rstR^{EL}$, $rstC$ (IV генотип, штаммы № № 31, 39, 239 — выделены в 2011 г.); $ctxB^{CL}$, $rstR^{CL}$, $rstR^{EL}$ (VI генотип, штамм № 56 — выделен в 1994 г.). Следует отметить, что геном названных вариантов биовара Эль Тор обязательно содержит ген $ctxB^{CL}$, кодирующий биосинтез энтеротоксина классического типа (СТ1), в отличие от гена $ctxB^{EL}$ — типичного холерного вибриона биовара Эль Тор, кодирующего энтеротоксин типа Эль Тор (СТ2).

Генетическая структура профагов CTX_{ϕ} и $RS1_{\phi}$ штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных от больных и из объектов окружающей среды в Мариуполе, с помощью ПЦР тест-системы «Гены *Vibrio cholerae* *ctxB-rstR-rstC*, РЭФ»

Пробы ДНК, штамм, источник и дата выделения	Фрагменты генов					Результат
	$ctxB^{EL}$ 186 п.н.	$rstR^{EL}$ 501 п.н.	$rstC$ 224 п.н.	$ctxB^{CL}$ 186 п.н.	$rstR^{CL}$ 501 п.н.	Вариант (генотип)
ПКО + ДНК классического вибриона	—	—	—	+	+	Классический биовар (I)
ПКО + ДНК типичного Эль Тор	+	+	+	—	—	Типичный Эль Тор (II)
ДНК штамма № 43, больной, 28.09.1994	—	+	+	+	+	Гибрид (III)
ДНК штамма № 551, больной, 11.10.1994	—	+	+	+	+	Гибрид (III)
ДНК штамма № 80, больной, 05.10.1994	—	+	+	+	+	Гибрид (III)
ДНК штамма № 56, сточная вода инфекционной больницы, 04.10.1994	—	+	—	+	+	Гибрид (VI)
ДНК штамма № 12, больной, 29.05.1995	—	+	+	+	+	Гибрид (III)
ДНК штамма № 31, больной, 04.06.2011	—	+	+	+	—	Гибрид (IV)
ДНК штамма № 39, вода канала, 06.06.2011	—	+	+	+	—	Гибрид (IV)
ДНК штамма № 239, вода морская, 08.06.2011	—	+	+	+	—	Гибрид (IV)
ДНК штамма № 137, вода морская, 17.06.2011	—	+	+	—	—	Эль Тор атоксигенный (—)

Для определения происхождения генетически измененных штаммов холерных вибрионов Эль Тор, изолированных в Украине в 1994 и 2011 гг., и установления их филогенетических связей с ранее выделенными *V. cholerae* на других территориях проведено полногеномное секвенирование 4 штаммов данных микроорганизмов.

Геномные последовательности исследуемых штаммов депонированы в международную базу данных DDBJ/EMBL/GenBank: LJFF00000000 (*V. cholerae* 31, O1 biovar El Tor), LJFG00000000 (*V. cholerae* 39, O1 biovar El Tor), LJFH00000000 (*V. cholerae* 43, O1 biovar El Tor), LJFI00000000 (*V. cholerae* 56, O1 biovar El Tor).

Сравнение геномных последовательностей исследуемых штаммов с геномами штаммов *V. cholerae* из международной базы данных GenBank позволило установить наибольшее сходство штаммов *V. cholerae* 31, *V. cholerae* 39 и *V. cholerae* 56 со штаммом *V. cholerae* 2012EL-2176 (выделен на о. Гаити в 2012 г., обладает резистентностью к ампициллину, амоксициллину с клавулановой кислотой, цефокситину, цефтриаксону, цефтиофуру) и *V. cholerae* O395 (классический штамм O1, серотип Огава). Штамм *V. cholerae* 43 имеет сходство со штаммами *V. cholerae* MJ1236 (токсигенный штамм Эль Тор Инаба, выделен в Бангладеш в 1994 г.) и *V. cholerae* O395, выделенном в Индии в 1965 г.

Результаты проведенных исследований показали, что штаммы холерных вибрионов, идентифицированные в Украине в 1994 и 2011 гг. как типичный токсигенный биовар Эль Тор (*V. cholerae* O1, El Tor, Ogawa, Hly-, ctxA⁺, tcpA⁺), содержат в своем геноме гены классического холерного вибриона и потому являются генетически измененными (гибридными) вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор, продуцирующими энтеротоксин СТ1, обладающими повышенной вирулентностью, что клинически выразилось в преобладании тяжелых форм течения холеры в Мариуполе Донецкой области в 2011 г.

Штаммы холерных вибрионов, выделенные в 1994 г. от людей, относятся к генотипу III, а выделенные из сточной воды инфекционного госпиталя — к генотипу VI, что свидетельствует о заносе различных клонов генетически измененных вариантов холерных вибрионов биовара Эль Тор на территорию Мариуполя. Генетически измененные холерные вибрионы биовара Эль Тор, выделенные в Мариуполе в 2011 г. от людей из объектов окружающей среды (вода канала, морская вода), относятся к одному и тому же генотипу IV, что подтверждает водный путь распространения холеры. На контактно-бытовой путь передачи пришлось 11% случаев заражений [4].

По результатам сравнения геномных последовательностей исследуемых штаммов с геномами штаммов *V. cholerae* из международной базы данных GenBank установлено, что исследуемые изоляты входят в клад штаммов, ассоциируемых со вспышками холеры на Гаити и на Азиатском континенте, откуда в 2010 г. генетически измененные штаммы холерных вибрионов биовара Эль Тор были завезены на Гаити [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеенко В.В. Социальные и биологические факторы эволюции эпидемического процесса при холере Эль Тор. Дис. д-ра мед. наук. Киев, 1985.
2. Алексеенко В.В. Распространение холеры в Украине в ходе семи пандемий. Профилактическая медицина. 2008, 2: 48-55.
3. Домашенко О.Н., Беломеря Т.А., Мартынова Н.В., Дараган Г.Н., Демкович О.О., Малахова Ю.В., Землянская Г.И., Попова Д.М. Холера в Приазовье. Журнал инфектологии, 2015, 7 (2): 92-97.

4. Кирьякова Л.С. Эпидемиологические и экологические особенности 7 пандемии холеры в Украине. Дисс. канд. мед. наук. Киев, 2007.
5. Стеценко И.И. Изучение процесса формирования эндемического очага холеры в Мариуполе. Профилактическая медицина. 2009, 2 (6): 37-42.
6. Хайтович О.Б., Шварсалон М.К., О.Л. Павленко О.Л., Зинич Л.С., Ильичев Ю.О., Денисенко В.И., Гусаков Г.М., Антонова Л.П. Вспышка холеры в Мариуполе в 2011 году. Инфекционные болезни. 2011, 1: 10-14.
7. Morita M., Ohnishi M., Arakava E. et al. Development and validation of a mismatch amplification mutation PCA assay to monitor the dissemination of an emerging variant of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor. Microbiol. Immunol. 2008, 52: 314-317.
8. Nusrin S., Khan G.Y., Bhuiyan N.A. Diverse CTX phages among toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 strains isolated between 1994 and 2002 in an area where cholera is endemic in Bangladesh. J. Clin. Microbiol. 2004, 42 (12): 5854-5856.
9. Safa A., Bhuiyan N.A., Nursin S. et al. Genetic characteristics of Matlab variants of *Vibrio cholerae* O1 that are hybrids between classical and El Tor diotypes. J. Med. Microbiol. 2006, 55: 1563-1569.
10. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. Trends Microbiol. 2010, 18: 46-54.
11. Taneja N., Mishra A., Sangar G. et al. Outbreaks caused by new variant of *Vibrio cholerae* O1 eltor, India. Emerg. Infect. Dis. 2009, 15 (2): 352-354.
12. Waldor M.K., Rubin E.J., Gregori D.N. Regulation, replication, and integration functions of the CTX_φ are encoded by regions RS2. Mol. Microbiol. 1997, 24: 917-926.

Поступила 25.08.16

Контактная информация: Савельева Ирина Вилориевна,
355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т (8652)26-48-19

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

Т.Ю.Загоскина, М.В.Чеснокова, В.Т.Климов, Ю.О.Попова, Е.Ю.Марков, О.А.Старикова

КОНСТРУИРОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА И КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА В ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗЕ

Иркутский научно-исследовательский противочумный институт

Цель. Конструирование иммунологической тест-системы для обнаружения возбудителей энтеропатогенных иерсиний (*Yersinia pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*) методом дот-иммуноанализа. *Материалы и методы.* В качестве маркера специфических антител использовали наночастицы коллоидного серебра размером 5 — 9 нм. IgG фракцию выделяли из коммерческих антисывороток к псевдотуберкулезным (O:1) и кишечной иерсиниозным (O:3 и O:9) микроорганизмам. Испытание полученной тест-системы проведено на 20 штаммах *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* (по десять каждого вида). *Результаты.* Дот-анализ имел специфический характер и обнаруживал энтеропатогенные иерсинии в концентрации $5 \cdot 10^5$ — $8 \cdot 10^6$ м.к./мл (100 — 1000 м.к. в пробе). При этом не наблюдалось перекрестного реагирования с гетерологичными исследованными микроорганизмами — *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Yersinia pestis* EV. Показана возможность одновременного обнаружения и серотипирования *Y. enterocolitica*, что является обязательным для подтверждения их эпидемической значимости. *Заключение.* Разработанные тест-системы позволяют исследовать микрообъемы испытуемых проб (1 мкл), экспрессны (1,5 — 2 ч), высокочувствительны и специфичны, технически просты и не требуют использования дорогостоящего оборудования, специальной подготовки персонала, могут с успехом применяться в практическом здравоохранении в лабораториях разного уровня оснащенности.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 55—61