

- assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: Results of an interlaboratory ring trial. *J. Clin. Microbiol.* 2015, 53 (8): 2632-2640.
9. Lista F., Reubsaet F., De Santis R. et al. Reliable identification at the species level of *Brucella* isolates with MALDI-TOF-MS. *BMC Microbiology.* 2011, 11: 267.
 10. Nyvang H.G., Kvistholm J.A., Böcher S. et al. Mass spectrometry: pneumococcal meningitis verified and *Brucella* species identified in less than half an hour. *Scand. J. Infect. Dis.* 2010, 42 (9): 716-718.
 11. Šedo O., Sedláček I., Zdráhal Z. Sample preparation methods for MALDI-MS profiling of bacteria. *Mass Spectrometry Reviews.* 2011, 30 (3): 417-434.
 12. Vitr M.A., Mambres D.H., Deghelt M. et al. *Brucella melitensis* invades murine erythrocytes during infection. *Infect. Immunity.* 2014, 82 (9): 3927-3938.
 13. Yonetani S., Ohnishi H., Ohkusu K. et al. Direct identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF MS using an in-house saponin method. *Intern. J. Infect. Dis.* 2016, 52: 37-42.
 14. Zamanian M., Hashemi Tabar G.R., Rad M. et al. Evaluation of different primers for detection of *Brucella* in human and animal serum samples by using PCR method. *Archives Iranian Medicine.* 2015, 18 (1): 44-50.

Поступила 10.12.16

Контактная информация: Ульшина Диана Васильевна,
355035, Ставрополь, ул. Советская. 13-15, р.т. (865 2)26-03-12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*А.В.Тришина, Е.А.Березняк, И.Р.Симонова,
Л.М.Веркина, А.Ю.Березняк, М.В.Полева*

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ УСЛОВНО ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ РОСТОВА-НА-ДОНУ

Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт

Цель. Изучение биоразнообразия, чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам (АБП) штаммов условно патогенных микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae, выделенных из поверхностных водоемов Ростова-на-Дону в 2014 — 2016 гг. *Материалы и методы.* Определение родовой и видовой принадлежности энтеробактерий осуществляли по результатам совокупности биохимических тестов, используя программно-аппаратный комплекс MALDI Biotyper. Чувствительность к АБП определяли методом серийных разведений. *Результаты.* За время исследования было выделено 468 штаммов условно патогенных и патогенных энтеробактерий. Идентифицировано 20 родов, 33 вида микроорганизмов. Доминировали представители родов *Escherichia* (37,0%), *Enterobacter* (23,0%), *Klebsiella* (13,2%), *Citrobacter* (8,0%). Чувствительными ко всем АБП в 2014 г. были 8,5% выделенных штаммов, в 2015 г. — 5,2%, в 2016 г. микроорганизмов, чувствительных к АБП, не обнаружено. Количество полирезистентных изолятов нарастало в течение трех лет: в 2014 г. выделено 40,7% штаммов, в 2015 г. — 60,1%, в 2016 г. — 80,0%. Высокой активностью в отношении выделенных энтеробактерий обладали цефтриаксон, гентамицин и ципрофлоксацин. Наибольшую устойчивость фиксировали к ампициллину, налидиксовой кислоте, нитрофурантоину, ко-тримоксазолу. *Заключение.* Полученные результаты позволяют оценить динамику нарастания полирезистентных штаммов энтеробактерий, выделенных из поверхностных водоемов.

Журн. микробиол., 2017, № 4, С. 17—23

Ключевые слова: мониторинг, условно патогенные микроорганизмы, антибиотикорезистентность, поверхностные водоемы

BIODIVERSITY AND ANTIBIOTICS RESISTANCE OF OPPORTUNISTIC PATHOGENIC ENTEROBACTERIA ISOLATED FROM SURFACE RESERVOIRS OF ROSTOV-ON-DON

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia

Aim. Study biodiversity, sensitivity/resistance to antibacterial preparation (ABP) of opportunistic microorganisms of *Enterobacteriaceae* family isolated from surface reservoirs of Rostov-on-Don in 2014 — 2016. *Materials and methods.* Determination of genus and species membership of enterobacteria was carried out by the results of a complex of biochemical tests using MALDI Biotyper program-apparatus unit. Sensitivity to ABP was determined by serial dilution method. *Results.* 468 strains of opportunistic and pathogenic enterobacteria were isolated during the study. 20 genera, 33 species of microorganisms were identified. *Escherichia* (37.0%), *Enterobacter* (23,0%), *Klebsiella* (13.2%), *Citrobacter* (8.0%) predominated. 8.5% of the strains isolated in 2014 were sensitive to ABP, 5.2% — in 2015; strains sensitive to ABP were not detected in 2016. The number of polyresistant isolates has increased during the last 3 years: 40.7% strains in 2014, 60.1% in 2015, 80,0% in 2016. Ceftriaxone, gentamycin and ciprofloxacin had high activity against the isolated enterobacteria. The highest resistance was documented against ampicillin, nalidixic acid, nitrofurane, co-trimoxazole. *Conclusion.* The data obtained allow to evaluate the dynamics of increase of polyresistant strains of enterobacteria isolated from surface reservoirs.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 4, P. 17—23

Key words: monitoring, opportunistic microorganisms, antibiotics resistance, surface reservoirs

ВВЕДЕНИЕ

Деятельность человека приводит к негативным изменениям в окружающей среде, в том числе и в водных экосистемах. Основной путь микробного загрязнения — попадание в близлежащие озера, пруды, реки неочищенных городских отходов и сточных вод, резко изменяющих микробный пейзаж и санитарный режим водоемов. Вода в местах интенсивного антропогенного загрязнения характеризуется расширенным спектром микробиоценоза с увеличением таксономического разнообразия, в том числе представителей семейства *Enterobacteriaceae* [4].

Штаммы микроорганизмов, выделенные из водоемов, испытывающих мощное влияние промышленных, бытовых и речных стоков, обладают высокой антибиотикоустойчивостью, высокоадгезивными свойствами и цитотоксичностью, что является ответной реакцией на воздействие стрессового фактора и имеет как общебиологическое, так и важное эколого-эпидемиологическое значение [2].

Микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* регулярно выделяются из почвы и воды, сохраняют жизнеспособность в широком диапазоне абиотических факторов среды [7]. Энтеробактерии, обладая значительным арсеналом приспособительных механизмов, способностью менять свойства, продуцировать различные ферменты вирулентности, вызывают энтеральные и парентеральные инфекции, число которых нарастает из года в год [5, 6, 9].

В последнее время появилось множество доказательств тому, что экологические места обитания, особенно водоемы, реки, озера, являются идеальной средой для распространения устойчивости к антибактериальным препаратам среди микроорганизмов [10]. Изучается чувствительность/устойчивость к АБП

различных микроорганизмов, выделенных из водоемов, в том числе представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Такие исследования в настоящее время проводятся как в зарубежных странах (Португалия, Аргентина, Бразилия, Саудовская Аравия, Румыния, Китай, Сингапур, США, Канада, Швейцария) [15, 16, 18, 19], так и в России — в Восточной Сибири (река Ангара, Лена, озеро Байкал), в Волго-Каспийском регионе, в Челябинской области (река Миас) [1, 3, 8, 11, 12].

Важным аспектом контроля водных объектов является выявление некоторых патогенных и условно патогенных бактерий, таких как сальмонеллы, патогенные стафилококки, синегнойная палочка и другие. В странах Евросоюза в последнее время произошел переход от определения групп санитарно-показательных микроорганизмов к определению непосредственно самих санитарно-показательных микроорганизмов, что делает оценку качества воды более стандартизированной и достоверной [14].

Этиологическая значимость и потенциальная патогенность энтеробактерий обуславливают необходимость более тщательного изучения биоразнообразия данной группы возбудителей и природных мест их обитания.

Таким образом, для совершенствования региональной системы биологической безопасности является весьма актуальным изучение водных биотопов с целью получения базовой информации о составе и разнообразии патогенных и условно патогенных энтеробактерий, выявления доминирующей микрофлоры, ее сезонных колебаний и определения антибиотикорезистентности выделенных микроорганизмов.

Цель настоящего исследования — изучить биоразнообразие, распространенность и чувствительность/устойчивость к АБП штаммов условно патогенных и патогенных микроорганизмов (УПМ) семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из поверхностных водоемов Ростова-на-Дону в 2014 — 2016 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мониторинг УПМ, выделенных из поверхностных водоемов Ростова-на-Дону (реки Дон, Мертвый Донец, Темерник), проводили ежемесячно (с мая по сентябрь) в течение 3 лет (2014 — 2016 гг.).

Идентификацию микроорганизмов начинали с изучения морфологии выросших колоний на агаре Хоттингера ($\text{pH} \pm 7,2$) и селективных средах: Эндо, Плоскирева, висмут-сульфит агаре. В целях ускорения исследования и значительного сокращения объема работы использовали хромогенную питательную среду (Hi Crom UTI Agar, Modified HiMedia, Индия) для одноэтапного выделения и прямой идентификации наиболее частых и значимых для санитарной микробиологии энтеробактерий. Определение родовой и видовой принадлежности условно патогенных бактерий осуществляли по результатам совокупности биохимических тестов (наборы RapiD 20 E и API 20 NE) производства BioMerieux, Франция. Для быстрой выборочной идентификации микроорганизмов использовали программно-аппаратный комплекс MALDI Biotyper. Масс-спектрометрический анализ проводили с использованием MALDI-TOF масс-спектрометра Autoflex («Bruker Daltonics», Германия). Для записи, обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение фирмы «Bruker Daltonics»: flexControl 2.4 (Build 38) и flexAnalysis 2.4 (Build 11).

Чувствительность к АБП определяли методом серийных разведений в агаре Mueller-Hinton (HiMedia). В работе использовали препараты — беталактамы: пенициллины (ампициллин), цефалоспорин III поколения (цефтриак-

сон), хинолоны (налидиксовая кислота, ципрофлоксацин), нитрофураны (фурагин); аминогликозиды (гентамицин); тетрациклины (доксициклин), а также амфениколы (левомицетин), комбинированные сульфаниламиды (ко-тримоксазол). Интерпретацию результатов проводили в соответствии с МУК 4.2.1890-04. Внутренний контроль качества исследований антибиотикочувствительности определяли с использованием контрольного штамма *E. coli* ATCC 25922. При характеристике микроорганизмов использовали общепринятые показатели: чувствительные, умеренно-резистентные и резистентные. Умеренно-резистентные и резистентные штаммы были объединены в категорию резистентные.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью стандартных средств программы «Microsoft Office Excel». Статистическую значимость различий доли резистентных штаммов оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $\alpha < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За время исследования было выделено 468 штаммов условно патогенных и патогенных энтеробактерий (в 2014 г. — 130 штаммов, в 2015 г. — 193 штамма, в 2016 г. — 145 штаммов). Определены представители 20 родов, 33 видов микроорганизмов. Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* были идентифицированы микроорганизмы, относящиеся к родам: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Cronobacter*, *Salmonella*, *Pantoea*, *Proteus*, *Raoultella*, *Rahnella*, *Kluyvera*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*, *Leclercia*, *Morganella*, *Ewingella*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Plesiomonas*.

Проведенный микробиологический мониторинг поверхностных водоемов Ростова-на-Дону показал, что в отдельные годы и соответственно в течение всего периода наблюдения доминирующими микроорганизмами среди всех выделенных штаммов были представители родов *Escherichia* (37,0%), *Enterobacter* (23,0%), *Klebsiella* (13,2%), *Citrobacter* (8,0%).

Род *Escherichia* был представлен одним видом *E. coli*, среди рода *Enterobacter* нами идентифицировано 9 видов, в течение трехлетнего периода частота встречаемости *E. cloacae* и *E. asburiae* составила соответственно 10,0% и 7,0%. Из представителей рода клебсиелл, изолированных из проб воды, чаще всего выделяли *K. pneumoniae* (8,0%) и *K. oxytoca* (5,0%). Среди микроорганизмов рода *Citrobacter* часто встречались два вида: *C. freundii* (4,5%) и *C. braakii* (3,3%).

Резистентность к антимикробным препаратам является одной из важнейших фенотипических характеристик условно патогенной микрофлоры. Поэтому все выделенные в процессе мониторинга энтеробактерии были протестированы на чувствительность/устойчивость к антибактериальным препаратам.

По устойчивости к АБП все микроорганизмы в настоящем исследовании были разделены на четыре группы: чувствительные, монорезистентные, резистентные к двум АБП, полирезистентные. В соответствии с международными критериями в группу полирезистентных (обладающих множественной резистентностью) входят микроорганизмы с устойчивостью как минимум к трем различным группам АБП [17].

В 2014 г. 8,5% выделенных штаммов были чувствительны ко всем тестируемым в исследовании АБП. В 2015 г. число таких штаммов составило 5,2%. В 2016 г. микроорганизмов, чувствительных ко всем АБП, в нашем исследовании не выявлено.

Частота выделения монорезистентных энтеробактерий составила в 2014 и 2015 гг. 23,9% и 14,0% соответственно, в 2016 г. их доля снизилась до 9,7%. Такую же динамику мы наблюдали, анализируя антибиотикорезистентность к двум АБП. С 2014 по 2016 гг. доля таких штаммов снизилась с 26,9% до 10,3%. В то же время, количество полирезистентных изолятов заметно нарастало в течение трех лет: в 2014 г. выделено 40,7% штаммов, в 2015 г. — 60,1%, в 2016 г. — 80,0%. Различия долей монорезистентных штаммов, устойчивых к двум АБП, и полирезистентных штаммов, выделенных в 2014 г. и в 2016 г., статистически достоверны.

Представляло интерес проанализировать динамику чувствительности/устойчивости исследуемых микроорганизмов по каждому АБП.

Проведенные нами исследования показали, что наиболее высокий уровень устойчивости среди УПМ регистрировался к ампициллину. Так, в 2014 и 2015 гг. количество штаммов, устойчивых к этому антибиотику, составило 73,0% и 72,0% соответственно. В 2016 г. число ампициллинрезистентных штаммов возросло до 89%.

Нечувствительные к ко-тримоксазолу штаммы встречались на протяжении всего периода исследования: в 2014 и 2015 гг. резистентность фиксировалась на уровне 70,0% , в 2016 г. возросла до 84,2%.

Доля культур, устойчивых к нитрофурантоину, варьировала от 33,8% в 2014 г. до 75,2% в 2016 г.

За время наблюдения регистрировали нарастание частоты встречаемости водных изолятов энтеробактерий, устойчивых к налидиксовой кислоте. Так, в 2014 г. число таких штаммов составляло 23,0%, а в 2016 г. увеличилось почти в два раза, до 52,5%.

В 2014 г. нами зафиксировано всего 6,9% энтеробактерий, устойчивых к доксициклину, а к 2016 г. их доля возросла до 17,2%.

Устойчивость к левомецетину регистрировали в 2015 г. у 13,5% штаммов, в 2014 г. и 2016 г. количество резистентных изолятов распределилось в среднем на одном уровне — около 25,0%.

Анализ динамики антибиотикорезистентности по годам выявил нарастание устойчивости к гентамицину с 0,2% в 2014 г. до 4,8% в 2016 г., к цефтриаксону с 3,8% в 2014 г. до 8,9% в 2016 г. Удельный вес устойчивых вариантов к ципрофлоксацину вырос с 0,77% до 8,9%.

В процессе работы наряду с условно патогенными энтеробактериями были выделены патогенные представители рода *Salmonella*, которые являются важными санитарно-показательными микроорганизмами и свидетельствуют о регулярном поступлении в водоем значительных фекальных загрязнений. Из многочисленных возбудителей острых кишечных инфекций сальмонеллы представляют опасность вследствие того, что они чаще других возбудителей вызывают осложнения и в некоторых случаях способны формировать длительное носительство [13]. В наших исследованиях частота выделения сальмонелл в пробах воды составила в 2014 г. 2,7%, в 2015 г. — 3,1%, в 2016 г. — 8,5%.

По данным литературы у сальмонелл регистрируется увеличение выделения штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Заболевания, вызванные такими штаммами, отличаются более длительным инкубационным периодом и тяжелым течением заболевания, поскольку снижается эффективность антибактериальной терапии [13].

Сальмонеллы, выделенные в нашем регионе, по чувствительности/устойчивости к АБП распределились следующим образом: в среднем за три года

чувствительные изоляты выделяли в 19,0% случаев, резистентные к 1 АБП — в 38,0%, резистентные к 2 АБП — в 14,3%, резистентные к 3 и более АБП — в 28,6% случаев. Как и в случае с условно патогенными энтеробактериями, регистрировалось снижение количества штаммов, чувствительных и резистентных к 1 и 2 АБП и увеличение числа полирезистентных. Так, в 2014 г. 3,0% изолятов сальмонелл были чувствительны к АБП, 3,8% — монорезистентны, 1,5% — резистентны к 2 АБП. В 2015 г. чувствительных штаммов не выделено, 0,5% сальмонелл обладали устойчивостью к 1 и 2 АБП, 2,0% имели резистентность к 3 и более антибактериальным препаратам. Чувствительных к АБП штаммов в 2016 г. не регистрировали, доли монорезистентных и полирезистентных сальмонелл составили по 1,4%.

В результате проведенного мониторинга в течение трехлетнего периода получены следующие данные:

В структуре представителей семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из поверхностных водоемов Ростова-на-Дону, доминировали представители родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*.

Высокой антибактериальной активностью в отношении выделенных энтеробактерий обладали цефтриаксон, гентамицин и ципрофлоксацин.

Наибольшую устойчивость штаммов УПМ фиксировали к ампициллину, налидиксовой кислоте, нитрофурантоину, ко-тримоксазолу.

Наблюдается снижение доли штаммов, чувствительных, резистентных к 1 и 2 АБП, и увеличение доли полирезистентных условно патогенных и патогенных энтеробактерий.

Анализ результатов проведенного исследования дает возможность оценить риск появления и распространения мультирезистентных штаммов энтеробактерий в окружающей среде, позволяя предотвратить вспышки заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными штаммами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анганова Е.В., Курносоев А.Д., Самойлова И.Ю. и др. Антибиотикорезистентность бактерий микробиоценозов водных объектов как показатель антропогенной нагрузки на водоем (на примере реки Лены). *Сибирский медицинский журнал*. 2008, 1: 75-77.
2. Бузалева Л.С., Ким А. В., Компанец Г. Г. и др. Проявление патогенных свойств у морских бактерий под влиянием антропогенного загрязнения. *Экология человека*, 2016. 3: 30-36.
3. Веркина Л.М., Березняк Е.А., Титова С.В. и др. Мониторинг антибиотикорезистентности условно патогенных микроорганизмов поверхностных водоемов. *Медицинский альманах*, 2014. 4: 46-48.
4. Воробьева Т.Я. Пространственно-временная структура гетеротрофного бактериопланктона экосистемы устьевой области реки Северная Двина. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Сыктывкар, 2005.
5. Габидуллин Ю.З. Особенности некоторых свойств, определяющих патогенный потенциал сокультивируемых вариаций бактерий *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *E.coli*, *Proteus*. Автореф. дисс. д-ра мед. наук. Челябинск, 2015.
6. Егорова С.А., Макарова М.А., Кафтырева Л.А. Этиологическая значимость условно-патогенных энтеробактерий при острых кишечных заболеваниях и дисбиотических состояниях кишечника. *Инфекции и иммунитет*. 2011, 2: 181-184.
7. Евтеева Н.И. Биоразнообразие энтеробактерий в природных местообитаниях Нижегородской области. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2009.
8. Журавлев П.В., Алешня В.В., Головина С.В. Мониторинг бактериального загрязнения водоемов Ростовской области. *Гигиена и санитария*. 2010, 5: 33-36.
9. Загайнова А.В. Разработка подходов к оценке риска возникновения бактериальных

- кишечных инфекций, распространяемых водным путем. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М., 2010.
10. Ларцева Л.В., Обухова О.В., Бармин А.Н. Экологическая и биологическая опасность резистентности условно-патогенной микрофлоры к антибиотикам. *Российский журнал прикладной экологии*. 2015, 4: 47-52.
 11. Обухова О.В., Ларцева Л.В. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий, выделенных от судака (*stizostedion lucioperca*), и воды в местах его обитания. *Вестник АГТУ. Сер.: рыбное хозяйство*. 2013, 1: 65-74.
 12. Обухова О.В., Ларцева Л.В. Особенности антибиотикорезистентности энтеробактерий в дельте р. Волги. *Гигиена и санитария*. 2014, 3: 21-23.
 13. Решетнева И.Т., Перьянова О.В., Дмитриева Г.М., Остапова Т.С. Антибиотикорезистентность сальмонелл, выделенных на территории Красноярского края. *Гигиена и санитария*. 2015, 2: 35-38.
 14. Тымчук С.Н., Ларин В.Е., Соколов Д.М. Наиболее значимые санитарно-микробиологические показатели оценки качества питьевой воды. *Водоснабжение и санитарная техника*. 2013, 11: 8-14.
 15. Alzahrani A.M., Gherbawy Y. A. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from water springs in Al-Ahsa Region. *African J. Microbiol. Res.* 2011, 5: 123-130.
 16. Czekalski N., Berthold T., Caucci S. et al. Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into lake Geneva, Switzerland. *Front. Microbiol.* 2012, 3: 1-17.
 17. Magiorakas A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012, 3: 268-281.
 18. Pereira A., Santos A., Tacão M. Genetic diversity and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from Tagus estuary. *Portugal Science Total Environment*. 2013, 1: 65-71.
 19. Yang Y., Zhang T., Zhang X. et al. Quantification and characterization of β -lactam resistance genes in 15 sewage treatment plants from East Asia and North America. *Applied Microbiology Biotechnology*. 2012, 5: 1351-1358.

Поступила 07.03 17

Контактная информация: Тришина Алена Викторовна, к.б.н.,
344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40, р.т. (863)234-23-11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

Л.И.Краснопрошина, Т.А.Серова, Е.П.Фошина, И.В.Бишева, С.А.Сходова

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМАХ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ ИММУНОВАК ВП-4

НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

Цель. Изучение динамики иммунологических показателей у больных с хроническими бактериальными инфекциями при разных схемах введения вакцины Иммуновак ВП-4. *Материалы и методы.* У больных (20 чел., 18 — 50 лет), распределенных в две группы по типу введения вакцины, дважды (до и через 0,5 — 1,5 месяца после курса вакцинотерапии) оценивали параметры системного иммунитета и уровень специфических антител различных изотипов в сыворотке крови и слюне к вакцинным антигенам *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. *Результаты.* Местная вакцинация приводила к повышению только уровня IgA в слюне к обоим бактериальным антигенам, при этом показатели системного иммунитета до и после вакцинации не различались. Подкожная вакцинация повышала уровень сывороточных антител А- и G-изотипов к обоим бактериальным антигенам, нормализовывала сниженный уровень CD8⁺-лимфоцитов и повышенное значение иммунорегуляторного индекса; наблюдалась тенденция к повышению процента CD3⁺ Т-клеток и снижению процента CD4⁺ Т-хелперов. *Заключение.* Для получения комплекс-