

7. Михайлов М.И., Малинникова Е.Ю., Кюрегян К.К. Молекулярная эпидемиология и диагностика гепатита Е. Молекулярная диагностика 2017. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2017, С. 68-69.
8. Эсауленко Е.В., Малинникова Е.Ю., Перадзе Х.Д., Яковлев А.А., Михайлов М.И. Спорадические и групповые завозные случаи гепатита Е в Санкт-Петербурге. Журн. микробиол. 2013, 1: 38-41.
9. Balayan M.S., Andjaparidze A.G., Savinskaya S.S. et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. Intervirology. 1983, 20(1):23-31.
10. Capai L., Charrel R., Falchi A. Hepatitis E in High-Income Countries: What Do We Know? And What Are the Knowledge Gaps? Viruses. 2018 May 25;10(6). pii: E285. doi: 10.3390/v10060285.
11. WHO. Hepatitis E. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en/>.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

М.Н.Носик¹, К.А.Рыжов¹, А.Б.Потапова²

ОСОБЕННОСТИ РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1 СУБТИПА А6 В ПРИСУТСТВИИ ГОРМОНОВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ СОВРЕМЕННЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ

¹НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, ²Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Цель. Изучение влияния женских половых гормонов, входящих в состав контрацептивов, на репликацию ВИЧ-1 и эффективность действия антиретровирусных препаратов (АРТ-препараты). *Материалы и методы.* Мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) доноров, стимулированные ФГА (2 мкг/мл), и лимфобластоидные клеточные линии MT-4 и Jurkat инфицировались ВИЧ-1 (субтип А6). Клетки культивировались в течение 6 дней в присутствии различных концентраций β-эстрадиола и прогестерона, без/или добавлением АРТ-препаратов ламивудина (ЗТС), этравирин (ЕТР) и индинавира (ИДВ). Мониторинг вирусной продукции осуществлялся путем количественного определения р24 в культуральной жидкости клеток на 6 день после инфицирования. Эксперименты ставились в 8 повторах. *Результаты.* Выявлено увеличение вирусной репликации в 1,3-1,8 раза в присутствии высоких концентраций обоих гормонов (26 мкг/мл, 136 мкг/мл). При культивировании инфицированных клеток одновременно в присутствии гормонов и АРТ-препаратов разного класса отмечено неполное подавление репродукции вируса. Средний показатель уровня подавления вирусной репликации для β-эстрадиола составил 77,3% и 69,8% для прогестерона. В отсутствии гормонов при добавлении АРТ-препаратов в той же самой концентрации (2,5 мкг/мл) наблюдалось полное подавление вирусной продукции. *Заключение.* Показано, что *in vitro* высокие концентрации стероидных гормонов усиливают репликацию ВИЧ-1 и, как следствие, снижают эффективность АРТ-препаратов. Учитывая это, женщинам, имеющим высокий риск инфицирования ВИЧ, целесообразно перед назначением гормональной контрацепции проводить мониторинг уровня гормонов, который меняется во время менструального цикла и беременности.

Журн. микробиол., 2019, № 1, С. 85—90

Ключевые слова: ВИЧ-1 субтипа А6, женские половые гормоны, вирусная репликация, антиретровирусные препараты

М.Н.Носик¹, К.А.Рыжов¹, А.Б.Потапова²

REPLICATION OF HIV-1 SUBTYPE A6 IN THE PRESENCE OF HORMONES INCLUDED IN THE MODERN HORMONAL CONTRACEPTIVES

¹Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, ²Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Aim. To study how female hormones included in oral contraceptives (β-estradiol and progesteron) affect HIV-1 replication and efficacy of antiviral drugs. *Material and methods.* Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and cell lines MT-4, Jurkat were infected with HIV-1 (subtype A6). Afterwards the cells

were cultured for 6 days in the presence of β -estradiol/progesterone with or without the presence of antiretroviral drugs Lamivudin (ЗТС), Etravirin(ETR) and Indinavir (IDV), which are widely used for HIV treatment. Virus production was monitored by p24 levels in culture supernatants on day 6. The experiments were performed in eight repetitions. *Results.* There was a 1,3-1,8-fold increase of virus replication in the presence of high concentrations of both hormones (26, 136 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Incomplete suppression of viral replication was observed when infected cells were co-cultivated in the presence of hormones (26 μg , 136 μg) and antiretroviral drugs. The mean suppression rate of viral replication for β -estradiol was 77.3% and 69.8% for progesterone. However, in the absence of hormones the virus production was completely suppressed by those drugs. *Conclusion.* The high concentrations of steroid hormones induce HIV-1 replication and as a result reduce the efficacy of antiretroviral drugs NVP and IDV in vitro. Thus it is advisable for women at high risk of HIV infection to monitor hormone levels that change during the menstrual cycle and pregnancy before prescribing hormonal contraception.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 1, P. 85—90

Key words: HIV-1 subtype A6, female hormones, viral replication, antiretroviral drugs

ВВЕДЕНИЕ

В общемировом масштабе женщины и девочки по-прежнему остаются самой уязвимой группой по ВИЧ-инфекции. Из 36,7 миллионов людей, живущих с ВИЧ, 51% (18,8 миллионов) составляют женщины [UNAIDS, 2018]. Согласно ВОЗ, каждый день среди новых ВИЧ-инфицированных около 43% составляют женщины. При этом 19% ВИЧ-инфицированных женщин — это девушки в возрасте 15-24 лет [1, 2]. Заболевания, связанные с ВИЧ-инфекцией, остаются ведущей причиной смерти женщин репродуктивного возраста. Показатели сокращения смертности среди женщин по-прежнему остаются более высокими, чем у мужчин. Этот гендерный разрыв особенно заметен в Африке к югу от Сахары, где 56% людей, живущих с ВИЧ — это женщины. К сожалению, данная проблема также актуальна и для отечественного здравоохранения. В России в 2017 г. среди вновь выявленных ВИЧ-инфицированных доля женщин составила 40%, из которых 35,3% — это женщины репродуктивного возраста. Согласно эпидемиологическому исследованию, проведенному среди ВИЧ-положительных женщин, у 45,4% женщин беременность наступила после установления диагноза ВИЧ-инфекции [3]. По предварительным данным среди впервые выявленных в 2017 г. ВИЧ-позитивных лиц с установленными факторами риска, 0,8% составляли дети, инфицированные от матерей во время беременности, родов и при грудном вскармливании [Справка «ВИЧ-инфекция в РФ в 2017 г.»].

В заявлении ВОЗ говорится, что доступ к квалифицированной медицинской помощи, службам планирования семьи и доступ к полному спектру методов контрацепции имеют основополагающее значение для обеспечения прав и благополучия женщин и девочек. В связи с этим, ВОЗ настоятельно рекомендует использование методов гормональной контрацепции для женщин, имеющих высокий риск инфицирования ВИЧ, и женщин, живущих с ВИЧ, в том числе и тех, кто получает антиретровирусную терапию (АРТ). ВОЗ также подчеркивает, что добровольное применение комбинированной гормональной контрацепции женщинами, живущих с ВИЧ и желающими предотвратить нежелательную беременность, является важной стратегией для профилактики (сокращения) передачи ВИЧ-инфекции от матери к ребенку [13]. Однако в настоящее время имеющиеся данные, относительно того, влияет ли применение гормональной контрацепции на риск повышения инфицирования ВИЧ, по-прежнему остаются противоречивыми. Например, несколько исследований показало, что использование инъекционного контрацептива медроксипрогестерона ацетата может повышать риск инфицирования ВИЧ. Десятилетнее исследование, включающее 1498 женщин и проведенное среди работниц секс-индустрии Кении, выявило, что у женщин, которые использовали медроксипрогестерон ацетат или оральные контрацептивы, был повышенный риск инфицирования ВИЧ, по сравнению с женщинами, не применяющими гормональную контрацепцию [7]. Широкомасштабное исследование, проведенное среди жительниц 4 африканских

стран: Кении, Лесото, Малави и Зимбабве (4549 женщин), также показало, что у женщин, использующих медроксипрогестерон ацетат, отмечался повышенный риск инфицирования ВИЧ [8]. Напротив, другое исследование, проведенное в Уганде и Зимбабве (4439 женщин), не выявило повышенного риска инфицирования ВИЧ, связанного с использованием оральных или инъекционных контрацептивов [9]. Не было выявлено увеличения риска прогрессирования ВИЧ-инфекции среди ВИЧ-инфицированных женщин, использующих гормональную контрацепцию, и в результате исследования, проведенного в семи странах Восточной и Южной Африки с участием 2269 хронически инфицированных женщин [6].

Основываясь на имеющихся данных 1 июня 2015 г., ВОЗ выпустила 5 издание руководства «Рекомендации по использованию методов гормональной контрацепции у женщин, имеющих высокий риск инфицирования ВИЧ», включающее более 2000 рекомендаций относительно 25 различных методов контрацепции. В декабре 2016 г. в данные рекомендации были внесены некоторые уточнения. В рекомендациях указывается, что поскольку существующие исследования по изучению связи между применением гормональной контрацепции и инфицированием ВИЧ имеют важные методологические ограничения, затрудняющие их интерпретацию, невозможно дать однозначный ответ, увеличивают ли гормональные средства контрацепции риск инфицирования ВИЧ или нет [12]. В них подчеркивается, что в проведенных исследованиях не были учтены такие поведенческие характеристики женщин, как ее сексуальная активность, использование или неиспользование презервативов, наличие нескольких сексуальных партнеров, т.е. те факторы, которые могут также оказывать влияние на риск инфицирования ВИЧ. Поэтому женщинам, имеющим высокий риск ВИЧ-инфицирования, и женщинам с бессимптомным или умеренным клиническим течением заболевания ВИЧ (стадия 1 или 2 по классификации ВОЗ) рекомендуется применять без ограничения методы комбинированной гормональной контрацепции (комбинированные оральные контрацептивы, комбинированные контрацептивные пластыри, комбинированные контрацептивные вагинальные кольца), чисто прогестиновые таблетки, субдермальные контрацептивные импланты, содержащие левоноргестрел (ЛНГ) и этоноргестрел (ЭТГ). Женщинам, имеющим высокий риск ВИЧ-инфицирования, также рекомендуется использовать такие инъекционные средства, как медроксипрогестерон ацетат и норэтистерон энантат, поскольку преимущества данного метода контрацепции перевешивают возможное повышение риска инфицирования ВИЧ. При этом подчеркивается, что женщин, использующих инъекционный метод прогестиновой контрацепции и имеющих высокий риск ВИЧ-инфицирования, необходимо информировать о том, что есть вероятность того, что чисто прогестиновые инъекционные средства контрацепции могут повышать риск инфицирования ВИЧ. Поэтому им следует настоятельно рекомендовать всегда использовать мужские или женские презервативы, а также другие меры профилактики ВИЧ.

С учетом широкого применения гормональной контрацепции и противоречивых данных о ее влиянии на прогрессирование ВИЧ-инфекции нами было проведено изучение на модели клеточных культур, как женские гормоны, входящие в состав контрацептивов (β -эстрадиол и прогестерон), влияют на репликацию ВИЧ-1 и эффективность действия антиретровирусных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клеточные культуры: мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) доноров, стимулированные ФГА (2 мкг/мл); лимфобластоидные клеточные линии MT-4 и Jurkat. Инфицирование клеток: клетки инфицировались ВИЧ-1 субтипа А6, преобладающего на большей части территории Российской Федерации, и культивировались в течение 6 дней в присутствии различных концентраций β -эстрадиола и прогестерона, без/или с добавлением антиретровирусных препаратов ламивудина (ЗТС), этравирина (ЕТР) и индинавира (IDV). Мониторинг вирусной продукции осуществлялся путем количественного определения р24 в культуральной жидкости клеток, на 6 день после инфицирования. эксперименты ставились в 8 повторах.

Концентрации гормонов: 1,1 мкг/мл — 5,4 мкг/мл (низкие концентрации); 26 мкг/мл — 136 мкг/мл (высокие концентрации).

Схемы инфицирования клеток: клетки + гормон, контакт 30 мин + вирус; клетки + вирус, контакт 30 мин + гормон; одномоментное внесение вируса и гормона в клетки.

Антиретровирусные препараты: ламивудин (ЗТС) — 2,5 мкг/мл; этравирин (ЕТР) — 2,5 мкг/мл; индинавир (IDV) — 2,5 мкг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Низкие концентрации β -эстрадиола (1,1-5,4 мкг/мл) ингибировали репликацию вируса (p24: 1,8 и 3,8 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,03$ и $p \leq 0,02$; контроль вируса (КВ): 9,0 нг/мл). Те же самые концентрации прогестерона незначительно снижали уровень вирусной продукции (p24: 6,7 и 8,0 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,02$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл). Однако наблюдалось увеличение вирусной репликации в присутствии более высоких концентраций β -эстрадиола и прогестерона. При концентрациях β -эстрадиола в количестве 26-136 мкг/мл уровень p24 составил 12 и 16,5 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,02$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл. При концентрациях прогестерона 26-136 мкг/мл, уровень p24 составил 11,7 и 16,0 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,03$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл.

При культивировании инфицированных МНК одновременно, в присутствии β -эстрадиола (26 мкг, 136 мкг) и препарата класса НИОТ ламивудина (ЗТС, 2,5 мкг/мл) было отмечено неполное подавление репликации вируса (p24: 0,7 нг/мл и 1,2 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,02$ и $p \leq 0,01$; КВ: 9,0 нг/мл). Неполное подавление вирусной продукции наблюдалось и при культивировании инфицированных МНК одновременно, в присутствии прогестерона (26 мкг, 136 мкг) и ЗТС (2,5 мкг/мл): (p24: 1,7 нг/мл и 2,6 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,02$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл). Аналогичная картина наблюдалась при репликации вируса в присутствии гормонов и препарата класса НИОТ этравирина (ЕТР, 2,5 мкг/мл): β -эстрадиол (26 мкг, 136 мкг): p24: 0,9 нг/мл и 1,5 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл); Прогестерон (26 мкг, 136 мкг): p24: 1,7 нг/мл и 2,6 нг/мл; $p \leq 0,02$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл. Также неполное подавление репликации вируса отмечалось при культивировании инфицированных МНК в присутствии гормонов и препарата класса ИП индинавира (IDV 2,5 мкг/мл): β -эстрадиол (26 мкг, 136 мкг) — p24: 3,5 нг/мл и 4,4 нг/мл, соответственно; $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл; Прогестерон (26 мкг, 136 мкг) — p24: 2,9 нг/мл и 4, 2 нг/мл соответственно; $p \leq 0,02$ и $p \leq 0,02$; КВ: 9,0 нг/мл. В отсутствие гормонов при добавлении антиретровирусных препаратов (ЗТС, ЕТР, IDV) в той же самой концентрации (2,5 мкг/мл) наблюдалось полное подавление вирусной продукции.

При использовании различных клеток получены одинаковые результаты. Также не было выявлено разницы в результатах при использовании разных схем инфицирования клеточных культур.

Таким образом, в ходе проведенных исследований по изучению влияния женских половых гормонов β -эстрадиола и прогестерона, входящих в состав современных гормональных контрацептивов, было показано, что *in vitro* высокие концентрации стероидных гормонов усиливают вирусную репликацию в 1,3 раза при концентрации 26 мкг/мл и в 1,8 раза при концентрации 136 мкг/мл. Вследствие повышения репликации вируса происходит снижение эффективности действия антиретровирусных препаратов и неполное подавление вирусной активности. Так, подавление репликации вируса при концентрации гормонов 26 мкг/мл и в присутствии препарата класса НИОТ (нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы) для β -эстрадиола составило 92%, для прогестерона — 77% ($p \leq 0,02$ и $p \leq 0,02$, соответственно). При концентрации гормонов 136 мкг/мл подавление репликационной активности для β -эстрадиола отмечалось на 87%, для прогестерона — на 69% ($p \leq 0,01$ и $p \leq 0,02$). Аналогичная картина наблюдалась при репликации вируса в присутствии гормонов и препарата класса НИОТ (ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы). Подавление репликации вируса при концентрации гормонов 26 мкг/мл для

β -эстрадиола отмечалось на 90%; для прогестерона — на 81% ($p \leq 0.01$ и $p \leq 0.02$), и при концентрации гормонов 136 мкг/мл для β -эстрадиола — на 83%; для прогестерона — на 71% ($p \leq 0.02$ и $p \leq 0.02$). Неполное подавление репликации вируса также выявлено при репликации вируса в присутствии высоких концентраций гормонов и препарата класса ИП (ингибиторы протеазы). Подавление репликации вируса при концентрации гормонов 26 мкг/мл для β -эстрадиола отмечалось лишь на 61%; для прогестерона — на 68% ($p \leq 0.02$ и $p \leq 0.02$). При концентрации гормонов 136 мкг/мл ингибирование репликативной активности для β -эстрадиола выявлено на 51%; для прогестерона — на 53% ($p \leq 0.01$ и $p \leq 0.01$). В отсутствие гормонов в инфицированных клетках при добавлении антиретровирусных препаратов различного класса наблюдалось полное подавление вирусной продукции.

Механизмы, в результате которых эстрадиол и прогестерон усиливают активность вируса, не до конца ясны. Но недавние исследования показали, например, что рецептор эстрогена ER α взаимодействует со многими транскрипционными факторами, включая Sp1, AP-1, NF-kB, влияя на их транскрипционную активность [10,11]. В то же время, хорошо известно, что NF-kB и Sp1 являются ключевыми факторами стимуляции репликации ВИЧ-1. Возможно, что эстраген активирует транскрипцию вируса путем взаимодействия с транскрипционными факторами NF-kB и Sp1. Также было установлено, что прогестерон увеличивает экспрессию CXCR4 (ко-рецептор, играющий ключевую роль в инфицировании клетки-мишени вирусом) на поверхности как неинфицированных, так и инфицированных мононуклеарных клеток [5]. Это позволяет предположить, что прогестерон может оказывать влияние на ВИЧ на рецепторном уровне.

Известно, что физиологический гормональный уровень колеблется в периферической крови и репродуктивных органах женщин в течение менструального цикла. Накоплено достаточно много данных, свидетельствующих о том, что подобная флуктуация уровня гормонов играет важную роль при иммунном ответе организма на ВИЧ-инфекцию и подверженности инфицированию. Показано, что эстрадиол и прогестерон регулируют репликацию ВИЧ-1 в МНК, усиливая репликацию вируса в середине пролиферативной фазы и снижая его репродукцию в середине секреторной фазы [4]. Усиление вирусной репликации под воздействием женских половых гормонов свидетельствует о том, что на эффективность действия антиретровирусных препаратов в значительной степени может влиять гормональный уровень пациента. Учитывая это, женщинам, имеющим высокий риск инфицирования ВИЧ, целесообразно перед назначением гормональной контрацепции проводить мониторинг уровня β -эстрадиола и прогестерона, который может меняться во время менструального цикла и беременности. Женщинам, получающим АРТ и применяющим методы гормональной контрацепции, необходимо проводить одновременный мониторинг уровня гормонов и концентрации антиретровирусных препаратов не только в плазме крови, но и на клеточном уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВОЗ. Планирование семьи. Информационный бюллетень. Декабрь 2016 г.
2. ВОЗ. Информационный бюллетень, июль 2018 г.
3. Воронин Е.Е., Афонина Л.Ю., Орлова-Морозова Е.А., Плотникова Ю.К., Радзиховская М.В. Демографические и клинические характеристики ВИЧ-инфицированных женщин в рутинной клинической практике в Российской Федерации: результаты многоцентрового перекрестного неинтервционного исследования. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017, 3:42-49.
4. Asin S.N., Heimberg A.M., Eszterhas S.K. et al. Estradiol and progesterone regulate HIV type 1 replication in peripheral blood cells. AIDS Research and Human Retroviruses. 2008, 24(5):701-716.
5. Cabrera-Munoz E., Fuentes-Romero L.L., Zamora-Chavez J. et al. Effects of progesterone on the content of CCR5 and CXCR4 coreceptors in PBMCs of seropositive and exposed but uninfected Mexican women to HIV-1. J. Steroid Biochemistry and Mol. Biol. 2012, 132:66-72.
6. Heffron R., Mugo N., Ngure K. et al. Hormonal contraceptive use and risk of HIV-1 disease progression. AIDS. 2012, 27:261-267.
7. Lavreys L., Martin H.L. Hormonal contraception and risk of HIV-1 acquisition: results of a 10-year prospective study. AIDS. 2004, 18:695-697.

8. Leclerc P.M., Dubois-Colas N., Garenne M. Hormonal contraception and HIV prevalence in four African countries. *Contraception*. 2008, 77:371-376.
9. Morrison C.S., Richardson B.A., Mmiro F. et al. Hormonal contraception and the risk of HIV acquisition. *AIDS*. 2007, 21:85-95.
10. Schultz J.R., Petz L.N., Nardulli A.M. Estrogen receptor alpha and Sp1 regulate progesterone receptor gene expression. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2003, 201:165-75.
11. Stein B., Yang M.X. Repression of the interleukin-6 promoter by estrogen receptor is mediated by NF-kappa B and C/EBP beta. *Mol. Cell. Biol.* 1995, 15:4971-4979.
12. WHO. Hormonal contraceptive eligibility for women at high risk of HIV. Guidance statement: Recommendations concerning the use of hormonal contraceptive methods by women at high risk of HIV. December 2016.
13. WHO. Hormonal contraceptive eligibility for women at high risk of HIV. Updated February 2017.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

О.А.Петруша¹, Т.Л.Черниченко², И.А.Кофиади³, В.В.Зверев^{1,4}, Е.Б.Файзулов¹

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДА ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ С ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ В ДИАГНОСТИКЕ ПАРВОВИРУСНОГО ЭНТЕРИТА У ПЛОТОЯДНЫХ

¹НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, ²ООО «Биоцентр», ³ООО «ДНК-Технология», Москва; ⁴Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова

Цель. Оценка параметров диагностической ценности метода петлевой изотермической амплификации ДНК с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (real-time LAMP, RT-LAMP) на модели парвовирусов энтерита плотоядных. *Материалы и методы.* Образцы фекалий, крови и мазков из прямой кишки разных видов хищных животных с парвовирусным энтеритом (n=39) и здоровых животных (n=31), а также лабораторные штаммы вируса энтерита норки были проанализированы методом RT-LAMP с использованием красителей SYTO-9 и SYTO-82. В качестве референтного метода использовалась ПЦР в режиме реального времени. *Результаты.* Показано, что метод RT-LAMP на модели парвовирусного энтерита плотоядных обеспечивает высокие показатели аналитической чувствительности ($1,5 \times 10^3$ копий ДНК/мл), диагностической чувствительности и специфичности (до 100% при оптимальных условиях). Краситель SYTO-82 обеспечивал более высокое отношение сигнал/фон ($22,6 \pm 2,1$), чем краситель SYTO-9 ($6,3 \pm 1,5$) ($p < 0,0000001$). Вместе с тем, с красителем SYTO-9 на пределе чувствительности (10 копий ДНК) прирост флуоресценции в реакционной смеси наблюдался на 13 минут раньше, чем для SYTO-82 (23 и 36 минут, соответственно). *Заключение.* Реакция RT-LAMP является перспективным методом для быстрой и высокочувствительной диагностики инфекционных заболеваний на месте лечения, а также в условиях животноводческих хозяйств или в походно-полевых условиях.

Журн. микробиол., 2019, № 1, С. 90—95

Ключевые слова: диагностика вирусных инфекций, петлевая изотермическая амплификация ДНК, LAMP, SYTO-9, SYTO-82, парвовирус плотоядных

О.А.Petrusha¹, Т.Л.Chernichenko², I.A.Kofiadis³, V.V.Zverev^{1,4}, E.B.Faizulov¹

EFFECTIVENESS OF THE LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION WITH FLUORESCENT DETECTION IN THE DIAGNOSIS OF PARVOVIRUS ENTERITIS IN CARNIVORES

¹Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, ²Company «Biocenter», ³Company «DNA-Technology», Moscow; ⁴Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

The *aim* of the study was to evaluate the diagnostic value of the method of loop-mediated isothermal amplification of DNA with real-time fluorescent detection (real-time LAMP, or RT-LAMP) on the model of carnivore parvoviruses. *Materials and methods.* Samples of feces, blood and swabs from the rectum of different species of predatory animals with parvovirus enteritis (n = 39) and healthy animals (n = 31), as well