

Лунка 5	0,421	0,303	0,153	
Лунка 6	0,309	0,286	0,127	
Медиана	0,448	0,250	0,127	

Выводы:

1. Статический метод культивирования с использованием пластикового планшета для ИФА позволяет с минимальными материальными затратами в течение 24 часов получить биопленки *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 25923.

2. Предложенный алгоритм визуализации биопленок и измерения степени биопленкообразования может быть использован для культур *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 25923.

3. У *E. coli* ATCC 25922 отмечали большую степень биопленкообразования, чем у *S. aureus* ATCC 25923 при использованных условиях культивирования.

Список литературы:

1. Мелешкин Н.С. Биопленка как форма существования микроорганизмов. Действие факторов иммунной системы // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – №2. - С. 32.

2. Шварц Т.А. Биопленки как микробное сообщество // Вестник Курганского университета. Серия Естественные науки. – 2015. - №35. - С. 41-44.

3. Attinger C., Wolcott R. Clinically addressing biofilm in chronic wounds. Adv. Wound Care. – 2012. - №1. – P. 127–132.

4. Luciana C.G. Optimization of cultivation conditions for *E. coli* biofilm formation in microtiter plates. Dissertation for Master's degree in Bioengineering Supervised by Professor Filipe Mergulhão / Department of Chemical Engineering Faculty of Engineering, Porto University. - July 2011. – P. 99.

5. Rogers S.A., Huigens R.W.III, Cavanagh J., Melander C. Synergistic effects between conventional antibiotics and 2-aminoimidazole-derived antibiofilm agents / Antimicrob. Agents Chemother. – 2010. – №54. - P. 2112–2118.

6. Romling U., Balsalobre C. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies / J. Intern. Med. – 2012. - №272. – P. 541–561.

УДК 61:001.89

Шарабрин С.В., Усольцева П.С., Бурцева Ю.Ю
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
НЕПОЛИОМИЕЛИТНЫХ ЭНТЕРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРОВАВШИХ В
УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ В 2017 -
2018 гг.

ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора
Екатеринбург, Российская Федерация

Sharabrin S.V., Usoltseva P.S., Burtseva Y.Y.
**MOLECULAR AND GENETIC ANALYSIS OF NONPOLIOMYELITIC
ENTEROVIRUSES CIRCULATED IN THE URAL FEDERAL DISTRICT AND
WESTERN SIBERIA IN 2017 - 2018**

Federal Budget Institution of Science
"Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections" Federal
Service for Supervision in the sphere of protection of rights
Consumers and Human Welfare,
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: Sharabrin.sv@gmail.com

Аннотация. В статье представлены результаты молекулярно-генетического анализа штаммов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулировавших на территории Уральского федерального округа и Западной Сибири в 2017 - 2018 гг.

Annotation. The article presents the results of a molecular genetic analysis of non-polio enterovirus strains circulating in the Urals Federal District and Western Siberia, in 2017–2018.

Ключевые слова: филогенетический анализ, неполиомиелитные энтеровирусы, эховирус 30, коксакивирус В5

Key words: phylogenetic analysis, non-polio enteroviruses, echovirus 30, coxsackievirus B5

Введение

Значимость энтеровирусной инфекции (ЭВИ) определяется: широким и быстрым распространением энтеровирусов среди населения, отсутствием средств специфической профилактики, постоянным появлением новых высоковирулентных штаммов из-за неконтролируемой и плохо прогнозируемой изменчивости энтеровирусов, большим разнообразием этиологических агентов (119 видов) и широким спектром клинических проявлений из-за способности энтеровирусов поражать практически любые органы и системы человека, включая ЦНС, а недостаточная изученность эпидемических свойств существенно затрудняет разработку эффективных методов прогнозирования и профилактики распространения ЭВИ [1,2].

Цель исследования - проведение молекулярно-генетического анализа штаммов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулировавших на территории Уральского федерального округа и Западной Сибири в 2017 - 2018 гг.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе регионального Урало-Сибирского научно-методического центра по изучению ЭВИ (г. Екатеринбург), который курирует все территории Уральского федерального округа (УФО) и пять территорий Западной Сибири. Для определения пейзажа циркулировавших в 2017-2018 гг. энтеровирусов был исследован биологический материал от 742 человек (больных с

признаками ЭВИ и контактных лиц). Генотипирование проводили методом сравнения, с помощью алгоритма BLAST, последовательностей нуклеотидов, полученных в результате прямого секвенирования участка структурной части генома энтеровирусов (1А-1В) с референсными последовательностями, представленными в международной базе генетических данных GenBank. Выравнивание последовательностей нуклеотидов и аминокислот, а также филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ и статистическую обработку результатов проводили с использованием программы MEGA (v.7.0). Филограммы были построены по алгоритму Neighbor-Joining. Расчет эволюционных дистанций между последовательностями производили согласно двухпараметрической модели Кимуры [4,5]. Достоверность топологии филограммы оценивали методом повторных выборок (bootstrap test) на основании анализа 1000 псевдореплик. Достоверными считали построения при индексе поддержки не менее 75%.

Результаты исследования и их обсуждение

Генотип энтеровирусов был определен в 639 случаях (86,1%). В исследованном материале удалось обнаружить энтеровирусы 29-ти генотипов, принадлежащие 4-м видам - А, В, С и D, а также энтеровирусы видов Rhinovirus А, В и С. Наибольшее количество генотипированных штаммов принадлежит видам А (34,8%) и В (60,0%).

Спектр энтеровирусов вида А представлен 8-ю генотипами (Coxsackievirus А2, А4, А5, А6, А8, А10, А16 и Enterovirus А71). По сравнению с 2017 г. в 2018г. сменился доминирующий генотип. Доля Coxsackievirus А6 уменьшилась с 84,4% до 30,0%, а доли Coxsackievirus А16 и Enterovirus А71 увеличились до 33,6% и 22,1% соответственно. Спектр энтеровирусов вида В стал более гетерогенен: в 2017 году он был представлен 12 генотипами (Е3, Е6, Е9, Е13, Е16, Е18, Е25, Е30, СА9, СВ3, СВ4, СВ5), а в 2018 году - 19-ю генотипами (Echovirus Е3, Е5, Е6, Е7, Е9, Е11, Е13, Е14, Е16, Е18, Е24, Е25, Е30, Е33, Coxsackievirus А9, В1, В3, В4, В5). В 2018, как и в 2017 г., доминировал генотип Echovirus Е30 (его доля уменьшилась с 74,0% до 24,9%) и в 2018 стал доминировать вирус Coxsackievirus В5 (его доля резко возросла в 8 раз с 2,9% до 24,0%). Значительно выросла доля Echovirus Е18 - с 0,98% до 8,3%. Существенную долю стали составлять Coxsackievirus В4 - 13,6% (2,8% в 2017) и Echovirus Е6 - 9,9% (6,8% в 2017) [3].

Филогенетический анализ показал, что большинство обнаруженных геновариантов неполиомиелитных энтеровирусов циркулируют на курируемых территориях уже несколько лет [2]. Однако особого внимания заслуживает факт включения в активную циркуляцию нового геноварианта "е" энтеровируса Echovirus Е30 (Е30е). Данный геновариант циркулировал на территории УФО около 10 лет назад и вызывал значительные эпидемические подъемы заболеваемости ЭВМ среди населения территорий. В 2018 году циркуляция данного геноварианта была зафиксирована сразу на территории 5-ти субъектов УФО и Западной Сибири: Свердловская, Тюменская, Курганская, Новосибирская области и ХМАО-Югра. На филограмме, построенной по последовательности, кодирующей участок структурной части генома энтеровирусов (1А-1В) (рисунок

1) представлены штаммы E30, выделенные от больных ЭВМ в 2017-2018 годах с данных территорий (n=81). Штаммы делятся на два кластера: первый кластер, геновариант «h», представлен 66 штаммами, а второй, геновариант «e» – 15.

Геновариант E30h (1 кластер) циркулирует на территории РФ с 2013 года, и представлен двумя субгеновариантами (g1 и g2). Субгеновариант g2 наиболее генетически близок к штамму, выделенному в Германии в 2013 году. В 2017 году в УФО и Западной Сибири он встречался на территории Новосибирской и Курганской области, в 2018 году практически не выделялся. Субгеновариант g1 имеет генетическое родство к штамму, выделенному в США в 2017 году, и встречался на 5 курируемых территориях в 2017 и в 2018 году.

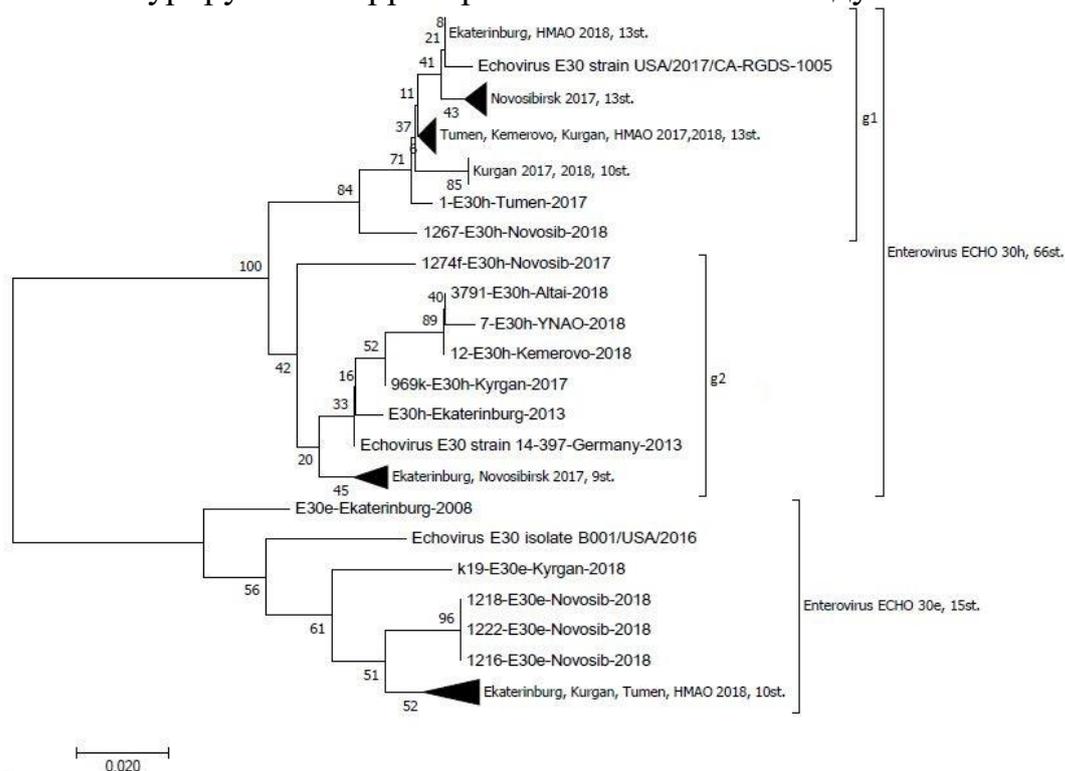


Рисунок 1. Филограмма штаммов вируса E30, выделенных на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири (2017 и 2018 гг.)

Филогенетический анализ показал, что штаммы E30e, выявленные в 2018 году, образуют монофилетический кластер, наиболее генетически близкий к штаммам выделенных в США в 2016 году, отдельно от штаммов, вызвавших подъем заболеваемости ЭВМ в ряде субъектов РФ в 2007 - 2009 гг. (штамм **E30e-Ekb-2008**) и продолжавших циркулировать до 2011 г. Новый штамм до 2018 года не выделялся. Это свидетельствует о том, что возобновление циркуляции вируса E30e в РФ является следствием нового заноса этого геноварианта вируса на территорию страны, а не продолжавшейся циркуляцией старого генотипа.

Филогенетический анализ энтеровируса СВ5 показал, что в основном на курируемых территориях циркулировал один геновариант. На филограмме, построенной по последовательности, кодирующей участок структурной части генома энтеровирусов (1А-1В) (рисунок 2) представлены 52 штамма СВ5, выделенных от больных ЭВМ в 2017-2018 годах с данных территорий.

Представленные штаммы делятся на два кластера: первый кластер представлен 46 штаммами, а второй - 5. Еще 1 генотип встретился только один раз, и не вошел ни в один из кластеров. Согласно анализу, большой кластер имеет генетическое родство к генотипу, выделенному в Австралии в 2017 году. Он циркулировал на 8 курируемых территориях, и встречался только в 2018 году, что говорит о возможности импорта нового штамма. Малый кластер представлен 5 штаммами, которые были наиболее генетически родственны штамму, выделенному Китае в 2013 году, и были обнаружены только в Омской области и ХМАО как в 2017, так и в 2018 году.

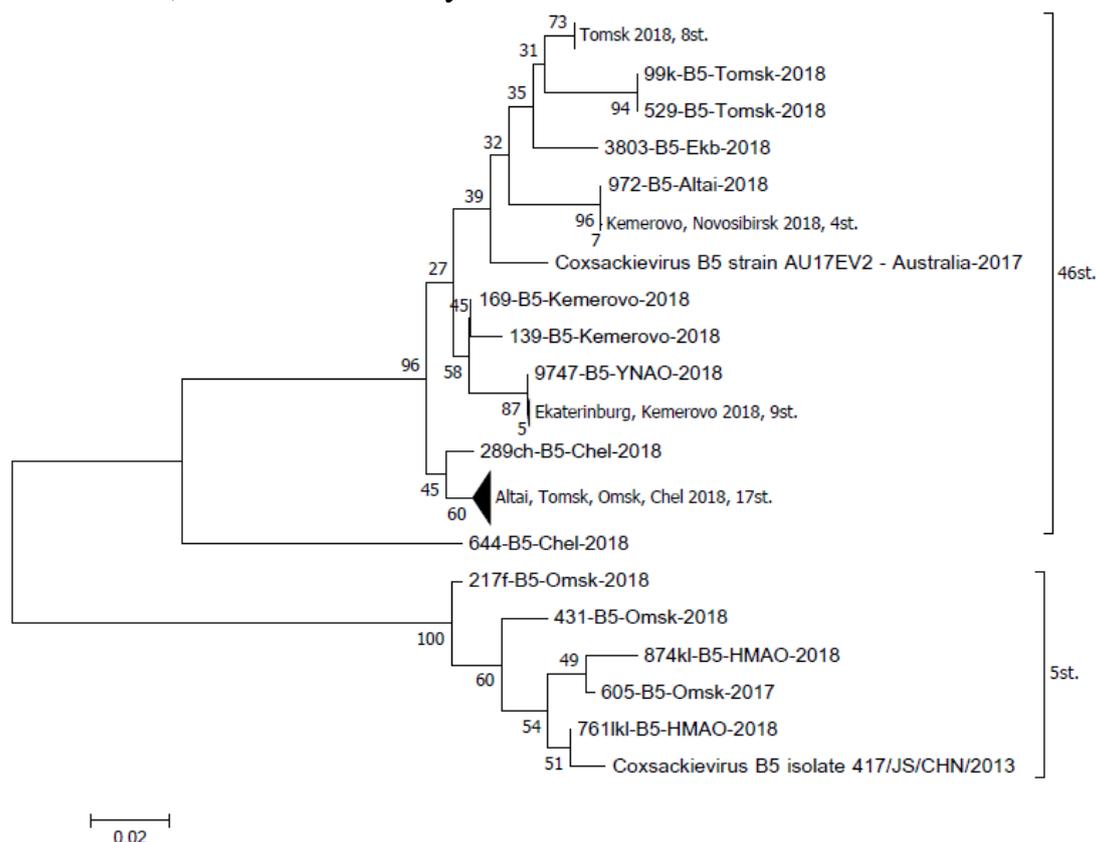


Рисунок 2. Филограмма штаммов вируса СВ5, выделенных на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири (2017 и 2018 гг.)

Все случаи Coxsackievirus A6 - инфекции были связаны с вирусом недавно сформировавшегося генотипа, который в настоящее время имеет пандемическое распространение, а в РФ активно проявляется при вспышечной и спорадической заболеваемости энтеровирусной экзантемой, герпангиной и малыми формами ЭВИ начиная с 2012 г.

Выводы:

1. В 2018 по сравнению с 2017 г., в структуре энтеровирусов вида А доля Coxsackievirus A6 существенно уменьшилась, а доли Coxsackievirus A16 и Enterovirus A71 увеличились.
2. Спектр энтеровирусов вида В стал более гетерогенным, доминирующие позиции заняли два генотипа: Echovirus E30 и Coxsackievirus B5;
3. Зафиксирован факт импорта на территорию УФО и Западной Сибири

нового геноварианта "е" энтеровируса Echovirus E30, и Coxsackievirus B5.

Список литературы:

1. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В., Зуева В.Л., Богуш З.Ф., Дедюля К.Л., Лукашев А.Н. Энтеровирусная инфекция в республике Беларусь. Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2014. - №19(5). - С. 37-43.
2. Голицина Л.Н., Зверев В.В., Парфенова О.В., Новикова Н.А. Эпидемические варианты неполиомиелитных энтеровирусов в России. Медицинский альманах. - 2015. - №5(40). – С.136-140.
3. Резайкин А.В., Бурцева Ю.Ю., Усольцева П.С., Шарабрин С.В., Алимов А.В. Энтеровирусная инфекция в Уральском Федеральном округе и Западной Сибири в 2017 году. Информационный бюллетень за 2017 год. Екатеринбург, 2018.
4. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution. 1980. - №16. - P.111-120.
5. Kumar S., Stecher G., and Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution. - 2016. - №33. - P.1870-1874.

УДК 616.155.02

**Шмаков Д.А, Партылова Е.А.
АНАЛИЗ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА FLT3 У ПАЦИЕНТОВ
С ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

Кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Shmakov D.A., Partylove E.A.
ANALYSIS OF EXPRESSION LEVEL OF FLT3 GENE IN PATIENTS
WITH ACUTE LEUKEMIA**

Department of clinical laboratory diagnostics and bacteriology
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: scmakovdenis@yandex.ru

Аннотация. Проведен ретроспективный анализ результатов обследования и лечения 143 пациентов с ОМЛ, ОЛЛ. Средний уровень экспрессии гена FLT3 при ОМЛ составил 5894 %, при ОЛЛ - 2517 % в сравнении с нормальной экспрессией гена при ОМЛ - 400 %, при ОЛЛ – 750 %. При рассмотрении возрастных категорий повышенная частота экспрессии гена FLT3 как при ОМЛ, так и при ОЛЛ отмечается у пациентов в промежутке от 41 до 60 лет, наименьшая частота экспрессии гена FLT3 в возрасте старше 61 года.