

знать о вакцинации. Проведенное исследование способствовало разработке рекомендаций по повышению уровня знаний среди студентов как ключевого звена, ответственного за предоставление достоверной информации населению о пользе и безопасности иммунизации.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Russell FM, Greenwood B. Who should be prioritised for COVID-19 vaccination? *Hum Vaccin Immunother.* 2021 May 4;17(5):1317-1321.
2. Озерецковский Н.А. Система регистрации и расследования поствакцинальных осложнений в России // *Вакцинация.* – 2000. – №. 5. – С. 10.
3. The State of Vaccine Confidence 2016: Global insights through a 67-country survey / Heidi J., Alexandre de Figueiredo, Zhao X., et al. // *EbioMedicine.* 2016; 12: 295 – 301.
4. Брико Н.И., Фельдблюм И.В. Иммунопрофилактика инфекционных болезней в России: состояние и перспективы совершенствования // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* – 2017. – Т. 16, № 2 (93). – С. 4-9.
5. Волкова П. И др. Отказ от вакцинации - новая чума XXI века // *Российский медицинский журнал.* – 2019. – Т. 25, №. 3. – С. 138-142.

## Сведения об авторах

А.Д. Катаева – студент

А.В. Анкудинова – кандидат медицинских наук, доцент

## Information about the authors

A.D. Kataeva – student

A.V. Ankudinova – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor

УДК: 57.083.224

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ К ВИРУСАМ КОКСАКИ ГРУППЫ В

Андрей Евгеньевич Кейних<sup>1</sup>, Анна Владимировна Остапчук<sup>2</sup>, Александр Григорьевич Сергеев<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

<sup>2,3</sup>Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия

<sup>1</sup>a1kostarew@gmail.com

## Аннотация

**Введение.** В доступной литературе отсутствуют данные о сравнительной оценке чувствительности клеточных культур, используемых для индикации и идентификации вирусов Коксаки группы В. **Цель исследования** – сравнительная оценка чувствительности перевиваемых клеточных линий человеческого происхождения к вирусам Коксаки группы В. **Материалы и методы.** Чувствительность перевиваемых линий клеток Нер-2 (карцинома

гортани), Л-41 КД/84 (миелобласты), РН (почка), АМН (клетки амниона) к прототипным штаммам вирусов Коксаки В типов 1-6 исследовали путем определения минимальной заражающей дозы вируса для каждой клеточной культуры. **Результаты.** Клетки Нер-2 показали наиболее высокую чувствительность к вирусу Коксаки В4 и высокую чувствительность к остальным серотипам вирусов Коксаки В. Наименее чувствительной оказалась культура клеток РН. Чувствительность клеток Л-41 КД/84 к трем из шести серотипов оказалась ниже, по сравнению с Нер-2. Клетки АМН показали высокую чувствительность к вирусу Коксаки В1, однако были в 1000 раз менее чувствительны к заражению вирусом Коксаки В4, по сравнению с культурой Нер-2. **Обсуждение.** Разная чувствительность клеточных культур может быть связана с особенностями механизмов интернализации вируса и транслокации вирусного генома. **Выводы.** Клеточная культура Нер-2 имеет высокую чувствительность ко всем серотипам вирусов Коксаки В. Чувствительность клеток Л-41, РН и АМН к разным серотипам варьирует в широких пределах. Обнаружен феномен «сверхчувствительности» клеточных линий АМН и Нер-2 к вирусам Коксаки В1 и В4, соответственно.

**Ключевые слова:** культура клеток, вирус, Коксаки, чувствительность.

## COMPARATIVE SENSITIVITY ASSESSMENT OF HUMAN CELL LINES TO COXSACKIE GROUP B VIRUSES

Andrey E. Keinikh<sup>1</sup>, Anna V. Ostapchuk<sup>2</sup>, Alexandr G. Sergeev<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>Ural state medical university, Yekaterinburg, Russia

<sup>2,3</sup>Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, SRC VB VEKTOR, Rospotrebnadzor, Yekaterinburg, Russia

<sup>1</sup>a1kostarew@gmail.com

### Abstract

**Introduction.** There is currently no data available on the comparative sensitivity assessment of cell cultures used for the isolation of Coxsackie B viruses. **The aim of the study** – to compare and assess the sensitivity of different human cell lines to Coxsackie B viruses. **Materials and methods.** The sensitivity of Hep-2 cells (laryngeal carcinoma), L-41 CD/84 cells (myeloblasts), RH cells (kidney), AMN cells (amniotic cells) to prototype strains of Coxsackie B virus types 1-6 were studied by determining the minimum infective dose for each cell line. **Results.** Hep-2 cells demonstrated the highest sensitivity to Coxsackie B4 virus as well as high sensitivity to other serotypes of Coxsackie B viruses. The lowest sensitivity was recorded for the RH cell line. The sensitivity of L-41 CD/84 cells to three of the six serotypes was lower compared to Hep-2. AMN cells demonstrated high sensitivity to Coxsackievirus B1, but were 1000 times less sensitive to infection with coxsackievirus B4 compared to Hep-2 cells. **Discussion.** The different sensitivity of cell cultures may be mediated by particular mechanisms of virus internalization and viral genome translocation. **Conclusions.** Hep-2 cell line demonstrated a high sensitivity to all tested Coxsackie B viruses serotypes. The sensitivity of L-41 CD/84, RH and AMN cells to different serotypes varies widely. For AMN and Hep-2 cell

lines the phenomenon of "hypersensitivity" was registered for Coxsackieviruses B1 and B4, respectively.

**Keywords:** cell culture, Coxsackieviruses, sensitivity.

## **ВВЕДЕНИЕ**

При использовании клеточной культуры для индикации присутствия вируса в биологическом материале или в объекте окружающей среды, оптимальным является выбор клеток с высокой восприимчивостью к минимальной концентрации вируса. Для вирусов Коксаки группы В (КВ) наиболее чувствительной к заражению считается линия перевиваемых клеток карциномы гортани человека Нер-2. Клеточным рецептором для всех шести серотипов вирусов Коксаки В является белок CAR (Coxsackie-adenovirus receptor), который является эклиптирующим, то есть после взаимодействия с ним происходит трансформация вириона в неинфекционную А-частицу, погружение ее в цитоплазму с последующей депротеинизацией вирусной РНК [1]. Показано, что все клетки, чувствительные к вирусам КВ, экспрессируют указанный рецептор [2], однако в доступной литературе нами не обнаружено данных сравнительной оценки степени чувствительности пермиссивных по отношению к вирусам КВ клеточных культур.

**Цель исследования** - сравнительная оценка чувствительности перевиваемых клеточных линий человеческого происхождения к вирусам КВ.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### **Клеточные культуры**

Перевиваемые клеточные культуры Нер-2 (клетки карциномы гортани человека), Л-41 КД/84 (дериват линии J-96, полученной из клеток крови больного острым моноцитарным лейкозом), РН (клетки нормальной почки человека) и АМН (клетки нормальной ткани амниона человека) получены из коллекции Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций.

### **Вирусы**

В работе использовали эталонные штаммы вирусов КВ, полученные из коллекции Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова: КВ1- Connecticut-5, КВ2 - Ohio-1, КВ3 - Nancy, КВ4 – JVB, КВ5 – Faulkner, КВ6 – Schmitt. Все штаммы были адаптированы к культуре клеток Нер-2 в течение 3-х пассажей.

### **Культивирование клеток**

Посев суспензии клеток в среде роста (среда 199 + 10% сыворотки крупного рогатого скота) на пробирки производили в объеме 1,5 мл из расчета 100-150 тыс. клеток/мл. Культуры инкубировали при 37°C в течение 2-3 суток до образования плотного монослоя, после чего среду роста удаляли и вносили равный объем среды поддержания (среда 199 + среда Игла, 1:1).

### **Заражение культур, учет цитопатогенного действия вирусов**

В пробирки с клеточным монослоем вносили 0,1 мл вируссодержащей жидкости (ВСЖ) и инкубировали в термостате при температуре 37° С. Клетки микроскопировали на 3, 5 и 7 сутки культивирования (ув. x100).

Цитопатогенный эффект вируса на клетки (ЦПЭ) оценивали по 4-х плюсовой системе. Полную деструкцию клеточного пласта учитывали как 4+. Гибель 75%, 50% и 25% клеток отмечали как 3+, 2+ и 1+, соответственно.

Положительным результатом считали гибель не менее чем 50% зараженных клеток в пробирке (ЦПЭ 2+).

Определение инфекционной активности вирусосодержащей жидкости

Инфекционную активность вируса оценивали методом конечных разведений, определяя величину 50% тканевой цитопатогенной дозы (ТЦД<sub>50</sub>) в 1 мл вирусосодержащей жидкости. Титр вируса в препарате рассчитывали по методу Рида-Менча [3].

Статистическая обработка результатов

Для статистической обработки результатов использовали общепринятые методы вычисления значений выборочного среднего, квадратичного отклонения, доверительного интервала, а также оценки достоверности различий между сравнимыми величинами, опираясь на распределение Стьюдента (t) [4]. Для вычисления средних геометрических инфекционных титров указанные выше действия проводили с десятичными логарифмами величин, соответствующих кратности разведения ВСЖ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для заражения клеток использовали материал, полученный после трех последовательных неразведенных пассажей вирусов КВ 1-6 в культуре клеток Нер-2. Инфекционную активность материалов определяли путем титрования на этой же культуре, после чего готовили последовательные десятикратные разведения, содержащие от 1000 до 0,0001 ТЦД<sub>50</sub> /мл вируса соответствующего серотипа в среде поддержания. Каждым разведением исходного вируса заражали по 4 пробирки с монослоем клеток Л-41 КД/84, РН и АМН. Для этого в пробирки с клеточным монослоем вносили по 1,0 мл соответствующего разведения исходного вируса. Состояние клеточных культур оценивали на 7 день инкубации. Положительным результатом считали наличие ЦПЭ в опытной пробирке при отсутствии такового в контрольных пробирках с незараженными клетками (табл. 1).

Таблица 1

Чувствительность клеточных культур Л-41 КД/84, РН и АМН к вирусам Коксаки В, полученных на культуре клеток Нер-2

Клеточная культура	Заражающая доза (ТЦД <sub>50</sub> )	Серотип вируса Коксаки В					
		В1	В2	В3	В4	В5	В6
Л-41 КД/84	10	+* + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +
	1,0	-** - - -	- - - -	+ + + +	- - - -	+ + + +	+ + + +

	0,1	----	----	----	----	----	----
РН	100	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	10	----	----	++++	----	++++	++++
	1,0	----	----	----	----	----	----
АМН	1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	100	++++	++++	++++	----	++++	++++
	10	++++	++++	++++	----	++++	++++
	1,0	++++	++++	++++	----	----	++++
	0,1	++++	----	----	----	----	----
	0,01	++++	----	----	----	----	----
	0,001	----	----	----	----	----	----

Примечание:

+\* - наличие цитопатогенного эффекта

-\*\* - отсутствие цитопатогенного эффекта

Как показали результаты, чувствительность изучаемых клеточных культур к различным серотипам вирусов КВ оказалась неодинаковой. Так, клетки АМН, по сравнению с культурой Нер-2, были в 100 раз более чувствительны к вирусу КВ1, имели высокую чувствительность к серотипам В2, В3, В5 и В6, однако оказались в 100 раз менее чувствительны к заражению вирусом КВ4. Культура клеток РН оказалась менее чувствительной ко всем шести серотипам КВ. Близкий к исходной культуре Нер-2 уровень чувствительности ко всем серотипам КВ показали клетки Л-41 КД/84.

Для более детального сравнение чувствительности клеток Л-41 КД/84 и Нер-2 проводили параллельное титрование ВСЖ, полученных после заражения вирусами КВ культуры клеток Л-41 КД/84 (рис. 1)

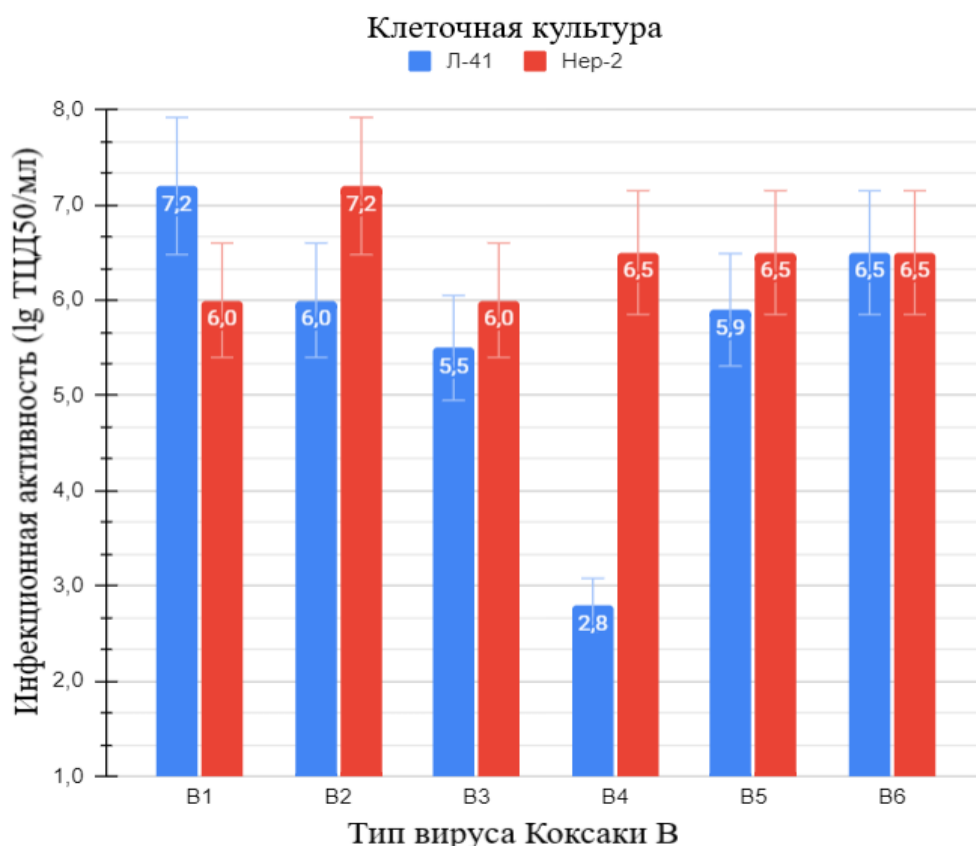


Рис. 1. Чувствительность клеточных культур Нер-2 и Л-41 КД/84 к штаммам вирусов Коксаки В, полученных на клетках Л-41 КД/84

Как видно из представленных данных, клетки Нер-2 показали высокую чувствительность к заражению всеми серотипами вирусов КВ, полученными на культуре Л-41 КД/84. При этом к вирусу КВ4 чувствительность клеток Нер-2 была в 1000 раз выше, по сравнению с культурой Л-41 КД/84.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что перmissive для вирусов КВ клетки человеческого происхождения Л-41 КД/84, РН и АМН, экспонирующие на мембране эклиптирующий рецептор CAR, обладают разной чувствительностью к разным серотипам этих вирусов. Полученные данные свидетельствуют о том, что разная чувствительность клеточных культур может быть связана с особенностями молекулярных механизмов интернализации вируса и транслокации вирусного генома в цитоплазму клетки. Особый интерес представляет феномен «сверхчувствительности» клеточных линий АМН и Нер-2 к вирусам КВ1 и КВ4, соответственно.

### ВЫВОДЫ

1. Клеточная культура Нер-2 имеет высокую чувствительность ко всем серотипам вирусов Коксаки В.

2. Перевиваемые клеточные линии человеческого происхождения Л-41 КД/84, РН и АМН, экспонирующие на мембране рецептор CAR, являются перmissive по отношению к вирусам Коксаки группы В, однако их чувствительность к разным серотипам варьирует в широких пределах.

3. Обнаружен феномен «сверхчувствительности» клеточных линий АМН и Нер-2 к вирусам Коксаки В1 и В4, соответственно.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Milstone A.M., Petrella J.E., Sanchez M.D. Interaction with coxsackievirus and adenovirus receptors, but not with decay-accelerating factor (DAF), induces A-particle formation in a DAF-binding coxsackie B3 isolate. *Virol.* – 2005; 79(1): 655-660.
2. Shafren D.R., Williams D.T., Barry R.D. A decay-accelerating factor-binding strain of coxsackievirus B3 requires the Coxsackie-adenovirus receptor protein to mediate lytic infection of rhabdomyosarcoma cells. *Virol.* – 1997; 71(12): 9844-9848.
3. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *The American Journal of Hygiene.* – 1938; 27: 493–497.
4. Gosset W.S. The probable error of a mean. *Biometrika.* – 1908; 6(1): 1–25.

## Сведения об авторах

А.Е. Кейних - студент

А.В. Остапчук – научный сотрудник

А.Г. Сергеев - доктор медицинских наук, профессор

## Information about the authors

A.E. Keinikh - student

A.V. Ostapchuk - research associate

A.G. Sergeev - Doctor of Science (Medicine), Professor

УДК: 616.11-008.8

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ПАРАМЕТРОВ ОЦЕНКИ ПЕРИКАРДИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Максим Александрович Копенкин<sup>1</sup>, Дмитрий Анатольевич Мазеин<sup>2</sup>, Евдокия Викторовна Родыгина<sup>3</sup>, Данил Александрович Макаров<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

<sup>2,3,4</sup>ГАУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница №1»,

Екатеринбург, Россия

<sup>1</sup>maximkopenkin@yandex.ru

## Аннотация

**Введение.** В статье представлены особенности лабораторного исследования перикардиальной жидкости (ПЖ) у пациентов с метастатическими перикардитами и экссудативными перикардитами. **Цель исследования** – установить дифференциальные лабораторные признаки исследования ПЖ при воспалительном и метастатическом перикардите. **Материалы и методы.** В данной работе ретроспективно рассмотрены результаты исследования ПЖ тридцати девяти пациентов. Проведена оценка клинической ценности подсчёта лейкоцитарной формулы в перикардиальном выпоте и использования общеклинического анализа крови, а именно количества лейкоцитов, количества тромбоцитов, концентрации гемоглобина. **Результаты.** Пациенты с