

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.9-022.6:577.212.3:575.222.75

Петров А.А., Лебедев В.Н., Казанцев А.В., Ковальчук Е.А., Сизикова Т.Е., Пышная Н.С., Павельев Д.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ В КАЧЕСТВЕ КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ ПРИ ОЦЕНКЕ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОПАСНЫХ И ОСОБО ОПАСНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ-ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад, Россия

*Метод обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) занимает ведущее место в диагностике заболеваний, вызванных РНК-содержащими вирусами. К выполнению всех этапов анализа (выделение нуклеиновой кислоты, проведение обратной транскрипции, амплификации ДНК) указанным методом предъявляются строгие требования. Необходимо учитывать возможность получения ложноположительных или ложноотрицательных результатов.*

*Использование при постановке ОТ-ПЦР только положительного и отрицательного контрольного образца (ПКО и ОКО) недостаточно для контроля стадии выделения РНК и обратной транскрипции. В связи с этим существует необходимость разработки внутреннего контрольного образца (ВКО), позволяющего контролировать указанные стадии.*

*Целью данной работы является обоснование использования генно-инженерных конструкций (ГИК) в качестве контрольных образцов (ПКО и ВКО) при оценке наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций методом ОТ-ПЦР.*

*В качестве ПКО использовали векторные рекомбинантные плазмиды, содержащие вставку кДНК геномной РНК возбудителя, в качестве ВКО – РНК, упакованную в белок оболочки бактериофага MS2. Показано, что ВКО не оказывает влияния на аналитическую чувствительность ОТ-ПЦР при работе как с нативными возбудителями, так с синтетическими нуклеиновыми кислотами вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, ВЭЛ, ЛДР, бешенства.*

*Обсуждается возможность использования контрольных образцов при стандартизации диагностических наборов реагентов.*

**Ключевые слова:** обратная транскрипция; полимеразная цепная реакция; положительный контрольный образец; отрицательный контрольный образец; внутренний контрольный образец; генно-инженерная конструкция; диагностический набор реагентов.

**Для цитирования:** Петров А.А., Лебедев В.Н., Казанцев А.В., Ковальчук Е.А., Сизикова Т.Е., Пышная Н.С., Павельев Д.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В. Использование генно-инженерных конструкций в качестве контрольных образцов при оценке наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции-полимеразно-цепной реакции. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (6): 372-375. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-372-375>

*Petrov A.A., Lebedev V.N., Kazantsev A.V., Kovalchuk E.A., Sizikova T.E., Pyshnaya N.S., Paveliev D.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.*

THE USE OF GENETIC ENGINEERING CONSTRUCTIONS AS CONTROL SAMPLES ON EVALUATION OF DIAGNOSTIC KITS FOR REVEAL OF RNA OF HAZARD AND EXTREMELY HAZARD AGENTS OF VIRUS INFECTIONS BY REVERSE TRANSCRIPTION – POLYMERASE CHAIN REACTION

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation, 141306, Sergiev Posad, Russian Federation

*The reverse transcription – polymerase chain reaction method (RT-PCR) has leading position on diagnostic infections, caused by RNA-containing viruses. This method presents severe requirements to carrying out of everybody stages of analysis (extraction of nucleic acid, carry out reverse transcription, amplification of DNA). It is necessary to account the possibility of false positive or false negative results appearance. The use on RT-PCR only positive (PCS) and negative (NCS) control samples is insufficient for the control of stages of RNA extraction and reverse transcription. That is way there is necessity the construction of inner control sample (ICS) to control of these stages.*

*The main goal of present is the ground of use genetic engineering constructions (GEC) as control samples (PCS and ICS) on evaluation of diagnostic kits for reveal of RNA of hazard and extremely hazard agents of virus infections by RT-PCR.*

*The vector recombinant plasmids, containing the insertion of cDNA of agent's genomic RNA are used as PCS, RNA was packed in membrane protein of MS2 bacteriophage, is used as ICS. It is demonstrated that ICS does no influence on sensitivity of RT-PCR both for use of native agents and for use of synthetic nucleic acids of Ebola, Marburg, Lassa, Machupo, Venezuelan encephalitis equine (VEE), Rift Valley fever and rabies viruses. The possibility of use of PCS and ICS for standardization of diagnostic kits is discussed.*

**Key words:** *reverse transcription; polymerase chain reaction; positive control sample; negative control sample; inner control sample; genetic engineering construction; diagnostic kit.*

**For citation:** *Petrov A.A., Lebedev V.N., Kazantsev A.V., Kovalchuk E.A., Sizikova T.E., Pyshnaya N.S., Paveliev D.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V. The use of genetic engineering constructions as control samples on evaluation of diagnostic kits for reveal of rna of hazard and extremely hazard agents of virus infections by reverse transcription – polymerase chain reaction. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018; 63 (6): 372-375 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-372-375>*

**For correspondence:** *Borisevich S. V., doctor of biology, professor, corresponding member of RAS; e-mail: 48cnii@mil.ru*

**Information about authors:**

Petrov A.A., <http://orcid.org/0000-0002-9714-2085>  
Kazantsev A.V., <http://orcid.org/0000-0003-3072-9110>  
Sizikova T.E., <http://orcid.org/0000-0002-1817-0126>  
Paveliev D.I., <http://orcid.org/0000-0003-3204-1897>  
Borisevich S.V., <http://orcid.org/0000-0002-5742-3919>

Lebedev V.N., <http://orcid.org/0000-0002-6552-4599>  
Kovalchuk E.A., <http://orcid.org/0000-0002-6323-8249>  
Pyshnaya N.S., <http://orcid.org/0000-0001-5644-7686>  
Kutaev D.A., <http://orcid.org/0000-0003-4236-1368>

**Acknowledgment.** *The study had no sponsorship.*

**Conflict of interest.** *The authors declare no conflict of interest.*

Received 25.03.2018  
Accepted 09.04.2018

**Введение.** Общей тенденцией проводимых в последние годы диагностических исследований с целью обнаружения возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций является использование молекулярно-биологических методов, специфичность которых основана на уникальности нуклеотидных последовательностей геномов микроорганизмов. Для выявления возбудителей с РНК-геномом ведущее положение занимает метод обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР), обладающий высокой чувствительностью и специфичностью. Однако при использовании указанного метода требуется строгое выполнение всех этапов проведения анализа, начиная от забора клинического материала и заканчивая регистрацией продуктов амплификации.

Обязательным условием для успешного применения методов молекулярной биологии является понимание возможных ошибок на всех этапах анализа, их устранение или сведение к минимуму. Контроль качества ПЦР-исследований осуществляется путём проведения следующих мероприятий [2]: включения в каждую постановку ПЦР-реакции положительного и отрицательного контроля качества выделения нуклеиновой кислоты (НК); периодического применения собственных лабораторных положительных и отрицательных контролей, охарактеризованных другими методами диагностики данной инфекции; применения зашифрованных контрольных образцов Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК); проверкой чувствительности и специфичности каждой новой серии диагностических наборов методом ПЦР.

В качестве положительного контрольного образца (ПКО) используют препарат, содержащий выявляемые нуклеотидные последовательности (ген-эквиваленты). В качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) используют препарат, не содержащий ни специфические НК, ни компоненты реакционной смеси [3]. Использование ПКО позволяет судить о специфичности реакции, использование ОКО позволяет выявить контаминацию реагентов продуктами амплификации. В то же время препарат РНК, подготовленный для ОТ-ПЦР из биологического материала, может содержать примеси ингибиторов, заметно снижающих эффективность реакции и приводящих в некоторых случаях к отсутствию специфических ампликонов даже при наличии искомого возбудителя. Следовательно, наличия только ПКО и ОКО недостаточно для контроля стадии выделения РНК и обратной транскрипции, поэтому существует необходимость разработки внутреннего контрольного образца (ВКО).

Разработка ВКО, предназначенного для проверки про-

хождения всех стадий ОТ-ПЦР анализа, имеет особую значимость при диагностических исследованиях с возбудителями опасных и особо опасных вирусных инфекций. Экстракция РНК из биопроб занимает длительное время и представляет собой существенный риск для здоровья оператора. Контроль данной стадии позволит исключить проведение повторных исследований по выделению РНК.

Изложенное определяет актуальность данной работы, целью которой является использование генно-инженерных конструкций (ГИК) в качестве контрольных образцов при оценке наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций методом ОТ-ПЦР.

**Материал и методы.** В экспериментах были использованы наборы реагентов для выявления в исследуемых пробах РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, ВЭЛ, ЛДР, «уличного» бешенства методом ОТ-ПЦР, разработанные ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации.

Каждый набор состоит из комплекта реагентов для проведения реакции обратной транскрипции (комплект № 1) и комплекта реагентов для проведения ПЦР (комплект № 2).

В состав комплекта № 1 входит положительный контрольный образец обратной транскрипции (ПКО-ОТ), состоящий из синтетической РНК, полученной с помощью *in vitro* транскрипции с рекомбинантной плазмидой рGem-T с встроенным специфическим фрагментом соответствующего выбранного гена исследуемого возбудителя, и ВКО, состоящий из «армированной» РНК, полученной на основе модифицированного экспрессионного вектора рЕТ45b+ со встроенными генами созревания и оболочки бактериофага MS2.

Препараты вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, венесуэльского энцефаломиелиита лошадей (ВЭЛ), лихорадки Долины Рифт (ЛДР), «уличного» бешенства были получены из государственной коллекции вирусов ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации.

Обнаружение фрагментов НК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций проводилось с использованием ОТ-ПЦР с электрофоретической детекцией полученных результатов.

Приписывание значений концентрации исходным аликвотам ПКО-ОТ соответствующего возбудителя осуществляли на основе данных, полученных при измерении концентрации РНК с помощью набора реагентов Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit (Promega, США) согласно инструкциям производителя и контроля приготовленного рабочего разведения. При

Таблица 3

**Результаты оценки влияния внутреннего контрольного образца на воспроизводимость показателя аналитической чувствительности метода ОТ-ПЦР при использовании наборов реагентов для выявления синтетической РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций**

Набор реагентов для выявления РНК вируса... методом ОТ-ПЦР	Частота выявления, $n/N$ ( $\chi \pm \sigma$ ), при расчётной концентрации $1,0 \cdot 10^3$ копий·мл <sup>-1</sup> (10 копий на реакцию)	
	без использования внутреннего контрольного образца	с использованием внутреннего контрольного образца
ОТ-ПЦР-Эбола/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Марбург/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Ласса/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Мачупо/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-ВЭЛ/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-ЛЛДР/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Бешенство/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)

Примечание. В экспериментах использованы синтетические РНК возбудителей при расчётной концентрации  $1,0 \cdot 10^3$  копий·мл<sup>-1</sup> (10 копий на реакцию)

проведении анализа ПКО-ОТ с помощью ОТ-ПЦР определяли соответствие полученного экспериментального интегрального распределения частот ожидаемому биномиальному с помощью критерия Колмогорова-Смирнова [1].

**Результаты и обсуждение.** В настоящее время в качестве внешних контрольных образцов при проведении различных молекулярно-биологических, генетических и биотехнологических исследований широко используют векторные рекомбинантные плазмиды. В частности, широко используются для комплектации диагностических наборов ПКО на основе коммерческого вектора pGEM<sup>®</sup>-T («Promega», США) [5].

Для получения ПКО используют препараты НК, выделённые из исследуемого микроорганизма, либо синтетический аналог.

Однако использование ПКО подобного класса не позволяет контролировать этапы пробоподготовки, выделения геномной РНК, проведения обратной транскрипции при проведении ОТ-ПЦР. Более того, при анализе индивидуальной пробы с помощью только ПКО невозможно проконтролировать даже ход проведения амплификации целевого фрагмента ДНК.

Для того чтобы контролировать ход амплификации в каждой пробирке с реакционной смесью, в практике лабораторных исследований используют дополнительный, так называемый

Таблица 1

**Результаты определения размеров фрагментов кДНК геномной РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, венесуэльского энцефаломиелиита лошадей, лихорадки долины Рифт, «улично-го» бешенства с использованием ВКО методом ОТ-ПЦР**

Вирус	Положительный результат, визуализируются фрагменты размером...	Отрицательный результат, визуализируются фрагменты размером...
Эбола	214 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*
Марбург	152 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*
Ласса	295 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*
Мачупо	326 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*
Венесуэльский энцефаломиелиит лошадей	218 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*
Лихорадка долины Рифт	313 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*
Бешенства	380 п.о. и 630 п.о.*	630 п.о.*

Примечание. \* – внутренний контрольный образец. В экспериментах использованы биологически активные возбудители в концентрации, соответствующей аналитической чувствительности метода ( $1 \cdot 10^3$  усл.ед.·мл<sup>-1</sup>).

Таблица 2

**Результаты оценки влияния ВКО на воспроизводимость показателя аналитической чувствительности метода ОТ-ПЦР при использовании наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций**

Набор реагентов для выявления РНК вируса... методом ОТ-ПЦР	Частота выявления, $n/N$ ( $\chi \pm \sigma$ ), при расчётной концентрации $1,0 \cdot 10^3$ усл.ед.·мл <sup>-1</sup>	
	без использования внутреннего контрольного образца	с использованием внутреннего контрольного образца
ОТ-ПЦР-Эбола/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Марбург/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Ласса/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Мачупо/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-ВЭЛ/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-ЛЛДР/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)
ОТ-ПЦР-Бешенство/ВЦ	50/50 (100-2)	50/50 (100-2)

Примечание. В экспериментах использованы биологически активные возбудители в концентрации, соответствующей аналитической чувствительности метода ( $1 \cdot 10^3$  усл.ед.·мл<sup>-1</sup>).

«внутренний контроль». Он представляет собой любой препарат ДНК, несхожий с ДНК искомого микроорганизма. Размер продукта амплификации ВКО подбирают таким образом, чтобы он был больше, чем ампликоны, образуемые от амплификации искомого НК микроорганизма. В результате при внесении ДНК внутреннего контроля в реакционную смесь вместе с испытуемым образцом, независимо от наличия микроорганизма в биологическом образце, внутренний контроль станет причиной образования специфических ампликонов, но значительно более длинных (тяжёлых), чем ампликон микроорганизма. Наличие тяжёлых ампликонов в реакционной смеси будет свидетельством нормального прохождения реакции амплификации и отсутствия ингибиторов. Если ампликоны нужного размера не образовались, но не образовались также и ампликоны внутреннего контроля, можно сделать вывод о наличии в анализируемом образце нежелательных примесей, от которых следует избавиться, но не об отсутствии искомого НК [3].

Внутренний контроль подбирают с учётом конкретного предназначения ПЦР и модификации реакции. При выявлении РНК-содержащих вирусов с помощью ОТ-ПЦР в качестве ВКО используют «армированную» РНК, т.е. РНК, упакованную в белок оболочки бактериофага MS2. Одним из преимуществ данного ВКО является стабильность при хранении даже при комнатной температуре, поскольку РНК защищена от действия нуклеаз белковой оболочкой вириона [6, 7].

С использованием разработанных контрольных образцов была проведена экспериментальная оценка эффективности разработанных наборов реагентов. Результаты выявления РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, ВЭЛ, ЛДР, бешенства с использованием ВКО методом ОТ-ПЦР, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что при внесении ВКО в биологическую пробу, содержащую определяемый возбудитель, в концентрации, соответствующей аналитической чувствительности метода, в результате проведения ОТ-ПЦР визуализируются фрагменты ДНК, размеры которых характерны для возбудителя и ВКО.

Результаты оценки влияния ВКО на аналитическую чувствительность наборов реагентов при выявлении РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, ВЭЛ, ЛДР, бешенства методом ОТ-ПЦР, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что ВКО не влияет на аналитическую чувствитель-

ность наборов реагентов при выявлении РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, ВЭЛ, ЛДР, бешенства методом ОТ-ПЦР. В экспериментах использованы препараты возбудителей, биологическая активность которых (концентрация биологически активного вируса) соответствует аналитической чувствительности метода ОТ-ПЦР.

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что ВКО не оказывает влияния и на аналитическую чувствительность наборов реагентов при выявлении синтетической РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо, ВЭЛ, ЛДР, бешенства методом ОТ-ПЦР.

**Заключение.** Таким образом, для повышения достоверности результатов ПЦР-анализа, а также стандартизации диагностических наборов для выявления возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний обосновано использование контрольных образцов на основе ГИК, которые не оказывают влияния на чувствительность метода при работе как с нативными возбудителями, так и с их синтетическими НК (специализированные контрольные образцы). В дальнейшем указанные контрольные образцы могут быть использованы для разработки стандартных образцов категорий «отраслевой стандартный образец» и «стандартный образец предприятия» при проведении внутрилабораторного контроля в соответствии с требованиями ГОСТ 8.315-91 «Государственная система обеспечения единства измерений. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Основные положения».

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высшая школа; 1990.
2. Медведева Т.В., Скворцова Р.Г., Кузьменко В.В., Огарков О.Б. ПЦР-

анализ в клинической лаборатории. Учебное пособие. Иркутск: РИО ИГИУВа; 2009.

3. Сизикова Т.Е., Мельникова Е.В., Маношкин А.В., Петров А.А., Мельников Д.Г., Пантюхов В.Б. и др. Использование внешних и внутренних контрольных образцов при постановке полимеразной цепной реакции и обратной транскрипции полимеразной цепной реакции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 3: 41-4.
4. Зорина В.В. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методическое пособие. М.: ООО «ДНК-Технология»; 2012.
5. Инструкция по применению набора pGEM®-T и pGEM®-T Easy Vector Systems, part # TM042, Promega (США).

#### REFERENCES

1. Lakin G.F. *Biometrics [Biometriya]*. Moscow: Vysshaya shkola ; 1990. (in Russian)
2. Medvedeva T.V., Skvortsova R.G., Kuzmenko V.V., Ogarkov O.B. *PCR – analysis in clinical laboratory [PCR-analiz v klinicheskoy laboratorii]*. Uchebnoe posobie. Irkutsk: RIO IGIUVa; 2009. (in Russian)
3. Sizikova T.E., Melnikova E.V., Manoshkin A.V., Petrov A.A., Melnikov D.G., Pantyukhov V.B. et al. The application of external and internal control objects in case of using of polymerase chain reaction and reverse transcription of polymerase chain reaction. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 3: 41-4. (in Russian)
4. Zorina V.V. *Basics of polymerase chain reaction. [Osnovy polimeraznoy tsepnoy reaktzii (PCR)]*. Metodicheskoe posobie. M.: ООО «ДНК-Технология»; 2012. (in Russian)
5. Instructions for use pGEM®-T and pGEM®-T Easy Vector Systems, part # TM042, Promega (USA).
6. Wei B., Wei Y., Zhang K., Yang C., Wang J., Xu R. et al. Construction of armored RNA containing long-size chimeric RNA by increasing the number and affinity of the pac site in exogenous rna and sequence coding coat protein of the MS2 bacteriophage. *Intervirology*. 2008; 51(2): 144-50.
7. Yu X.F., Pan J.C., Ye R., Xiang H.Q., Kou Y., Huang Z.C. Preparation of armored RNA as a control for multiplex real-time reverse transcription-PCR detection of influenza virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(3): 837-41.

Поступила 25.03.18

Принята к печати 09.04.18

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.2-022:579.871.11-092.7-078

Алиева А. А., Харсеева Г. Г., Мангутов Э. О., Головин С. Н.

## ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ НЕДИФТЕРИЙНЫХ КОРИНЕБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ С ПАТОЛОГИЕЙ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ; 344022, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

*Недифтерийные коринебактерии штаммов C. pseudodiphtheriticum, несмотря на отсутствие способности продуцировать токсин, могут быть связаны с развитием воспалительных заболеваний респираторного и урогенитального тракта, кожи, гнойно-септических процессов различной локализации и др. Это свидетельствует о наличии у них факторов патогенности, помимо токсина, которые могут обуславливать адгезивную и инвазивную активность.*

*Цель исследования – характеристика факторов патогенности (адгезивности, инвазивности) недифтерийных коринебактерий, выделенных от больных с патологией респираторного тракта.*

*Исследованы штаммы недифтерийных коринебактерий (n = 38), выделенные из верхних дыхательных путей от больных с хроническим тонзиллитом (C. pseudodiphtheriticum, n = 9), ангинами (C. pseudodiphtheriticum, n = 14), практически здоровых обследованных (C. Pseudodiphtheriticum, n = 15). Способность к адгезии и инвазии коринебактерий исследовали на культуре клеток карциномы фарингеального эпителия Her-2. Количество коринебактерий, адгезированных и инвазированных на клетках Her-2, определяли путём высева смыва на 20%-ный сывороточный агар с последующим подсчётом среднего количества колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл. Электронно-микроскопическое исследование адгезии и инвазии коринебактерий на культуре клеток Her-2 проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии.*

*У выделенных от практически здоровых лиц штаммов C. pseudodiphtheriticum адгезивность была ниже (p ≤ 0,05), чем*

Для корреспонденции: Харсеева Галина Георгиевна, д-р мед.наук, проф.; e-mail: galinagh@bk.ru