локусов VNTR *Fransicella tularensis* на модели авторской коллекции мутантных штаммов.

В работе использовали исходные вирулентные штаммы трех основных подвидов *Fr tularensis subsp. tularensis* -A-Cole, AE261; *Fr tularensis subsp mediasiatica* - 543, 240; *Fr tularensis subsp holarctica* - 503, 250, 117. Коллекция авирулентных cap- мутанты была получена ранее по оригинальной методике (Павлович Н.В. и др.,1993). Селекционированные мутантные штаммы в течение 10 лет хранили на среде Мак-Коя с периодическими пересевами (обычно раз в квартал).

Ранее было показано, что мутанты имеют изменения в генах синтеза ЛПС. Так, одна группа штаммов была дефектна по S-ЛПС (503 cap +/-, 250 cap +/-), другая по R-ЛПС (543 cap-, 503 cap +/-, 250 cap +/-.). Один мутантный штамм 503 cap-содержал SR-ЛПС (Sorokin V.M.,1997).

VNTR-анализ проводили методом полимеразной цепной реакции, используя специфичные праймеры к локусам FtA, FtB и FtC (Водопьянов С.О., 2000). В результате проведенной работы установлено полное совпадение размеров аллелей локусов FtA, FtB и FtC у всех изученных пар (исходный штамм - мутантные варианты).

Полученные результаты свидетельствуют о стабильном наследовании аллелей локусов вариабельных тандемных повторов у изученных вариантов *Fransicella tularensis.* Это делает перспективным проведение VNTR-анализа с локусов FtA, FtB и FtC, поскольку выявленные различия будут определяться уникальными свойствами родительского клона.

Компъютерный анализ генома *Vibrio vulnificus* для выявления потенциальных локусов вариабельных простых тандемных повторов

Водопьянов С. О., Водопьянов А.С., Мишанькин Б.Н.
Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт МЗ РФ

Вариабельные тандемные повторы (variable number tandem repeat, VNTR) представляют участки ДНК, состоящие из нескольких последовательно и монотонно повторяющихся олигонуклеотидов [Van Belkum A., 1998]. Полная расшифровка генома холерного вибриона, осуществленная в рамках широкого международного проекта [Heidelberg JF, 2000], позволила идентифицировать шесть локусов вариабельных тандемных повторов и разработать мультилокусную систему молекулярного типирования возбудителя холеры. Предложенная схема апробированна на обширной коллекции штаммов возбудителя холеры, выделенных как из объектов внешней среды, так и при вспышках заболевания (Водопьянов С.О. и др., 2001, 2002).

Недавно расшифрован геном другого представителя рода *Vibrio - V. vulnificus* штамм CMCP6. Целью настоящей работы являлся компъютерный анализ генома *V. vulnificus* с целью поиска потенциальных локусов VNTR, которые, в случае их вариабельности, можно использовать для молекулярно-генетической идентификации различных штаммов возбудителя.

Полная нуклеотидная структура первой и второй хромосом *V. vulnificus* размерами 3 281 945 и 1 844 853 нуклеотидов находились в GenBank по электронным адресам AE016795 и AE016796. Для анализа использовали авторскую компъютерную программу ”Repeat 1.0”. При этом параметры минимального пограничного значения величины и кратности нуклеотидных повторов были установлены в режиме "четыре по четыре". Выявление возможных нуклеотидных замен в повторах, приводящих к формированию дегенеративных тандемных повторов в данном исследовании не проводили.

Результаты компъютерного анализа свидетельствовали о существовании в геноме *V. vulnificus* значительного числа потенциальных локусов простых тандемных повторов. Так, в составе первой хромосомы обнаружено свыше 30 участков ДНК, содержащих повторы. Размер повторяющейся последовательности составлял от 6 до 8 нуклеотидов, а число повторов варьировало от 5 до 27. В составе второй (меньшей) хромосомы выявлено семь повторов длиной от пяти до девяти нуклеотидов. При этом кратность повторов варьировала от 5 до 23.

В целом число локусов, содержащих простые тандемные повторы в геноме *V. vulnificus*, приблизительно на порядок превышает их количество в составе генома холерного вибриона (Водопьянов, 2001). Учитывая, что размеры полных геномов указанных вибрионов практически одинаковы, обнаруженные различия могут отражать особенности биологии возбудителей. Полученные результаты можно рассматривать как первый этап создания молекулярно-генетической системы мультилокусного VNTR-типирования *V. vulnificus*. Дальнейшим этапом работы может быть конструирование специфических праймеров и анализ коллекции штаммов с целью выявления вариабельных локусов.

К вопросу о малигнизации папиллом гортани

Зыкова Л.Д., ВолошинаА.Е.
Красноярская Государственная Медицинская Академия, кафедра патологической анатомии, Красноярск

По нашим данным, малигнизация папиллом наблюдается у 10% больных из числа всех больных с папилломами гортани и у 22,2% взрослых. Злокачественное перерождение возникает чаще у мужчин в возрасте от 40 до 50 лет. Из 24 больных с малигнизированными папилломами 20 являлись лицами мужского пола.

Малигнизация наступила в различные сроки от начала заболевания – от 1 года до 17 лет. У 11 больных в сроки до 5 лет, у 3 – от 5 до 10лет, у 5 – через 10 лет и более. У 16 из 24 больных до малигнизации папиллом наблюдались рецидивы заболевания после эндоларингиального удаления опухоли.

Для уточнения морфологических признаков малигнизации исследованы препараты малигнизированных папиллом (у 24 больных) и плоскоклеточного рака (у 187 больных). Вероятно, малигнизация происходит по–разному, но наиболее частыми являются интраэпителиальные анапластические изменения, ко-

торые называют карциномой in situ («раком на месте»). При сравнении митотической активности в доброкачественной (47 больных) и злокачественной (35 больных) папилломатозных опухолях не удалось отметить существенного изменения количества делящихся клеток. Возможно, различия в пролиферации клеток этих типов опухолей зависит не от числа вступающих в деление клеток, а от неодинаковой скорости митотического цикла. Основная особенность митотического цикла в злокачественных папилломах - появление большого количества патологических митозов. Нарушения заключались в неправильном распределении хромосом, образовании хромосомных мостиков, слипании хромосом и рассеивании их во время метафазы. Количество патологических митозов составляло 46,7% от общего числа делящихся клеток. Таким образом, особенности деления клеток в папилломах и наличие патологических митозов могут указывать на малигнизацию.

Карцинома in situ в папилломах имеет свои особенности строения. Мы наблюдали 3 варианта: 1)базальноклеточный; 2)бовеноидный; 3)полиморфноклеточный. В единичных случаях малигнизация папиллом начиналась с атипических разрастаний эпителия (базальных клеток), переходивших в инвазивный рак.

Морфологические изменения можно было представить следующим образом: типичная папиллома → папиллома с интераэпителиальными анапластическими изменениями → карцинома in situ и затем, наконец, инвазивный рак (плоскоклеточный ороговевающий или не ороговевающий).

Полученные данные позволяют выдвинуть два морфологических варианта малигнизации папиллом гортани – через стадию cancer in situ, что встречается чаще, и через атипические разрастания эпителия с изоляцией эпителиальных комплексов и нарастанием атипизма в них.

Отдельные вопросы эпидемиологии туберкулеза среди работников железнодорожного транспорта

Галюкова Н.И.
Противотуберкулезный диспансер Южно-Уральской железной дороги, Челябинск

Эпидемиологическая опасность туберкулеза для человека определяется как экзогенными, так и эндогенными факторами. Основным источником экзогенного инфицирования являются больные активным туберкулезом, выделяющие микобактерии туберкулеза.

Важным разделом деятельности врачей фтизиатров является работа в туберкулезных очагах, лечение и последующее диспансерное наблюдение.

При анализе организации специализированной амбулаторно-поликлинической помощи мы выделили в качестве приоритетных направлений: качество лечебно – диагностической и профилактической работы.

В доступной нам литературе мы не встретили методов оценки эффективности диспансеризации больных туберкулезом, основанных на сравнительном анализе структуры изучаемой патологии при постановке на учет и ее изменения через определенные промежутки времени.

Была изучена структура клинических форм туберкулеза, с которыми больные берутся на диспансерный учет в начале заболевания и на момент исследования; динамика этих показателей и составляет эффективность диспансерного наблюдения.

Структура патологии, с которой больные ставились на диспансерный учет при выявлении у них туберкулеза, изучалась в зависимости от группы диспансерного учета по туберкулезу и наличия бактериовыделения.

Первое ранговое место в структуре выявленного туберкулеза занимал инфильтративный туберкулез (44, 0 %); среди лиц с инфильтративным туберкулезом на момент выявления 64, 8 % являлись бактериовыделителями.

На втором ранговом месте лица с очаговым туберкулезом – 35,0 %; удельный вес бактериовыделителей на момент выявления –35, 7 %.

Третье место занимала туберкулома. На четвертом, пятом, шестом местах соответственно внелегочный туберкулез, неактивный туберкулез и состояние после оперативного вмешательства (резекция легкого или его сегмента).

Подавляющее большинство (81,4 %) при постановке на учет получили первую группу диспансерного наблюдения.

Данная группа была сформирована из лиц с очаговым и инфильтративным туберкулезом, среди которых 46,5 % являлись бактериовыделителями.

Выявлена прямая сильная корреляционная связь ($r = 0,79 \pm 0,13$) между структурой клинических форм туберкулеза, наличием бактериовыделения и группой диспансерного учета.

Эффективность диспансерного наблюдения учитывалась по динамике изменения структуры клинических форм во взаимосвязи с группой диспансерного учета и бактериовыделением.

По итогам диспансерного наблюдения первое ранговое место занимал очаговый туберкулез - 29,6% (удельный вес бактериовыделителей –31,1%); на втором месте инфильтративный туберкулез –22,8 % (удельный вес бактериовыделителей –57,4 %); на третьем месте лица с состоянием после оперативного вмешательства –13,1 % всех случаев.

Удельный вес лиц с первой группой учета снизился до 38,2% (доля бактериовыделителей 45,6 %).

Итоги диспансерного наблюдения по предложенной методике дали возможность оценить эффективность диспансеризации и позволили оптимизировать критерии оценки качества деятельности амбулаторно - поликлинического звена фтизиатрической службы.