компонента не было. Ошибка ротации большеберцового компонента была у 1 (1,61 %) больного. Продолжительность операции МЭКС с применением навигации увеличилась на этапах освоения методики, составила в среднем 100 минут. Длительность эндопротезирования коленного сустава из традиционного доступа без применения навигации в среднем составила 85 минут. Срок наблюдения 6 лет. Случаев асептической нестабильности не было.

Литература

1. Сикилинда, В.Д. Малые доступы при эндопротезировании коленного сустава / В.Д. Сикилинда, А.В. Алабут // Травматология и ортопедия России. – 2006. – № 2. – С. 269–270.
2. Alan, R.K. Quadriceps-Sparing Total Knee Arthroplasty / R.K. Alan, A.J. Tria // Scuderi G. R, Tria A.J., ed. Minimally Invasive Surgery in Orthopedics. Springer. – 2010. – P. 309–316.
3. Dutton, A.Q. Computer-assisted minimally invasive total knee arthroplasty compared with standard total knee arthroplasty. A prospective, randomized study / A.Q. Dutton, S.J. Yeo, K.Y. Yang [et al.] // J. Bone Joint Surg. Am. – 2008. – Vol. 90. – P. 2–9.

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ТОЧНОСТИ ИМПЛАНТАЦИИ ЭНДОПРОТЕЗОВ КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ МАЛОИНВАЗИВНОЙ АРТРОПЛАСТИКЕ

А. В. АЛАБУТ, В. Д. СИКИЛИНДА

Ключевые слова: малоинвазивное эндопротезирование коленного сустава, компьютерная навигация, предоперационное планирование

WAY TO INCREASE THE ACCURACY OF CONDYLAR PROSTHESIS IMPLANTATION IN MINIMALLY INVASIVE ARTHROPLASTY

ALABUT A. V., SIKILINDA V. D.

Key words: minimally invasive condylar endoprosthesis replacement, computer navigation, preoperational planning

© И. В. Кузнецова, Д. В. Ефременко, 2013

УДК 579.842.23-036.21(479)

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ВОСТОЧНО-КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ В 2010 ГОДУ

И. В. Кузнецова, Д. В. Ефременко
Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт

Возбудитель чумы *Yersinia (Y.) pestis* явился причиной гибели сотен миллионов людей во время трех пандемий этой инфекции. Вид *Y. pestis* относительно недавно произошел от *Y. pseudotuberculosis* серотипа O:1b, приобретя, путем горизонтального переноса, 32 хромосомных гена и две дополнительные плазмиды, что обусловило повышение вирулентных свойств [2].

Для определения подвидов и биоваров *Y. pestis* используются такие свойства, как способность ферментировать различные субстраты, вирулентность для животных, питательные потребности, строение генома и другие. В последние годы все большее внимание обращено на изучение геномного полиморфизма чумного микроба методами, обладающими высокой дискриминирующей способностью, такими как мультилокусный анализ вариабельного числа тандемных повторов (MLVA), анализ отличающихся участков ДНК (DFR) и анализ коротких палиндромных повторов, разделенных спейсерами (CRISPR). Данные методы позволяют проводить внутривидовое дифференцирование штаммов *Y. pestis* и могут быть использованы для решения молекулярно-эпидемиологических задач различного генеза [1]. По результатам типирования методами DFR, MLVA и CRISPR создан постоянно пополняемый электронный каталог, насчитывающий уже более восьмиста штаммов *Y. pestis*.

Метод DFR основан на определении присутствующего в геноме *Y. pestis* набора из 23 DFR-локусов – участков генома, по которым различаются штаммы в пределах одного вида [4]. Локус с вариабельным числом тандемных повторов (VNTR) включает в себя центральный вариабельный участок и фланкирующий консервативный, ограничивающий его с двух сторон. Вариабельный участок состоит из нескольких повторов ДНК. Число повторов может варьировать, изменяя длину нуклеотидной последовательности. Амплификация VNTR-локуса с комплементарными праймерами приводит к образованию продуктов ре-

Кузнецова Ирина Владимировна,
научный сотрудник лаборатории индикации особо опасных инфекций Ставропольского научно-исследовательского противочумного института;
тел.: 8(962)4012253; e-mail: labindic@mail.ru

Ефременко Дмитрий Витальевич,
кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией индикации особо опасных инфекций Ставропольского научно-исследовательского противочумного института;
тел.: 8(962)4590747; e-mail: efremenko26@mail.ru

акции, отличающихся по размерам [3]. В основе метода CRISPR лежит высокая степень внутривидового полиморфизма спейсеров, разделяющих прямые повторы CRISPR-локусов. У штаммов *Y. pestis* может присутствовать до трех CRISPR-локусов, носящих название YPa, YPb и YPc [5].

Целью настоящего исследования явилось изучение DFR-, MLVA-, CRISPR-генотипов трех штаммов *Y. pestis*, выделенных в Восточно-Кавказском высокогорном природном очаге чумы в 2010 г.

Материал и методы. В работе были использованы три штамма *Y. pestis*, изолированных от блох обыкновенных полевок из Восточно-Кавказского высокогорного природного очага чумы (С-823, С-824 и С-825). В качестве контроля использовался штамм *Y. pestis* EV с известными DFR-, MLVA-, CRISPR-генотипами.

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора «ДНК-Сорб В» производства ФБУЗ ЦНИИ эпидемиологии (Российская Федерация). Реакцию амплификации проводили с олигонуклеотидными праймерами, синтезированными ЗАО «Синтол», на амплификаторе «Терцик» производства ООО «ДНК-Технология». Секвенирование ампликонов проводили на автоматическом генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems) с использованием набора реагентов BigDye Terminator v3.1 Applied Biosystems.

DFR проводили, определяя присутствующий у штаммов чумного микроба набор из 23 DFR-локусов [4]. Наличие или отсутствие ампликона для DFR-локусов выявляли методом горизонтального электрофореза в 1,5 % агарозном геле.

MLVA проводили по схеме Le Fleche, учитывая размер 25 VNTR-локусов *Y. pestis* [3]. Размер ампликонов для MLVA-локусов определяли после горизонтального электрофореза в 3 % агарозном геле с помощью маркера молекулярных масс (20 bp).

CRISPR проводили, используя программу CRISPR Finder в режиме on-line, определяя количество спейсеров в CRISPR-локусах и их нуклеотидную последовательность [5].

Результаты и обсуждение. По результатам DFR было определено, что исследуемые изоляты обладали ранее не встречавшимся DFR-профилем и были отнесены нами к DFR-типу 92.

MLVA-профиль для исследуемых штаммов был идентичным. MLVA-локусы ms 45 и ms 69 у них отсутствовали, а в локусе ms 46 было 8 тандемных повторов, тогда как у ранее изученных изолятов из Восточно-Кавказского высокогорного очага в данном локусе присутствовало от 11 до 15 повторов.

Результаты CRISPR также были одинаковыми для каждого из исследуемых штаммов. CRISPR-локус YPb, как и у большинства ранее изученных изолятов из Восточно-Кавказского высокогорного очага, отсутствовал. Количество спейсеров в локусах YPa и YPc составило 4 и 3, соответственно. Нуклеотидные последовательности спейсеров свежевыделенных и ранее изученных штаммов из данного очага были идентичными. Размер YPa – 367 пар нуклеотидов (п.н.), YPc – 321 п.н.

Заключение. На основании кластерного анализа, проведенного по результатам генотипирования, установлено, что исследованные изоляты входят в одну группу с ранее изученными штаммамииз Восточно-Кавказского высокогорного природного очага чумы. Данные MLVA-, DFR-, CRISPR-типирования штаммов *Y. pestis* пополнили электронный каталог геномных портретов возбудителя чумы.

Литература

1. Анисимов, А.П. Генотипирование и внутривидовая таксономия чумного микроба / А.П. Анисимов, М.Е. Платонов, В.В. Евсеева и др. // Журнал инфекционной патологии. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 64.
2. Achtman, M. *Yersinia pestis*, the cause of plaque, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis* / M. Achtman, K. Zurth, G. Morelli et al. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1999. – Vol. 96, № 24. – P. 14043–14048.
3. Le Flèche, P. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis* / P. Le Flèche, Y. Hauck, L. Onteniente et al. // BMC Microbiol. – 2001. – V. 1: 2. – P. 12043–12056.
4. Li, Y. Different region analysis for genotyping *Yersinia pestis* isolates from China / Y. Li, E. Dai, Y. Cui et al. // PLoS One. – 2008. – V. 13. – P. 2166–2176.
5. Pourcel, C. CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies / C. Pourcel, G. Salvignol, G. Vergnaud // J. Microbiology. – 2005. – V. 151 (3). – P. 653–663.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ВОСТОЧНО-КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ В 2010 ГОДУ

И. В. КУЗНЕЦОВА, Д. В. ЕФРЕМЕНКО

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, генотипирование, анализ отличающихся участков ДНК, мультилокусный анализ вариабельного числа тандемных повторов, анализ коротких палиндромных повторов, разделенных спейсерами

GENOTYPING OF STRAINS *YERSINIA PESTIS*, ISOLATED FROM THE EAST-CAUCASIAN HIGHT-MOUNTAIN NATURAL PLAGUE FOCUS IN 2010 YEAR

KUZNETSOVA I. V., EFREMENKO D. V.

Key words: Yersinia pestis, genotyping, analysis of DNA different regions, multiple loci variable number tandem repeat analysis, analysis of clustered regularly interspaced short palindromic repeats