

кой их идентичности с целью установления внутрибольничной передачи.

И.С. Тартаковский. Эволюция взглядов на проблему оппортунистических инфекций. ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ

На рубеже XX–XXI веков структура инфекционной патологии человека претерпела существенную эволюцию, обусловленную как открытием новых инфекционных агентов, так и изменением роли и удельного веса известных ранее возбудителей, для которых в последние годы все чаще используется термин «возбудители оппортунистических инфекций». Термин «оппортунистические инфекции» первоначально использовался для характеристики инфекций, ассоциированных со СПИД. В настоящее время его применение значительно расширилось. Термин «возбудители оппортунистических инфекций» объединяет широкий спектр бактерий, вирусов, грибов, простейших, способных проявить свои патогенные свойства преимущественно на фоне нарушения механизмов защиты хозяина. Такая ситуация возможна не только при ВИЧ-инфекции, но и при других формах выраженных иммунодефицитов, встречающихся в широкой клинической практике (внутрибольничные инфекции, перинатальная и неонатальная патология, пневмонии, постоперационные осложнения, на фоне курса иммуносупрессивной терапии и др.). Для возникновения и развития оппортунистических инфекций необходимы соответствующие условия, то есть наличие в макроорганизме таких факторов эндогенного или экзогенного происхождения, которые позволили бы микробу-оппортунисту проявить слабовыраженные патогенные свойства. Наибольшее значение для развития оппортунистической инфекции имеют нарушения иммунной системы. Облигатные и факультативные внутриклеточные паразиты (бактерии, вирусы, грибы, простейшие) вызывают оппортунистические инфекции на фоне поражений клеточного иммунитета и нарушения механизма фагоцитоза. Нарушения иммунитета являются врожденными или приобретенными. Последние могут быть связаны с:

- возрастом (оппортунистические инфекции у новорожденных и пожилых людей);

- сопутствующими заболеваниями (помимо ВИЧ-инфекции широкий спектр заболеваний ретикулоэндотелиальной системы: лейкоз, лимфома, миелома; опухоли, сердечно-сосудистые заболевания, хронические заболевания легких, постхирургические осложнения, прежде всего после трансплантации органов и др.);

- применением иммуносупрессивной и радиационной терапии.

Для столь гетерогенной группы, как возбудители оппортунистических инфекций, сложно выработать единые, унифицированные подходы к лабораторной диагностике. Классические методы, основанные на выделении культур и их последующей идентификации являются основными при определении относительно просто культивируемых грамотрицательных палочек и грамположительных кокков. Однако следует учитывать, что выделение культур микробов-оппортунистов не всегда может рассматриваться как абсолютное доказательство их этиологической роли. Учитывая широкое распространение носительства большинства возбудителей оппортунистических инфекций следует отметить, что серологическая ретроспективная диагностика, основанная на определении иммуноглобулинов G имеет ряд ограничений при подтверждении диагноза. Современная экспресс-диагностика многих оппортунистических инфекций основана на количественном определении антигена или ДНК возбудителя с помощью различных модификаций иммуноферментного анализа или ПЦР в реальном времени в динамике. В настоящее время это практически основной подход для диагностики хронических и атипичных форм инфекционного процесса, вызванного микробами-оппортунистами. Оппортунистические инфекции занимают существенное место в современной структуре инфекционной патологии человека. Большинство возбудителей оппортунистических инфекций, на первый взгляд, не представляют столь существенной опасности для человеческой популяции как возбудители таких социально-значимых инфекций как грипп, ВИЧ-инфекция или гепатиты. Однако объединяющая возбудителей оппортунистических инфекций способность вызывать инфекцию при нарушении механизмов защиты макроорганизма обуславливает возрастающую зависимость человеческой популяции от контактов с микробами-оппортунистами.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

М.В. Ляхтин, В.М. Ляхтин, С.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, В.А. Аleshкин. Диагностика коммуникационного тела патогенных микроорганизмов в присутствии лектинов пробиотических бактерий человека. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Лектины пробиотических бактерий (ЛПБ: Л лактобацилл и бифидобактерий [ЛЛ и ЛБ]) человека относятся к распознающим гликоконъюгаты белок-содержащим агентам, членам нового класса деструкторов биопленок, метаболомбиотикам (модуляторам метаболомных сетей и сетевых каскадов), имитаторам пробиотиков. Мы установили, что массивы условно-патогенных микроорганизмов образно реагируют на присутствие стрессовых факторов, проявляя свойства коммуникационного тела (КТ). Цель – обобщить диагностическую ценность анализа КТ патогенов.

Имэджи сформированных на стандартных агаровых средах КТ стафилококков (КТС: *S.aureus*) и кандид (КТК: *C.albicans*) исследовали в условиях пролонгирования стресса в присутствии дисковых/ капельных ЛПБ и антибиотиков. Цифровые фотографии редактировали на компьютере.

КТ характеризовались непрерывным или прерывистым массивом, объединенным функционально неравнозначной региональной территорией (благоприятной для выживания внутренней с повышенным количеством клеточного ма-

териала и неблагоприятной периферической пограничной областью сенсорных быстрых ответов на стресс с лимитированным количеством клеточного материала), способным дистанционно изменять общие и локальные ландшафты, в зависимости от выбранной комбинации факторов стресса. В присутствии мозаично расположенных ЛПБ различных типов наблюдалось предсказуемое превращение непрерывных КТС и КТК в КТ с мультирегиональными рестриктивными ландшафтами с различной качественной и количественной выраженностью деградации, в том числе наблюдалась конверсия моноцентрального КТК в мультицентровое КТК с мультистрессовыми включениями (наблюдался каскадный по времени микосимбиоз КТК и плесневых грибов) в доминирующей по территории областью лизиса. Оценены характеристические измеряемые симметричные и ассиметричные деградационные площади исходно сплошных КТС и КТК (как более сложных и информационно богатых) в присутствии одного типа диска или мозаики дисков ЛЛ и ЛБ, причем эффекторные площади были прямо пропорциональны концентрациям ЛПБ и зависели от природы штамма. Поведение непрерывных и прерывистых КТК было сходным в присутствии локализованных ЛПБ и не зависело от природы биотопного источника микроорганизмов (кишечного или урогенитального). Имэджи КТС и КТК в присутствии

ЛБ и ЛЛ характеризовались взаимодополняемым синергизмом. Наблюдался синергизм ЛПБ с антимикотиками. Комбинация отдаленно взятых антибиотиков не давали многообразия структурно-функциональных инфоландшафтов КТ. Доставка ЛПБ в локальные места (диски) системы нистатин-резистентного КТК (*C. albicans*) приводила к (ЛПБ-тип)-зависимой активации дистанционно удаленного локального сайта инициированного действия нистатина (регистрировался примыкающий к диск-нистатину лизис КТК вдоль соответствующей метаболической оси «Периферический диск-ЛПБ—Центральный диск-антибиотик»), расположенного в исходно максимально защищенной центральной зоне КТК. Общность этапов деградации КТС и КТК включала наличие устойчивых относительно слабо меняющихся внутренних областей КТ и чувствительных с повышенной изменчивостью периферических областей КТ; появление у КТ пограничных (и затем внутренних) выемок (деградационных и затем – литических), увеличивающихся во времени, в зависимости от типов ЛПБ и комбинаций ЛПБ и антибиотика; достижение конечных устойчивых имджевых картин, демонстрирующих результирующую остаточную «скелетную» структуру (симметричную и асимметричную) КТС и КТК. Регистрировалось синергистическое антимикробное действие ЛПБ на КТ: кислые ЛЛ > кислые ЛБ (КТС), кислые ЛБ > кислые ЛЛ (КТК), каскадное разрушение КТГ во времени: кислые ЛПБ—катионные ЛПБ (катионные ЛЛ—катионные ЛБ). В отличие от КТК, КТС регистрировалось только как моноцентрическое КТ (ЛПБ-индуцированное разрушение только со стороны периферии КТ). В случае КТК ЛПБ-индуцированное разрушение КТ (появление и усиление выраженности лакун и локализованных в них валов, особенно в областях синергизма) выражалось в виде временного каскада разрушений: «Периферия—Внутренние области КТ). *Признаки патогенности микробных КТ. Общие для КТС и КТК:* снижение контрастности (усиление размытости) границ; сильно выраженная динамика изменчивости КТ. *Дополнительные – для КТК:* повышенная резистентность к антибиотикам; переключение (для непрерывного КТ) «Дрожжеподобные КТ (доступ кислорода) — Мицелий-подобные КТ» (анаэробные условия) и лизис (в последовательности: кислые ЛБ—катионные ЛЛ); смещение противогрибкового синергизма (зоны лизиса КТ) в пользу метаболических осей «Антибиотик—ЛПБ» в сторону дисков-ЛПБ (отражение резистентности к антибиотикам у прерывистого КТ); влияние гидролитического потенциала КТ.

Диагностика КТ патогенов позволяет прогнозировать ландшафты КТ в присутствии ЛПБ. Перспективны антимикробные комбинации ЛПБ, ЛПБ и фитолектинов, ЛПБ и антибиотиков. Возможно дальнейшее уточнение характера патогенности КТ в сочетании с нашими оценками лидерности штаммов, био пленкообразования, консорциумности антагонистических пулов, морфологических особенностей колоний, учетом молекулярно-генетических исследований.

М.В. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.М. Лахтин, Л.В. Козлов, В.А. Алешкин. Субизотипы компонента С4 системы комплемента человека в диагностике системных болезней. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Фрагменты активированных в процессе болезни молекул изотипов С4В и С4А компонента С4 системы комплемента человека (СКЧ) способны ковалентно связываться преимущественно с углеводами (антигенами возбудителей болезни) или белками окружения, соответственно. При наследственном отсутствии (дефицитах) С4В и/или С4А организм предрасположен к развитию болезней аутоиммунной и инфекционной природы. Цель – обобщить диагностический потенциал системы С4 СКЧ в анализе болезней.

Использовали разработанные нами оригинальные способы визуального контроля десалирования сыворотки, изоэлектрофокусирования десалированных субизотипических комплексов С4 в полиакриламидном геле в новой диагности-

ческой области, иммуноблоттингового анализа субизотипов С4 в режиме живой хемилюминесценции, высокодискретно-проявления системы С4 мечеными пероксидазой поликлональными антителами в присутствии хемилюминесцентного субстрата с повышенной чувствительностью с использованием усилителя эмиссии света – BioChem System (UVP, Calif.), функционального анализа изотипов С4 в микропанели.

Выявлены случаи дефицитов С4А и С4В у пациентов. Определена система имджей комплексных субизотипов С4 (со сниженной и повышенной гидрофобностью, устойчивых [с увеличенным числом дискретных полос] и чувствительных к кислым обработкам блота, зависимых от типа болезни: системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром, ревматоидный артрит, язва желудка, другие). В случае инфекционных болезней характерным для богатой гликоконъюгатами электрофоретической области С4В (в сравнении с С4А) было присутствие IgA [области мукозального иммунитета с комплексными микробными гликоконъюгатами], бактериальных лектиноподобных белков типа белка-А, высокогликозилированного С1-ингибитора; варьирующие дискретные наборы субизотипических комплексов IgM и IgG распределялись в областях изотипов С4 различным комбинационным образом и с различной интенсивностью. Выявлялись взаимодополняющие диагностические картины ранней и поздней хемилюминесценции субизотипов.

Результаты перспективны для диагностики наследственных и адаптивных дефицитов субизотипов С4 у пациентов (в том числе редких случаев наследственного дефицита обоих изотипов С4); болезней с нарушениями не только классического, но и лектинового путей активации СКЧ; для расширенной оценки мукозального иммунитета (особенно у детей раннего возраста). Результаты указывают на возможность диагностики вирулентных специфических сиалидаз в крови, оценки нативности сиалосывороток при хранении. Перспективно дальнейшее изучение функционального состава субизотипов С4, особенно высокогликозилированных комплексов С4В, отражающих гликоновый спектр протяженных уникальных гликоконъюгатных антигенов патогенов.

М.В. Лахтин, В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев. Диагностический потенциал лектинов пробиотических бифидобактерий и лактобацилл. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Лектины широко распространены в природе (обнаружены в большинстве таксонов, эукариотов, прокариотов, вирусов), функционируют на всех уровнях организации живого (оргanelльном, клеточном, тканевом, органном, организменном), являются жизненно важными для хозяина, кофункционалируют с другими системами узнавания в организме. Лектины грамположительных бактерий были нами идентифицированы в 2004 г. впервые как гликоконъюгаты (ГК)-распознающие белковые системы на примере лектинов пробиотических бактерий (ЛПБ: лектинов бифидобактерий и лактобацилл [ЛБ, ЛЛ]). Цель – обобщить диагностическую значимость результатов наших исследований ЛПБ.

Штаммы – из Коллекции микроорганизмов при МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Использовали *Immobilon P* для блоттинга белков – точечного и после разделения изоэлектрофорезом в геле полиакриламида (ПАА). Проводили анализ хемилюминесценции после обработки мембран ГК-биотином и стрептавидин-пероксидазой. Картины анализировали в живом изображении в системе *BioChem System (UVP)*. Использовали ГК «Углевод—ПАА» (www.lectinity.com), охарактеризованные изолированные собственные препараты ЛЛ и ЛБ.

Результаты. 1. Идентифицированы/ типированы/ диагностированы штамм/ вид/ род-зависимые лектиновые системы (ЛС) как ГК-связывающие в случаях *Bifidobacterium angulatum* OV-15, *B. bifidum* 791, *B. longum* var. X, *B. gallinarum* ГБ, *B. longum* В379М, *B. pseudocatenulatum* OV-2, *B. adollescens* spp. *longum* М-42, *Lactobacillus amylovorus* БТ-24/88, *L. casei* К3П24, *L. helveticus* 100аш и NK1, *L. plantarum* 8P-A3, консорциума Ацилакт. Классифициро-

ваны ГК-зависимые типы ЛС (в том числе минимальные и максимальные), как связывающие: Man-6-P-ПAA, L-Fuc-альфа1-ПAA, GaNAc-альфа1-ПAA, GalNAc-альфа1,3Gal-бета1 [A_{di}]-ПAA, GalNAc-альфа1,3GalNAc-бета1 [F₁]-ПAA, GalNAc-альфа1,3GalNAc-альфа1-ПAA, GalNAc-бета1-ПAA, Gal-бета1-ПAA, Gal-SU-ПAA, Gal-бета1,4GlcNAc-бета1-[LacNAc]-ПAA, Man-альфа1-ПAA, Man-6-P-ПAA, (MurNAc-L-Ala-D-isoGln)бета1 [MDP]-ПAA, L-Rha-альфа1-ПAA. ЛПБ распознавали содержащие варьирующие конфигурации остатков GalNAc- (последовательности и типы связей) в ГК, в том числе в антигенах. Каждый тип ГК был способен распознавать один или несколько компонентов, идентичных у ЛС близкородственных бактерий. 2. ЛПБ были эффективны в типировании клеток, КТ и сетевых макрофункций метаболома условно-патогенных грибов и грамположительных бактерий (штаммов видов кандид, золотистого стафилококка). 3. ЛПБ имитировали свойства клеточных пробиотиков, были способны (ЛЛ или ЛБ)-зависимым образом изменять развитие КТ стафилококков. ЛПБ обладали противовоспалительным и антимикробным действием в отношении эпителия слизистой и кожи, противогрибковым действием (ЛБ > ЛЛ), вызывали лизис КТ кандид и стафилококка. 4. Колонии *V. adolescentis* spp. *longum* M-42 (с более выраженными набором белков, цитоагглютинами и ЛС в сравнении с *V. bifidum* № 1 и другими бифидобактериями) проявляли свойства КТ: компактно и предсказуемо располагались в среде, развитие тел (эволюция и инволюция) предсказуемо модулировалось эндогенными (собственными) и экзогенными добавленными извне факторами.

Результаты указывают на то, что выраженность присутствия систем ЛПБ в биотопах организма является важным критерием диагностики резистентности биотопных микробиоценозов к инфекциям. Перспективной является диагностика ЛС у условно-патогенных и патогенных микробов. Перспективной также следует рассматривать диагностическую характеристику противостояния антагонистических микроорганизмов на уровне взаимодействия их КТ с надклеточными (более высоко иерархическими) системами сигналов.

В.М. Лахтин, М.В. Лахтин, А.Л. Байракова, С.С. Афанасьев. Алгоритм поиска составов штаммовых пулов взаимодействующих микроорганизмов, обеспечивающих стабильность биотопа. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

В здоровом организме человека функционируют сбалансированные микробиоценозы с нормально кофункционирующими консорциумами микроорганизмов. Нами была предложена концепция мультиузлового биотопа. Цель настоящей работы – предложить алгоритм поиска составов штаммовых пулов взаимодействующих микроорганизмов, обеспечивающих стабильность биотопа.

Выбор системы биотопа. Резистентность микробиоценоза в биотопе – важный фактор защиты организма, неотъемлемая функциональная составляющая врожденного иммунитета. В поддержании резистентности важную роль играет **биопленкообразование** (БПО) микроорганизмами. Сенсорные узловые системы потенциально антагонистических видов (типа Пробиотики-подобные бактерии – Условно-патогенные микробы) являются характеристическими для биотопа. В урогенитальном биотопе (УБ) одна из таких систем – «Лактобациллы – Кандиды».

Нами разработан диагностико-прогностический алгоритм оценки метаболической сцепленности пулов штаммов лактобацилл и кандид УБ с учетом БПО моно- и смешанными культурами микроорганизмов. 1. Выбор пулов штаммов потенциально антагонистических микроорганизмов в УБ (лактобацилл *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.brevis*; кандидат *C.albicans*, *C.krusei*, *C.tropicalis*). 2. Ранжирование БПО монокультурами и смесями штаммов, сравнение рядов и установление штаммов-кандидатов в лидерные. 3. Проверка лидерности путем исключения из расчетов построения рядов ранжирования БПО лидерными штаммами лактобацилл (или кандид) и по-

лучения результата усиления сблоченности кандид (или лактобацилл) в рядах. 4. Учет влияния антимикотиков и других антибиотиков на межвидовые связи пулов. 5. Диагностико-прогностическая оценка видовых комбинаций небольших пулов (до 20 штаммов), поддерживающих стабильность УБ. 6. Установление сблоченных вариантов штаммовых составов лактобацилл (или кандид) как консорциумных стабилизаторов УБ в присутствии используемых при терапии панелей антибиотиков. 7. Проверка стабильности вариантов системы пулов *in situ* и *in vivo*.

Дальнейшие перспективы – в поиске и оценке других сенсорных систем УБ, рассмотрении событий в персонализированном биотопе, изучении других типов биотопов, учете спектра антимикробных факторов и сигналов чувства кворума и кросс-токинга, влияющих на межвидовые и субвидовые взаимоотношения в биотопе, получении профильных (в соответствии с поставленными задачами) расширенных формул диагностико-прогностического биотопа, использовании результатов для выявления пробиотики-подобных и других симбиотических консорциумов – стабилизаторов биотопа.

М.В. Лахтин, В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, В.А. Аleshкин. Биопленкообразование биотопным микробиоценозом человека: модель влияния пробиотик-подобных индикаторных штаммов на группу кандид с потенциалом повышенной патогенности. ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Способность микроорганизмов к биопленкообразованию (БПО) является важным фактором жизнедеятельности микробиоценозов, поддержания здорового биотопа в организме человека. Система «Лактобациллы—Кандиды», встречающаяся в норме и при инфекционных болезнях, является высокочувствительной, характеризующей урогенитальный биотоп. Кандиды *Candida albicans* и *C. tropicalis* относятся к функциональной группе I, являющейся доминирующим источником возбудителей кандидозов. Цель – применить ранжирование БПО смешанными культурами лактобацилл перспективных штаммов и кандид группы I.

Использовали идентифицированные штаммы лактобацилл и кандид урогенитального тракта пациентов, прошедших осмотр при КДЦ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского: *L. acidophilus* 124, 183; *L. brevis* 104, 109, 143; *L. casei* 124б, 183; *C. albicans* 3, 23, 26, 45, 116, 147, 161, 320; *C. tropicalis* 97, 144, 112, 162, 417, 433, 438, 897. Готовили микробные суспензии с оптической плотностью I по шкале McFarland. Монокультуры и смешанные в оптимизированных соотношениях культуры «Лактобациллы + Кандиды» в среде MRS инкубировали в микропанелях 2–3 сут при 37°C в анаэробных условиях. Надосадки удаляли, БП промывали дистиллированной водой, фиксировали этанолом, окрашивали генциан-виолетом, который экстрагировали раствором уксусной кислоты, переносили в новые микропанели и измеряли оптическую плотность (светофильтр 620 нм).

Результаты. 1. Лидерные штаммы пула лактобацилл, влияющие на пул кандид группы I. БПО лактобациллами ранжировалось: в монокультурах: 124<124б<104<106, 109<183а<143<183; в смешанных культурах (расчетное влияние пула кандид группы I на БПО штаммом лактобацилл): 104<106, 109<183а<143<183<124<124б.

Лидерные штаммы 124 и 124б лактобацилл отличались максимальным разбросом положения в сравниваемых последовательностях.

Ранжирование БПО каждым штаммом кандид группы I (в порядке возрастания БПО) под влиянием пулов и лидерных штаммов лактобацилл.

А) Влияние всего пула лактобацилл на кандиды (в скобках – выраженность блоков): (26,3,116),(433,162,417,112, 897,438,45,97, 144),(147,161,320,23). Наблюдается субвидовая сблоченность кандид. Штамм *C. albicans* 45 выступает как конкурентный в отношении вида *C. tropicalis*, способный к ассоциированию и кофункционированию со штаммами данного вида.

Б) Влияние пула лактобацилл без 124: (45,26,3,116),(162,433,417,897,438,112,147,97,144),(320,161,23). Возрастает сблоченность популяции *C. albicans* с относительно сниженным БПО. Штамм *C. albicans* 147 выступает как конкурентный в отношении вида *C. tropicalis*, способный к ассоциированию и кофункционированию со штаммами данного вида.

В) Влияние пула лактобацилл без 124б: (3,26,116),(112,433,162,417,97,897,144,438),(161,147,320,45,23). Достигается полная видовая сблоченность штаммов *C. tropicalis*. Нарушение сблоченности *C. tropicalis* в присутствии 124б можно рассматривать как проявление чувствительности *C. tropicalis* к лидерному штамму (вид кандид как адрес для лидерного штамма). В сравнении со штаммом 124 штамм 124б проявляет противоположное действие в отношении выраженности сблоченности обеих популяций *C. albicans*.

Г) Влияние пула лактобацилл без 124 и 124б: (45,147,3,161,26),(162,897,97,116,112,433,417,144,438),(320,23). Возрастает сблоченность популяции *C. albicans* с повышенным БПО при отсутствии обоих лидерных штаммов. Присутствие лидерных штаммов переключает выраженность сблоченности с одной популяции *C. albicans* на другую. В пределах группы I наблюдается зависящая от кофункционирования лидерных штаммов лактобацилл временная передислокация (потенциальный биоритмический дрейф) *C. tropicalis* в сторону повышенной консервации. Присутствие лидерных штаммов способствует удержанию временной консервации в БП кандидат, что препятствует их дальнейшему высвобождению и развитию активных кандидозов. Штамм *C. albicans* 116 выступает как конкурентный в отношении вида *C. tropicalis*, способный к ассоциированию и кофункционированию со штаммами данного вида. Во всех случаях наблюдается целостность блока *C. tropicalis* на фоне присутствия в популяционном городском урогенитальном биотопе внутривидовых двух блоковых популяций *C. albicans* с устойчивыми составами штаммов.

Обозначен новый класс индикаторных клеток и клеточных систем, к которым относятся лидерные изоляты штаммов микробиоценозов. Результаты демонстрируют наличие в биотопах биоритмических систем, вовлекающих лидерные микроорганизмы.

Р.С. Аракелян¹, Х.М. Галимзянов¹, С.Ф. Карпенко¹, А.Р. Курбангалиева², М.Б. Нагаев³. **Эхинококкоз человека в Астраханской области.** ¹ГБОУ ВПО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Астрахань; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», г. Астрахань; ³ГБУЗ АО «Станция скорой медицинской помощи г. Астрахани»

Цистный эхинококкоз – биогельминтоз, вызываемый паразитированием в тканях и органах человека личиночной стадии цестоды *Echinococcus granulosus*, характеризующийся хроническим течением, образованием кист и деструктивным поражением печени, легких и других органов.

На территории Астраханской области с 2008 по 2014 г. зарегистрировано 54 случая эхинококкоза у человека. Наибольшее количество случаев заражения человека эхинококком отмечалось в 2011 и 2014 гг. – по 10 случаев (по 18,5%). В остальные годы эхинококкоз регистрировался у жителей Астраханского региона, но с меньшей частотой. Так, в 2012 г. было зарегистрировано 9 случаев (16,7%), в 2010 г. – 8 случаев (14,7%), в 2009 и 2012 гг. – по 7 случаев (по 13%) и в 2008 г. всего 3 случая (5,6%). В половом соотношении среди больных преобладали лица мужского пола – 70,4% (38 случаев). На долю женщин приходилось 29,6% (16 случаев). Принято считать, что в основном гельминт поражает печень и легкие. Так, типичный эхинококкоз (печень, легкое, печень + легкое) отмечался в 87% (47 человек), в т.ч. в области печени в виде паразитарной кисты в 68,4% (37 человек). В редких случаях – 7,3% (человек) паразит поражал легкое (правое или левое). В 11% (6 человек) паразит поражал одновременно и печень, и одно из легких. Атипичное течение эхинококкоза отмечалось в 13% (7 человек). Так, были зарегистрированы случаи поражения эхинококком почки, поддиафрагмального простран-

ства – по 1,9% (по 1 случаю). В остальных случаях у пациентов отмечалось сочетанное поражение органов эхинококком: брюшная полость + мочевого пузыря, печень + забрюшинное пространство + малый таз, печень + плечо, печень + поясничная мышца + головной мозг, сердце + головной мозг + селезенка + левая почка – по 1,9% (по 1 случаю). Длительность процесса в большинстве случаев составляла меньше 1 мес – 29,5% (16 случаев) и 1 мес – 24% (13 случаев). В остальных случаях длительность заболевания составляла 1 год – 9,2% (5 случаев), 5 мес – 7,3% (4 случая), 2, 3, 6 мес и 2 года – по 3,7% (по 2 случая) и в редких случаях длительность заболевания составляла от 4 до 11 мес, а также 5 и 6 лет – по 1,9% (по 1 случаю).

Так, наблюдаемым нами пациентам в большинстве случаев – 79,6% (43 случая) диагноз был подтвержден данными иммуноферментного анализа для выявления иммуноглобулинов класса М и G к антигенам однокамерного эхинококка (ЗАО «Вектор-Бест», г. Ростов). Метод ИФА обладает высокой чувствительностью и специфичностью и получил наиболее широкое распространение среди иммунологических методов клинико-лабораторной диагностики.

Для подтверждения диагноза применялись также и другие методы: компьютерной томографии – 48,1% (26 человек), рентгенологический – 27,8% (15 человек), УЗИ – 83,3% (45 человек), гистологический – 33,3% (18 человек), микроскопический и метод микроспиральной КТ – АО 3,7% (по 2 человека), цитологический, урографический и метод ФГДС – по 1,9% (по 1 человеку).

В последние годы число случаев заражения человека эхинококком продолжает увеличиваться, о чем свидетельствуют случаи как типичной (печень, легкие), так и атипичной локализации паразита (почки, селезенка, сердце, головной мозг). В диагностике эхинококкоза главную роль играют комплексные методы ИФА, КТ и УЗИ.

Т.С. Иселева, Б.Ю. Гумилевский. **Влияние полиморфизмов T-1237C и A2848G гена TLR 9 на персистенцию высокоонкогенных типов папилломавирусной инфекции у женщин Волгоградской области.** ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Волгоград

В настоящее время вирус папилломы человека (ВПЧ) считается иницирующим фактором в генезе рака шейки матки, заболеваемость которым занимает одно из первых мест в мире. Наиболее часто встречающиеся типы папилломавирусной инфекции (ПВИ) подразделены на 2 группы – низкого риска опухольевой трансформации эпителия (6, 11, 42, 43, 44, 73) и высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). Наиболее онкогенными являются вирусы 16-го и 18-го типов.

Наряду с внешними факторами, влияющими на развитие инфекции, существенную роль играют врожденные особенности организма, в первую очередь особенности его иммунной системы. Участие иммунитета в защите от ВПЧ доказано при исследовании пациентов с иммунодефицитами. Функции распознавания и элиминации патогена иммунная система осуществляет путем взаимодействия врожденных и приобретенных компонентов иммунной защиты.

Врожденный иммунитет рассматривают как наследственно закрепленную функцию защиты организма от любой генетически чужеродной субстанции. Факторы неспецифической защиты индуцируются в первые несколько минут или часов после проникновения патогена, когда механизмы адаптивного иммунитета еще отсутствуют.

В последние десятилетия интенсивно исследуется функция рецепторов врожденного иммунитета, таких как Toll-like рецепторы (TLR), в норме и патологии. У человека всего было идентифицировано и охарактеризовано более 10 типов TLR, однако активную защиту от ПВИ способны осуществлять только часть из них. Кроме того, актуальным является изучение влияния полиморфизма генов TLR на резистентность к вирусным и бактериальным инфекциям. Накопилось

много данных, свидетельствующих о том, что полиморфизм единичных нуклеотидов (SNP) за счет формирования специфических аллелей генов вносит вклад в индивидуальные особенности иммунитета.

Цель – изучить роль полиморфизмов T-1237C и A2848G TLR 9 в формировании резистентности вируса папилломы человека к факторам врожденного иммунитета.

Задачи – охарактеризовать распределение полиморфизмов T-1237C и A2848G TLR 9 у женщин с персистирующей формой папилломавирусной инфекции высокого онкогенного типа (ВОТ) Волгоградской области. Оценить связь полиморфных вариантов T-1237C и A2848G TLR 9 с персистенцией ВПЧ 16, 18 типов.

Обследованы 200 женщин в возрасте 18–62 лет, из анамнеза которых известно наличие ВПЧ ВОТ. Всем пациентам определяли наличие ВПЧ 16 и 18 типов методом ПЦР по конечной точке. В зависимости от присутствия вируса женщины были разделены на две группы: 1 – с персистенцией ВПЧ 16, 18 типов (ВПЧ +); 2 – отсутствие вируса (ВПЧ -). Статистическая обработка данных включала использование критериев непараметрической статистики.

Результаты исследования SNP мутаций A2848G TLR 9 позволили установить, что у пациенток с персистенцией ВПЧ часто встречается гомозигота AA была 22%, что значимо больше, чем в группе женщин без ВПЧ (11%). В то же время гетерозиготный фенотип AG у пациенток с персистирующей папилломавирусной инфекцией встречался реже, чем у женщин без ВПЧ (36 и 55% соответственно).

При сравнении пациенток с персистирующей папилломавирусной инфекцией и женщин без ВПЧ не было выявлено достоверных отличий по распределению полиморфизма T-1237C TLR 9. Таким образом, полиморфный маркер A2848G TLR 9 ассоциирован с процессом очищения клеток эпителия от ПВИ и может быть точкой приложения как для диагностики, так и для фармакологической иммунокоррекции.

Л.Х. Нуретдинова¹, Э.А. Имельбаева², А.Ж. Гильманов².
Диагностика папилломавирусной инфекции у женщин в условиях хозрасчетной клиники малого города. ¹ГБУЗ Городское поликлиническое отделение № 2, г. Нефтекамск; ²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа

Нефтекамск – современный город с населением более 127 000 жителей – расположен на северо-западе Республики Башкортостан, в 220 км от Уфы. Городское поликлиническое отделение № 2 находится в промышленной части города и работает в две смены с нагрузкой 300 посещений в смену; с 2002 г. дополнительно открыто хозрасчетное отделение по проведению медосмотров и оказанию платных услуг населению на 150 посещений в смену. В поликлинике организован скрининг патологии шейки матки; особое внимание уделяется комплексной диагностике инфекции, вызываемой вирусом папилломы человека (ВПЧ). По полученным нами данным, у проходивших медосмотр койлоцитарная атипия в мазках за последние 3 года обнаружена у 2,2% женщин в возрасте от 18 до 37 лет, причем наибольшее количество (68,7%) случаев пришлось на возраст 18–25 лет.

Анализ распространенности ВПЧ по результатам тестирования на наличие ДНК ВПЧ 16 и 18 типа в биоматериале из цервикального канала показал, что из обследованных за 3 года 653 женщин в 158 случаях (24,2%) был получен положительный результат. В 88 случаях из 158 положительных проб (55,6%) была выявлена ДНК ВПЧ 18 типа, в 43 случаях (27,2%) – ДНК ВПЧ 16 типа, в 27 случаях (17,2%) – ДНК ВПЧ 16 и 18 типов одновременно. Наибольшее количество положительных результатов анализов приходится на возраст 17–30 лет – в среднем 60,3%.

По данным цитологического обследования, сопутствующие фоновые заболевания (лейкоплакия, эндоцервикоз, эритроплакия, полип цервикального канала) отмечались у 71,3% ВПЧ-позитивных женщин, чаще в возрасте 27–42 лет (58,7%

всех случаев). При наличии фоновых заболеваний данные о пациентке передаются в женскую консультацию для взятия на учет и дальнейшего углубленного обследования и динамического наблюдения.

Таким образом, комплексная диагностика ВПЧ-инфекции с применением генотипирования и цитологического исследования шейки матки в условиях хозрасчетного отделения городской поликлиники позволяет достаточно эффективно выявлять патологию и проводить своевременную терапию, что предупреждает развитие в последующем опухолей женской репродуктивной сферы.

Е.Ф. Дудко, Л.А. Сайгушева, А.В. Куяров, А.А. Куяров.
Видовое разнообразие бактерий рода *Lactobacillus* при дисбактериозе кишечника у жителей урбанизированного Севера. БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», г. Сургут

Видовое разнообразие бактерий рода *Lactobacillus* в кишечнике человека варьирует в разных возрастных группах и различных территориях.

Целью настоящей работы явилось изучение видового разнообразия бактерий рода *Lactobacillus* при дисбактериозе кишечника у жителей урбанизированного Севера.

Исследования проводились на базе бактериологической лаборатории БУ ХМАО-Югры «Сургутская городская клиническая поликлиника № 1» (зав. лаб. Е. Ф. Дудко) и лаборатории «Фундаментальные проблемы здоровьесбережения коренных народов и пришлого населения Севера» БУ ВО ХМАО-Югры «СурГУ» (зав. лаб., д.м.н., проф. А.В. Куяров).

Материалом для исследования явились результаты бактериологического анализа микрофлоры кишечника на дисбактериоз 379 больных с клиническими проявлениями дисбактериоза различных возрастных групп (от 1 года до 63 лет). Идентификация микроорганизмов проводилась методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI TOF MS) с помощью анализатора микроорганизмов BioMerieux VITEK MS MALDI-TOF. Экстракция белков осуществлялась на одноразовом слайде с использованием готового матрикса для VITEK MS. Интерпретация результатов проводилась на базе данных VITEK MS, состоящей из клинически значимых видов и расширенного классификатора спектров.

В результате проведенных исследований установлено, что при оценке результатов каждого анализа на дисбактериоз по количеству отклонений от параметров эубиоза установлено, что изменения биоценоза по одному и двум показателям отмечены в 14,3 и 19% наблюдений соответственно. Значительно увеличивалась доля лиц с изменениями биоценоза кишечника по трем показателям (30,2%) и наиболее часто по четырем и более показателям (36,5% случаев).

У подавляющего большинства исследуемых лиц с дисбактериозом кишечника отмечается сниженное количество лактобактерий (87,2% случаев), которое сопровождалось уменьшением общего количества типичных представителей вида *E. coli* и повышенной частотой выделения атипичных *E. coli*, как лактозонегативных (25% случаев) и *E. coli* гемолитической активностью. Нарушение эубиоза было связано также с увеличением количества грибов рода *Candida* (25,0% случаев), кокковых форм микроорганизмов (КФМ 21,7%) и уменьшением количества бифидобактерий (34,8%).

Видовой состав лактобактерий в различных возрастных группах значительно варьировал. В возрастных группах у детей до 1 года и детей в возрасте 1–15 лет наблюдалось большое видовое разнообразие лактобактерий. Наиболее часто выделялись *L. delbrueckii*, *L. casei*, *L. rhamnosus* и *L. plantarum*. Менее часто выделялись *L. acidophilus*, *L. jensenii*, *L. cellobiosus*, *L. corynoformis* и *L. lactis*. В группе лиц в возрасте от 16 лет и старше прослеживалось уменьшение видового разнообразия лактобактерий. Наиболее часто выделялись *L. delbrueckii*, *L. casei*, *L. brevis* и *L. rhamnosus*. Менее часто выделялись *L. fermentum* и *L. corynoformis*. В единичных случаях выделялись представители видов: *L. acidophilus*, *L. lactis*, *L. jensenii*, *L. cellobiosus*, *L. plantarum* и *L. trichodes*. Видо-

вое разнообразие лактобактерий у жителей урбанизированного Севера имело иное количественное представительство видов по сравнению с жителями других городов России.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что у жителей Севера изменения микрофлоры кишечника в большинстве случаев связаны со снижением уровня лактобактерий и уменьшением их видового разнообразия, которое наиболее выражено в старших возрастных группах, что диктует необходимость проведения определенных профилактических мероприятий в регионе.

С.Н. Колобаева, О.В. Скачкова Ю.И., Буланьков, А.М. Иванов, С.С. Жабров. Оценка полиморфизмов гена интерлейкина 28В при лечении хронического вирусного гепатита С. Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Перспективным научным направлением современной медицинской генетики является выявление генетической предрасположенности человека к различным видам патологии.

Боле новое направление – фармакогенетика позволило еще ближе подойти к решению проблемы персонализированного лечения человека. В основе этого направления лежит лабораторное выявление однонуклеотидных полиморфизмов генов (ОНП).

Имеются сообщения, что полиморфизмы гена IL28В определяют как вероятность самопроизвольной элиминации от вируса гепатита С (ВГС), ответ на терапию интерфероном и рибавирином, прогнозировать развитие у больного гепатокарциномы.

При этом отмечается, что прогностическое значение полиморфизма IL28В выше, чем других базовых маркеров успешной противовирусной терапии.

Цель исследования – изучить взаимосвязь результата противовирусной терапии (ПВТ) больных гепатитом С с полиморфизмами гена IL 28В.

Определяли полиморфизмы гена IL28В у больных с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) перед началом ПВТ и в динамике. Все больные получали пегилированный интерферон альфа-2 а и рибавирин в рекомендованных дозах. Деление групп по генотипу вируса не проводили. ОНП выявляли методом RealTime PCR В с реактивами «Интерлаб-сервис» на приборе ДТ lite 4, «ДНК-технология», с использованием программного обеспечения «Работа с приборами». Обследовали 200 больных ХВГС и 50 здоровых доноров, при этом наличие ХВГВ и ВИЧ-инфекции являлось фактором исключения. Оценивали ранний вирусологический ответ (РВО) – снижение вирусемии < 50 МЕ/мл с 4-й нед до окончания лечения. Медленный (МВО) – снижение на $2 \log_{10}$ МЕ/мл (в 100 раз) к 12-й нед ПВТ. Отсутствие ответа (или снижение менее чем на $2 \log_{10}$ МЕ/мл) на ПВТ к 12-й нед. Устойчивый вирусологический ответ (УВО) – неопределяемый уровень ХВГС-RNA через 24 нед после прекращения ПВТ.

Средний уровень вирусемии к началу противовирусной терапии составил $7,1 \log$ МЕ/мл. Все статистические расчеты производили с помощью программного пакета Statistika 8,0.

У больных ХВГС наблюдали следующее распределение ОНП:

- rs 8099917 у больных – ТТ – 50%, TG – 48%, GG – 2% , у здоровых – ТТ – 58%, TG – 38%, GG – 4%;
- rs 12979860 у больных – СС – 37%, СТ – 54%, ТТ – 9%, у здоровых – СС – 73%, СТ – 26%, и ТТ – 1%.

Распределение больных с учетом двух полиморфизмов следующее: ТТ-СС – 22% (rs 8099917 и rs 12979860 соответственно), ТТ-СТ–26%; GG–СТ – 2%; TG-CC–2%; TG-TT – 7%; TG–СТ – 41%. При сопоставлении данных по двум ОНП IL 28В полное совпадение наблюдали в 50% случаев, что свидетельствует о возможной генетической предрасположенности к развитию ХВГС. РВО отмечен в 1,5 раза чаще при rs 12979860, чем при rs 8099917. МВО при генотипе ТС(rs 12979860) наблюдали чаще в два раза.

При наличии rs 8099917 ТТ РВО может быть получен у 80% больных, а при rs 8099917 СС наблюдали РВО и

УВО у 95% ($p < 0,005$). УВО при TG/ТТ rs 8099917 и СТ/СС rs12979860 наблюдали в 60 и 68% случаев соответственно.

У пациентов с генотипом СТ (rs 12979860) хронизация ВГС наблюдается чаще, чем у пациентов с другими генотипами. Наличие ОНП rs 12979860 СС достоверно чаще определяет УВО при ПВТ больных ХВГС. Прогноз эффективности ПВТ на основе анализа ОНП IL 28В достоверно сопоставим с использованием для этих целей регистрации РВО, но осуществим до ее назначения.

И.В. Карандашова, А.Д. Неверов, В.П. Чуланов. Выявление мутаций устойчивости вируса гепатита С к ингибиторам NS3/4А-протеазы методом прямого секвенирования. ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Хронический гепатит С (ХГС), возбудителем которого является РНК-содержащий вирус гепатита С (НСV), – основная причина хронических поражений печени. Стандартная терапия ХГС основана на использовании пегилированного интерферона в сочетании с рибавирином. Однако данная терапия малоэффективна для ХГС, вызванного 1-м генотипом НСV, доминирующим в РФ. В настоящее время для лечения ХГС разработаны/разрабатываются препараты прямого противовирусного действия (ПППД), которые ингибируют белки НСV, вовлеченные в жизненный цикл: NS3/4А-протеазу, NS5В-полимеразу и NS5А. Однако ко всем ПППД у НСV формируется лекарственная устойчивость. В связи с высокой генетической вариабельностью НСV практически все мутации лекарственной устойчивости возникают как во время противовирусной терапии (ПВТ), так и до приема лекарственных препаратов. В связи с высокой стоимостью ПППД и наличием мутаций устойчивости к ним до начала ПВТ целесообразно проводить исследование, позволяющее выявлять данные мутации в геноме НСV перед началом лечения, что окажет значительную помощь клиницисту в выборе препаратов ПППД для ПВТ и, соответственно, будет способствовать более эффективному лечению ХГС. В настоящее время на территории РФ зарегистрированы три ПППД, относящиеся к классу ингибиторов NS3/4А–протеазы, – боцепревир, телапревир и симепревир.

Цель работы – разработка методологии исследования по выявлению мутаций устойчивости НСV к ингибиторам NS3/4А–протеазы с использованием прямого секвенирования.

Выбор праймеров для ПЦР-амплификации NS3/4А-региона генома НСV и секвенирования проводили с помощью собственного программного обеспечения (ПО). Выделение РНК, обратную транскрипцию (ОТ), ПЦР, очистку продуктов амплификации, электрофоретическую детекцию и оценку концентрации ПЦР-фрагментов проводили с использованием реагентов собственного производства. Реакцию циклического секвенирования, очистку продуктов реакции секвенирования, денатурацию и автоматическую детекцию нуклеотидной последовательности осуществляли с использованием реактивов и оборудования «Applied Biosystems» (США).

В ФБУН ЦНИИЭ разработана методология на основе прямого секвенирования, позволяющая выявлять мутации лекарственной устойчивости у 1а и 1b субтипов НСV к ингибиторам NS3/4А–протеазы. Исследование включает выделение РНК из плазмы крови, постановку ОТ для получения кДНК, амплификацию фрагмента NS3/4А – региона генома НСV, включающего все известные мутации устойчивости НСV к ингибиторам протеазы (V36АМ, F43S, T54AS, V55AK, Q80KR, S122AR, R155KTQ, A156STVD, D168AETV, IV170FAT, M175L), подготовку к секвенированию и последующее секвенирование полученного ПЦР-фрагмента. Секвенированные последовательности анализируются с помощью разработанного ПО «ДЕОНА. Профиль. Вирус гепатита С. Протеаза» (ООО «МАГ»), которое позволяет выявлять мутации лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы, характерные для 1а и 1b субтипов НСV, клинически интер-

претировать полученные результаты дифференцированно для вышеназванных субтипов и для каждого зарегистрированного и готовящегося к выпуску ПППД.

Разработанная методология выявления мутаций лекарственной устойчивости к ингибиторам NS3/4A-протеазы пригодна для использования в клинической лабораторной диагностике и научной практике для выявления вышеназванных мутаций и применяется для создания набора реагентов «АмплиСенс® HCV-NS3/4A-Resist-Seq», позволяющего выявлять мутации лекарственной устойчивости, возникающие в NS3/4A-регионе генома HCV.

Е.Б. Лебедева, И.В. Карандашова, Л.К. Пигусова, М.А. Смагина, В.П. Чуланов. Разработка международного стандарта РНК вируса гепатита D. ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Вирус гепатита D (HDV) – РНК-содержащий вирион, использующий для сборки своих вирусных частиц поверхностный антиген (HBsAg) вируса гепатита В (HBV). HDV значительно повышает риск развития серьезных осложнений гепатита В: HBV/HDV-коинфекция осложняет течение острого гепатита В; HDV-суперинфекция на фоне хронического гепатита В приводит к хронизации инфекции – хроническому гепатиту D (ХГД), что повышает риски быстрого развития цирроза и рака печени. Для лечения ХГД используют интерферон (короткоживущий или пегилированный). В настоящее время не существует рекомендаций по мониторингу противовирусной терапии ХГД, однако динамика снижения уровня РНК HDV является незаменимым показателем для оценки эффективности терапии, поэтому рекомендуется проводить количественное определение РНК HDV в различные периоды лечения. До 2012 г. вирусная нагрузка измерялась в копиях/мл (коп/мл) в связи с отсутствием Международного стандарта РНК HDV для молекулярной диагностики, что не позволяло сравнивать результаты, полученные при использовании количественных наборов различных производителей. В 2012 г. ВОЗ совместно с Институтом Поля Эрлиха (Германия) организовали исследование по разработке Международного стандарта РНК HDV, в котором приняли участие 15 научных лабораторий из 9 стран мира, в том числе лаборатория вирусных гепатитов ФБУН ЦНИИЭ.

Цель работы: определить концентрацию РНК HDV в серии разведений образца плазмы крови для создания Международного стандарта.

Тестирование образцов было проведено с использованием набора реагентов «АмплиСенс® HDV-Монитор-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), предназначенного для количественного определения РНК HDV в клиническом материале методом FRT-ПЦР. Для исследования были предоставлены образцы будущего Международного стандарта – S1 и S2, представляющие собой лиофилизированную плазму, забранную у пациента с высокой вирусной нагрузкой, инфицированного I генотипом HDV. Тестирование состояло из двух этапов. На 1-м этапе необходимо было протестировать 10х-разведения образцов в одном/двух повторах. По результатам 1-го этапа лабораторией был предложен формат 2-го этапа тестирования – оценить концентрацию РНК HDV в пяти последовательных 3,16-х (0,5log-х) разведений образцов (от -4 до -6 log10) в трех независимых повторах. В исходные лиофилизированные образцы добавляли воду MilliQ в соответствии с инструкцией организаторов, разведения для тестирования были приготовлены с использованием негативной плазмы. Организаторам предоставляли полученные качественные и количественные результаты исследования.

По результатам 1 фазы испытаний нами было показано, что все образцы проходят как положительные при разведении в 10^5 раз (-5 log10), средняя концентрация РНК HDV в образце S1 составила $6,59 \log_{10}$ (коп/мл), в S2 – $6,43 \log_{10}$ (коп/мл). По результатам 2 фазы испытаний было показано, что все образцы проходят как положительные при разведении в $10^{5,5}$ раз (-5,5 log10), средняя концентрация РНК HDV в образце S1 составила $6,26 \log_{10}$ (5,99–6,5) (коп/мл), в S2

- $6,36 \log_{10}$ (6,09–6,6) (коп/мл). Количественные результаты, полученные всеми участниками во время второй фазы исследований, были статистически обработаны с помощью программ SAS®/STAT v 9.3 и CombiStats v. 5.0 в зависимости от формата тестирования. Суммарная концентрация в образцах S1+S2 составила $5,76 \log_{10}$ (5,32–6,2) (коп/мл).

В результате проведенного исследования был разработан Международный стандарт РНК HDV для молекулярной диагностики – 5657/12 PEI, имеющий концентрацию 575 000 МЕ/мл ($5,76 \log_{10}$ МЕ/мл). Набор «АмплиСенс HDV-Монитор-FL» в процессе исследований продемонстрировал хорошие характеристики, что отражено в итоговом отчете. В «АмплиСенс HDV-Монитор-FL» по результатам тестирования введен поправочный коэффициент 7,45 (коп/МЕ).

Ю.А. Савочкина¹, И.А. Александрова², О.Н. Ершова², Г.А. Шитулин¹. Применение методики на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени для диагностики послеоперационных менингитов у нейрохирургических больных. ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; ²НИИ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва

Своевременная и эффективная лабораторная диагностика послеоперационных менингитов (ПМ) имеет критически важное значение для успешного лечения. Применение метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) для выявления основных бактериальных возбудителей инфекции и наиболее значимых маркеров их антибиотикорезистентности может повысить скорость и эффективность диагностики.

Цель данной работы – оценка эффективности методики на основе ПЦР-РВ для выявления основных возбудителей нозокомиальных инфекций и маркеров их антибиотикорезистентности при диагностике ПМ у нейрохирургических больных.

ПЦР-исследование проводилось с помощью разработанной нами ранее методики на основе мультиплексной ПЦР-РВ с оценкой результатов в сравнении с результатами бактериологического исследования с использованием анализатора VASTEC-FX и Vitek-2. Были проанализированы 130 нативных образцов ликвора пациентов с клинико-лабораторными признаками ПМ, 10 гемокультур и 60 положительных культур ликвора от пациентов с ПМ.

Разработанная методика на основе мультиплексной ПЦР-РВ позволяет выявлять и дифференцировать ДНК основных грамтрицательных возбудителей инфекции – *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E.coli* (1-й тест), бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и основных грамположительных возбудителей – *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Enterococcus spp.* (2-й тест). Методика включает выявление генов приобретенных карбапенемаз основных групп и гена *MecA* у соответствующих микроорганизмов (МО).

С помощью данной методики ДНК соответствующих бактерий были выявлены во всех образцах положительных культур ликвора и крови и в 33 из 130 проанализированных образцов нативного ликвора. Результаты ПЦР-РВ соответствовали результатам автоматизированного бактериологического исследования для всех образцов культур ликвора и крови и для 95,4% образцов нативного ликвора. В 5 из 6 дискордантных образцов ликвора было выявлено минимальное количество ДНК одного из МО (менее 10^3 геномов/мл) при отсутствии роста бактерий, причем у 2 из 5 пациентов позднее бактериологическим методом был выявлен тот же МО. В одном отрицательном по результатам ПЦР-РВ образце был выявлен рост *E. faecalis* бактериологическим методом и при ПЦР-анализе полученной культуры ликвора. При анализе нативных образцов ликвора чувствительность методики на основе ПЦР-РВ относительно бактериологического метода составила 96,6%, относительная специфичность – 95%, относительный показатель предсказательного значения отрицательного результата (NPV) – 99%.

У значительной части выявленных грамтрицательных возбудителей с помощью ПЦР-РВ были выявлены гены при-

обретенных карбапенемаз: группы ОХА-40 – у *A. baumannii*, группы ОХА-48 – у *K. pneumoniae*, МБЛ группы VIM – у *P. aeruginosa*. Соответствующие изоляты были резистентны к карбапенемам. Результаты ПЦР-РВ получали в течение 3–4 ч – в среднем на 2–3 сут ранее результатов бактериологического исследования.

Разработанная методика на основе мультиплексной ПЦР-РВ позволяет быстро и эффективно выявлять ДНК основных бактериальных возбудителей инфекции и ключевые маркеры их антибиотикорезистентности при диагностике ПМ и, таким образом, в кратчайшие сроки получать информацию, необходимую для назначения адекватной антибиотикотерапии.

Н.С. Николаев, Н.П. Прищеп, Н.Ю. Добровольская, А.В. Орлова, Н.Н. Пчелова. Роль ПЦР-диагностики при ревизионной артропластике крупных суставов. ФГБУ «Федеральный центр травматологии ортопедии и эндопротезирования» Минздрава Российской Федерации, г. Чебоксары

Частота выделения *S. aureus* при развитии инфекции области хирургического вмешательства, по данным отечественных и зарубежных авторов, колеблется от 33,5 до 41,4% после эндопротезирования крупных суставов. Частота выделения коагулазонегативных стафилококков от 15,1 до 20,7%.

Цель исследования: определить роль метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) при диагностике перипротезной инфекции до и после установки артикулирующего спейсера в сравнении с бактериологическим методом диагностики.

Методом ПЦР набором «Амплиценс MRSA-скрин-титр-FL» (набор определяет наличие ДНК *Staphylococcus aureus*, также наличие ДНК гена резистентности *mesA* у *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативных стафилококков) проведено 30 исследований. Основную долю составили образцы после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов – 22 (70,9%) и 8 (25,8%) проб соответственно. В большинстве случаев исследованы пунктаты – 36,7% (11 образцов) и тканевые биоптаты – 53,3% (16 образцов), в небольшом количестве взята чистая бактериальная культура – 10% (3 образца). 11 (36,7%) образцов взяты после установки эндопротеза, 19 (59,3%) образцов – после установки артикулирующего спейсера с антибактериальным препаратом. Параллельно выполнялся бактериологический посев образца. В ходе исследования оценивались скорость выдачи результата анализа и экономическая эффективность.

Отрицательные результаты получены в 21 (70%) случае. Среди положительных результатов ДНК *Staphylococcus aureus* без гена резистентности *mesA* обнаружена в 2 (6,7%) случаях. В 7 (23,3%) случаях обнаружен ген резистентности *mesA* без обнаружения ДНК *Staphylococcus aureus*, что означает наличие ДНК коагулазонегативных стафилококков. При этом время ПЦР-исследования в среднем составило 4,3 ч. Во всех случаях результат совпал с данными бактериологического посева, который занял в среднем 4,1 сут.

При оценке экономической эффективности (после установки спейсера и точной информации о возбудителе) стоимость 1 ПЦР исследования составила 100,4 руб. Микробиологическое исследование на стафилококк – 312 руб.

Таким образом, ПЦР-анализ целесообразно использовать для идентификации возбудителя в случаях с уже известным микроорганизмом (до и после установки спейсера) или, при необходимости, быстрого получения результата. Данный метод является более преимущественным в плане скорости выполнения исследования (в течение 4–5 ч после забора материала) и экономической эффективности (в 3 раза).

Из литературных данных известно, что распад ДНК микроорганизмов наступает через 35–45 дней после окончания приема антибактериальных препаратов. В связи с этим для получения наиболее достоверных результатов рекомендуется проводить первое контрольное исследование методом ПЦР не ранее чем через 45 дней после окончания лечения.

В.Ю. Марков. Некоторые эпидемиологические особенности вспышечной заболеваемости острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии. ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Острые кишечные инфекции (ОКИ) неустановленной этиологии, по официальным сведениям, к настоящему времени составляют самую обширную группу диарейных болезней. В сумме ОКИ (бактериальная дизентерия, ОКИ установленной и неустановленной этиологии) эта группа многие годы занимает доминирующее положение, составляя в среднем до 70% и выше (в отдельные годы) без тенденции к снижению. Заболевания регистрируют в подавляющем большинстве в виде спорадических случаев и в меньшей мере в виде эпидемически вспышек. В научных публикациях эта тема практически не обсуждается, и эпидемиологическая природа таких заболеваний остается малоизученной. Предпринята попытка установить некоторые эпидемиологические характеристики по месту их возникновения, путям и факторам передачи, социально-возрастным группам пострадавших. Используются материалы расследования эпидемических вспышек, имевших место в 2005–2008 гг. на различных административных территориях РФ. Три четверти вспышек первично клинически были диагностированы как ОКИ, гастроэнтериты или гастроэнтероколиты; четверть – как пищевые токсикоинфекции (ПТИ) и пищевые отравления. Из общего числа – 68,7% вспышек было зарегистрировано в детских коллективах и учреждениях, а 31,3% – среди взрослого населения (предприятия и учреждения); в 93,7% вспышки были эпидемиологически диагностированы как пищевые, в остальных – водные и бытовые. Среди детей пищевые вспышки чаще регистрировали в школьных образовательных (22%), летних оздоровительных учреждениях и детских санаториях (по 12,5%). Реже (в убывающем порядке) – в дошкольных образовательных учреждениях, гимназиях, школах-интернатах, лицеях и других категориях образовательных учреждений, а также во время туристических поездок и детских спортивных мероприятий. В целом пищевые вспышки среди детей школьных и дошкольных образовательных учреждений составили 53,1 (контингенты повышенного эпидемиологического риска). Большинство пищевых вспышек, практически 2/3, возникших среди взрослого населения, регистрировали в специализированных учреждениях специального обслуживания граждан пожилого возраста и инвалидов (психоневрологического профиля, пансионаты для ветеранов и инвалидов) и в санаториях. Вспышки регистрировали также среди взрослого населения поселков, среди строительных рабочих и др. Конкретными факторами передачи в пищевых вспышках среди детского контингента в 42,9% выступали разнообразные вторые блюда (гуляш, шницель, бефстроганов, рыбные котлеты и др. с различными гарнирами), в 33,3% – салаты (рыбные или с рыбой и овощные). Молочные продукты, десерты и др. имели меньшее значение. Пищевые вспышки среди взрослых были обусловлены употреблением главным образом различных вторых блюд.

*Н.В. Мальцева, О.Н. Воробьева, А.Д. Тараско. Новый метод лабораторной диагностики госпитальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.* ГБОУ ДПО НГИУВ Минздрава России, г. Новокузнецк

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) является одним из наиболее частых возбудителей госпитальных поражений, которые характеризуются тяжелым течением и высокой летальностью, а трудности в лечении связаны с множественной устойчивостью синегнойной палочки к большинству антибиотиков и антисептиков. Существующие бактериологические схемы, методы выделения и идентификации *P. aeruginosa* несовершенны, трудоемки и не всегда результативны в связи с изменчивостью диагностических признаков микроба.

Цель работы – разработка лабораторного способа идентификации синегнойной палочки на основе выявления бактериальной ДНК.

Забор и бактериологический посев раневого отделяемого

проводили общепринятым способом. Чистую культуру возбудителей брали с поверхности твердой питательной среды бактериологической петлей ($d=1$ мм) и помещали в пластиковую одноразовую пробирку с крышечкой и замком, содержащую 300 мкл физиологического раствора. Микробную взвесь встряхивали на вортексе в течение 10–15 с и прогревали в твердотельном термостате в течение 20–30 мин при 99 °С. Если тестирование бактериальной массы откладывалось на неопределенное время, пробирки замораживали при –20 °С до использования. В дальнейшем содержимое пробирок размораживали, встряхивали и прогревали, как описано выше. Затем взвесь центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 30 с, добавляли краситель для электрофоретической детекции (НПФ «Литех») в объеме 0,5 мкл на пробу. Забирали около 20 мкл супернатанта, который заливали в лунку размером 4×1 мм 1,2% агарозного геля, приготовленного в 20 мл ТАЕ-буфера с предварительно добавленными в гель 10 мкл 1% бромистого этидия. Для оценки структуры электрофореграмм ДНК использовали стандартный ДНК-маркер 1 kb, состоящий из 13 фрагментов ДНК в диапазоне 250–10 000 bp (ООО «Лаборатория МЕДИГЕН», г. Новосибирск). ДНК-маркер в количестве 3 мкл заливали в отдельную лунку геля. Проводили горизонтальный электрофорез в течение 15–20 мин, контролируя его длительность визуально по движению полосы красителя, которая должна пройти от лунки примерно 1,5 см. После электрофореза гель помещали на стекло УФ-транслюминатора и анализировали результат в проходящем ультрафиолетовом свете с длиной волны 310 нм. Проведение исследования занимало около 1 часа.

Были исследованы 57 культур музейных и клинических штаммов *P. aeruginosa* (пигментобразующих и беспигментных) и 65 изолятов энтеробактерий (цитробактеров, энтеробактеров, клебсиелл, протеев, кишечной палочки), стафилококков, энтерококков и ацинетобактерий. Все образцы были подвергнуты вышеописанной обработке. После электрофореза проб синегнойной палочки установлено наличие трех светящихся в УФ горизонтальных полос на электрофореграммах – рядом с лункой, что соответствовало фрагментам ДНК-маркера размером около 10 000 bp, недалеко от лунки, что соответствовало фрагментам ДНК-маркера размером 6000–8000 bp и на конце трека, где возникало оптическое уплотнение, которое мы назвали «метелкой», что соответствовало фрагментам ДНК-маркера размером менее 750 bp. У других изученных бактерий такого свечения не зафиксировано. Полученный результат указывает на разрушение клеточной стенки и выделение молекул ДНК *P. aeruginosa* различного размера в трех диапазонах длины при прогревании ее культур. Данный феномен расценен нами как критерий присутствия в исследуемой бактериальной массе этого возбудителя. Отсутствие светящихся полос позволяет исключить наличие в материале синегнойной палочки.

Данный способ может использоваться для экспресс-диагностики синегнойной инфекции, т.к. позволяет за 1 ч идентифицировать *P. aeruginosa* и дифференцировать ее от других представителей неферментирующих грамотрицательных бактерий – *Acinetobacter spp.* и от наиболее значимых родов и видов семейства *Enterobacteriaceae* и грамположительных гноеродных кокков (*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*).

С.Б. Яцышина, М.Н. Прадед, Т.С. Селезнева, Н.С. Воробьева, С.В. Малинина¹, Т.Е. Любимова¹, Л.А. Наумова², Т.Т. Козыренко², Л.В. Королева³, Т.Т. Лазарова⁴, Т.А. Гречанинова⁵, Г.В. Забалуева⁵, Т.В. Демакова⁵, Н.С. Григорьева⁵, М.А. Юферова⁵, В.С. Лямина⁵, Л.Н. Сушкова⁵, И.Б. Блман⁵, Н.Н. Зверякина⁵, Л.Ю. Журнова. **Диагностика коклюша методом ПЦР, результаты клинической апробации.** ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва; ¹Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» в ВАО, г. Москва; ²Детская городская поликлиника № 120 ВАО, г. Москва; ³Детская городская поликлиника № 7 ВАО, г. Москва; ⁴Детская городская поликлиника №

21 ВАО, г. Москва; ⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург» с филиалами, г. Санкт-Петербург

Ранняя диагностика коклюша позволяет своевременно использовать этиотропную терапию, эффективную лишь в катаральный период болезни. Бактериологическое исследование обладает высокой специфичностью, но по диагностической чувствительности не превышает 10–20% по сравнению с клиническим диагнозом. В протоколах ВОЗ и CDC в качестве альтернативного метода рекомендуется полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая выявить ДНК возбудителя в биологическом материале с первых дней и до месяца от начала болезни.

В задачи исследования входило: 1. клиническая апробация набора реагентов для выявления и идентификации ДНК возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза; 2. оценка эффективности ПЦР в сравнении с бактериологическим исследованием; 3. определение клинических особенностей коклюша в современных условиях вакцинопрофилактики; 4. проведение скрининга возбудителей ОРЗ в группе длительно кашляющих детей.

В работе использовался набор реагентов «АмплиСенс *Bordetella multi-FL*» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), предназначенный для обнаружения и идентификации ДНК возбудителей коклюша, паракоклюша, а также бронхисептикоза. Клиническая апробация данного набора проводилась совместно с филиалом ФБУЗ ЦГиЭ в ВАО г. Москвы с использованием поступавших в лабораторию капельных инфекций образцов биологического материала, где они подвергались стандартному бактериологическому исследованию на коклюш. Методом ПЦР были исследованы смывы с заднеглоточных тампонов, хранившиеся после выполнения посева при температуре 4 °С, от 478 детей в возрасте от 2 мес до 17 лет (медиана 6 лет). Направительные диагнозы включали: ОРЗ, фарингит, трахеит, подозрение на коклюш, обследование по контакту. Продолжительность кашля варьировала от 5 до 86 дней. Второй базой апробации выступали лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург» с филиалами, где методом ПЦР был обследован биологический материал (мазки из носоглотки и ротоглотки) 80 детей в возрасте от 8 мес до 19 лет, поступавший в бактериологические лаборатории с целью проведения бактериологических исследований на коклюш в диагностических и эпидемиологических целях. Третья и четвертая задачи решались при обследовании наблюдавшихся амбулаторно (ДПП г. Москвы) детей, имеющих симптомы острого респираторного заболевания, не исключающие коклюшную инфекцию. Исследованы мазки из носоглотки и задней стенки глотки 235 детей в возрасте от 6 мес до 16 лет (средний возраст – 5 лет 9 мес, медиана – 5 лет), методом ПЦР на наличие нуклеиновых кислот *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *M. pneumoniae (M.pn.)*, *S. pneumoniae (Chl. pn.)*, респираторно-синцитиального вируса (*hRSv*), метапневмовируса (*hMpv*), вируса парагриппа 1–4-го типов (*hPiv*), коронавирусов (*hCov*), риновирусов (*hRv*), аденовирусов групп В, С и Е (*hAdv*), бокавируса (*hBov*), вирусов гриппа (*Influenza virus A и B*).

При исследовании образцов, полученных из ВАО г. Москвы, ДНК бактерий рода *Bordetella* обнаружена в 80 (16,7%) образцах, из них ДНК *B. pertussis* – в 68 (14,2%) образцах, ДНК *B. parapertussis* – в 4 образцах. В 8 образцах видовой принадлежность возбудителя не могла быть уточнена по причине низкого содержания микроорганизма в исследованном материале. Культура *B. pertussis* была выделена от 4 пациентов, что составило 0,8%, причем результат ПЦР во всех случаях также был положительным. В лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург» в результате бактериологического исследования культуру *B. pertussis* или *B. parapertussis* ни в одном случае выделить не удалось. ДНК возбудителей коклюша были обнаружены в образцах биологического материала от 13 (16,25%) детей. Из них в 11 (13,75%) случаях выявили ДНК *B. pertussis*. В двух случаях (2,5%) была обнаружена последовательность гена

ptxA, кодирующего коклюшный токсин, присутствующего в геномах *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*, но при этом ДНК было недостаточно для проведения межвидовой дифференциации. Эти 2 образца, согласно инструкции к набору реагентов, были интерпретированы как содержащие ДНК бактерий рода *Bordetella*. ДНК возбудителей коклюша обнаруживалась в материале у детей с продолжительностью кашля от 3 дней до 1 мес (у 78% – в пределах 3 нед). При обследовании 235 детей, наблюдавшихся в ДПП с симптомами ОРЗ, не исключающими коклюшную инфекцию, *B. pertussis* обнаружена у 18 человек (7,65%), *B. parapertussis* – 2 (0,85%), *hRv* – 61 (25,95%), *hCov* – 6 (2,55%), *hRSv* – 6 (2,55%), *hPiv* – 11 (4,68%), *Chl. pn.* – 3 (1,28%). Количество случаев сочетанного инфицирования составило 9,36%, среди них преобладали *hRv* (82%). ДНК *B. pertussis* обнаружена в респираторных мазках, взятых с 1-го по 53-й дни (в среднем 15 дней, медиана – 14 дней) от начала первых признаков заболевания. Из группы лабораторно подтвержденного коклюша у половины детей диагностировался трахеит. У всех детей отмечался кашель: длительный – 72%; приступообразный – 50%; трахеобронхиальный – 22%; навязчивое покашливание – 39%; приступы в ночное время – 44%. Отхождение вязкой мокроты наблюдалось у 44% больных. Рвота после приступа кашля – у 22%, цианоз лица во время кашля – лишь в 5,5% случаев. Гиперемия зева наблюдалась у 61% обследованных, ринит – у 33% детей. В группе лабораторно подтвержденного коклюша половина детей были вакцинированы (АКДС). Средний возраст заболевших привитых составил 8 лет 7 мес с медианой в 9 лет, минимумом в 3 года 9 мес. Средний возраст заболевших не привитых составил 4 года 6 мес, с медианой в 3 года 4 мес. Возрастные различия между группами вакцинированных и не вакцинированных заболевших были достоверны ($p < 0,05$).

Результаты апробации набора реагентов для ПЦР-диагностики коклюша свидетельствуют о его высокой диагностической чувствительности, превосходящей бактериологическое исследование более чем в 10 раз. Применение ПЦР эффективно, начиная с первого дня болезни до 3 нед, однако с 3-й нед заболевания в случае получения отрицательного результата, следует подключать и серологическую диагностику с использованием парных сывороток, полученных с интервалом 10 дней – 2 нед, и учитывать вакцинальный статус.

Результаты исследования демонстрируют, что АКДС защищает детей от заболевания коклюшем в раннем возрасте. В современных условиях вакцинопрофилактики среди больных коклюшем детей наблюдается снижение частоты некоторых индикаторных признаков коклюша (цианоз, рвота) и увеличение частоты общих для большинства ОРЗ симптомов: гиперемия зева, ринит, длительный кашель. Поскольку подобные клинические признаки вызывают многие возбудители, ранняя диагностика коклюша в катаральном периоде и выявление этиологии других ОРЗ позволяют своевременно применять этиотропную терапию, существенно сократить продолжительность болезни и избежать осложнений.

Д.Е. Киреев, Г.А. Шипулин. Основные направления развития лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции. ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Несмотря на достигнутые в мире успехи в области борьбы с распространением ВИЧ-инфекции, болезнь остается одной из основных проблем общественного здравоохранения. В России эпидемия продолжает развиваться, ожидается, что к концу 2014 г. будет зарегистрирован 1 млн российских граждан, инфицированных ВИЧ. Ежегодно в нашей стране проводится приблизительно 25 млн серологических исследований с целью антител к ВИЧ. Кроме того, ВИЧ-инфекция, являясь неизлечимым хроническим заболеванием, требует регулярного обследования пациентов на протяжении всей жизни. Для правильной оценки стадии ВИЧ-инфекции и скорости развития болезни необходимо проведение ряда лабораторных исследований (уровень вирусной нагрузки, количество

CD4⁺ лимфоцитов). В целом лабораторная диагностика занимает важное место в комплексе медицинских манипуляций, оказываемых ВИЧ-инфицированным.

Достижения, обусловленные непрерывным совершенствованием методов молекулярной диагностики, удешевлением технологий, развитием приборной базы, в настоящее время активно внедряются в клиническую диагностическую практику, позволяя не только улучшить качество исследования, но и значительно увеличить их информативность.

Основными направлениями развития лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции являются:

выявление молекулярных маркеров (РНК или ДНК) ВИЧ в трансфузиологии при тестировании донорской крови и ее компонентов;

выявление и количественное определение РНК/ДНК ВИЧ путем независимой амплификации двух участков вирусного генома;

адаптация существующих методов исследования под новые виды клинического материала (сухие пятна крови, очищенные сперматозоиды);

выявление генетических маркеров человека, ассоциированных с риском инфицирования ВИЧ, скоростью прогрессии ВИЧ-инфекции, а также с риском возникновения нежелательных явлений в ответ на прием антиретровирусных препаратов;

применение массового параллельного секвенирования (МПС) в области изучения лекарственной устойчивости ВИЧ.

Часть перечисленных достижений уже активно используется в практической диагностике. Например, выявление молекулярных маркеров все шире внедряется в службу донорства в России, зарегистрировано несколько диагностических наборов, выявляющих ВИЧ по двум мишеням, существует тест-система, обнаруживающая как РНК, так и ДНК ВИЧ. Другие технологии, например, выявление мутаций лекарственной устойчивости методом МПС, выявление спектра генетических маркеров, находятся еще только на этапе разработки. Несомненно, что в ближайшем будущем лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции увеличит свою значимость при оказании медицинской помощи ВИЧ-инфицированным лицам и позволит вплотную приблизиться к персонализированной медицине.

Т.С. Скачкова¹, О.Ю. Сильвейстрова¹, О.В. Ракчеева¹, О.Ю. Шипулина¹, А.Н. Кисляков², Х.М. Арчкова², Ю.И. Семина². Применение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекций в аутопсийном материале. ¹ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва; ²Морозовская детская городская клиническая больница, г. Москва

Уровень младенческой смертности в России в три раза выше, чем в странах с ее минимальным уровнем, и требует тщательного расследования каждого случая смерти. Вирусологическое и бактериологическое исследование аутопсийного материала в большинстве случаев не проводится из-за высокой стоимости и трудозатрат. Для изучения возможности применения полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекций в аутопсийном материале, был исследован материал от 101 ребенка, умершего в возрасте до 1 года. 80 детей из 101 умерли, не дожив до 28 дней. Из них 51 ребенок погиб в раннем неонатальном периоде (в возрасте до 7 дней) и 29 детей погибли в позднем неонатальном периоде. Сбор, транспортирование, хранение и подготовка образцов аутопсийного материала осуществлялись в строгом соответствии с требованиями СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности», методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики» (Москва, 2008) и методическими рекомендациями «Способ выявления возбудителей внутриутробных инфекций в аутопсийном материале от погибших плодов

и новорожденных» (Хабаровск, 2012). Материал отбирался из зоны предполагаемого местонахождения возбудителя инфекции, поврежденной ткани или пограничного с повреждением участка от следующих органов: головной мозг, легкие, печень, почки, селезенка. Методом ПЦР определяли наличие или отсутствие ДНК вирусов: цитомегаловируса (CMV), Эпштейна–Барра вируса (EBV), вируса герпеса 1 и 2 типа (HSV), вируса герпеса 6 и 7 типа, Варицелла–Зостер вируса (VZV); ДНК *Toxoplasma gondii*; ДНК *Pneumocystis jiroveci* и ДНК ряда бактерий, в частности *Streptococcus agalactiae* и *Listeria monocytogenes*.

ДНК CMV была обнаружена в аутоптатах от семи пациентов (в аутоптатах легких, печени и селезенки). У ребенка с патологоанатомическим диагнозом «Геморрагическая болезнь новорожденных. Тотальный распад вещества головного мозга. Двусторонняя полисегментарная пневмония», умершего в возрасте 4,5 мес, ДНК CMV была обнаружена также в головном мозге. ДНК других герпесвирусов выявлялись реже (герпес шестого типа в аутоптатах от 5 детей, EBV у одного, ДНК HSV и VZV не обнаружены). ДНК герпеса седьмого типа была обнаружена в аутоптате печени одного ребенка с патологоанатомическим диагнозом: «Острый лимфобластный лейкоз. Отек легких. Двусторонняя очаговая пневмония». ДНК *Toxoplasma gondii* и *Listeria monocytogenes* в данной выборке не обнаружены. Одна из наиболее частых причин заболеваемости новорожденных – стрептококки группы В (*Streptococcus agalactiae*) были обнаружены в аутоптатах от 5 детей. У всех пяти детей была врожденная пневмония. ДНК *Pneumocystis jiroveci* была обнаружена в легком 2 детей в возрасте 1 и 1,5 мес, причем в одном случае в анамнезе была правосторонняя верхнедолевая пневмония, а во втором случае диагноза «пневмония» не было. Окончательные выводы возможны только с учетом прижизненного анамнеза, гистологических и других клинико-морфологических данных.

Использование ПЦР для выявления возбудителей инфекций в аутопсийном материале позволяет выявлять широкий спектр микроорганизмов, в том числе трудно-культивируемых, в одном образце в течение нескольких часов. Но ПЦР-анализ имеет и свои недостатки. В первую очередь это высокий риск контаминации образцов. Для минимизации контаминации условно-патогенной флорой аутопсийного материала рекомендуется раннее взятие материала с соблюдением правил асептики; транспортировка в специальных контейнерах с охлаждающими элементами и недопустимость более чем однократного замораживания-оттаивания материала.

Е.А. Долгова¹, М.В. Альварес Фигероа¹, О.В. Парфенова², А.В. Прокопенко¹, В.Н. Зимица³, С.Л. Максимов². **Пилотное испытание методики обнаружения LAM-Ag в моче при диагностике туберкулеза у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.** ¹ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; ²ГБОУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова», Москва; ³РУДН МО, Москва

Микобактерии являются самым частым возбудителем вторичных заболеваний у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции в России. Диагностическая чувствительность метода бактериоскопии с окраской по Цилю–Нильсену (единственного регламентированного стандартом первичной медико-санитарной помощи при болезни, вызванной ВИЧ) у больных данной категории крайне низка. Метод ПЦР показал высокую эффективность, однако его применение ограничено необходимостью анализа биоматериала из очага поражения. Учитывая частую генерализацию туберкулезного процесса и стертую клиническую картину, необходим поиск дополнительных экспресс-тестов для таких больных. В настоящее время в разных странах мира проходит клиническую валидацию иммунохроматографический тест «Alegre Determine™ TB LAM Ag test» (производства компании Alegre, США), основанный на выявлении LAM-Ag в моче. Достоинством теста является возможность выявлять туберкулезный процесс вне зависимости от его локализации. К сожалению, тест не дифференцирует микобактерии внутри

рода и выявляет как туберкулезные, так и нетуберкулезные микобактерии.

Цель: оценить возможность применения методики выявления LAM-Ag в моче у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции с подозрением на туберкулез.

В исследование включены 86 больных ВИЧ-инфекцией пациентов ГБУЗ «ИКБ № 2» ДЗМ. Критериями включения служили наличие одного или нескольких клинических симптомов: лихорадка, потеря массы тела, кашель, ночные поты. От каждого пациента с интервалом в сутки брали по 2 образца мочи и мокроты. От 4 пациентов дополнительно были получены образцы БАЛ. Образцы мочи, мокроты и БАЛ были исследованы на наличие ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* («АмплиСенс® МТС-FL») и ДНК *Mycobacterium avium complex* («АмплиСенс® АВМУМ»). Кроме того, образцы респираторного материала исследовали на наличие КУБ (микроскопия с окраской по Цилю–Нильсену), а образцы мочи – на наличие LAM-Ag. Уровень CD4⁺лимфоцитов у обследованных больных составлял от 0 до 198 кл./мкл.

Методом микроскопии с окраской по Цилю–Нильсену КУБ не были обнаружены ни в одном из 52 исследованных образцов. Методом ПЦР при исследовании образцов биоматериала, взятых в первый день обследования, ДНК МТС была выявлена в 10 (11,6%) случаях, тогда как анализ образцов, взятых на следующий день, позволил выявить дополнительно ДНК МТС еще у двух пациентов. Таким образом, частота обнаружения ДНК МТС составила 14% ДНК. ДНК МАС первоначально была обнаружена в биоматериалах у 2 (2,3%) пациентов, анализ материалов, взятых на следующий день, увеличил эффективность исследования до 4,6%. Исследование мочи позволило выявить LAM-Ag в 15 (17,4%) случаях. При исследовании образцов, взятых на 2-й день обследования, частота обнаружения LAM-Ag увеличилась до 19,7% (17 человек). В 5 (29,4%) из 17 случаев обнаружения LAM-Ag в моче, в респираторном материале и/или моче методом ПЦР больных была обнаружена ДНК МТС, что свидетельствовало о туберкулезной этиологии процесса. В 2 (11,8%) случаях при обнаружении LAM-Ag была обнаружена ДНК МАС, у больных был заподозрен микобактериоз. В 10 (58,8%) случаях ДНК МТС или МАС обнаружена не была. Это может свидетельствовать о низкой бактериальной нагрузке в исследованных образцах или об отличающейся от легочной и урогенитальной локализации туберкулезного процесса, а также о том, что заболевание вызвано другими, не исследованными нами нетуберкулезными микобактериями. У 9 (10,5%) пациентов в респираторном материале были обнаружены ДНК МТС или МАС, при этом LAM-Ag в моче выявлен не был, что может быть объяснено более высокой информативностью метода ПЦР при диагностике микобактериальных поражений, вызванных данными микобактериями по сравнению с обнаружением LAM-Ag.

Методика обнаружения LAM-Ag в моче может быть рекомендована для включения в комплексное обследование больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

А.В. Прокопенко¹, М.В. Альварес Фигероа¹, О.В. Парфенова², Е.А. Долгова¹, В.Н. Зимица³, С.Л. Максимов². **Результативность квантиферонового теста у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции в зависимости от уровня иммуносупрессии.** ¹ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва; ²ГБОУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, Москва; ³РУДН МО РФ, Москва

В настоящее время квантифероновый тест (QuantiFERON-TB Gold in Tube, QIAGEN, Германия) (QFT), оценивающий уровень сенсibilизации Т-лимфоцитов к антигенам диких штаммов *M. tuberculosis complex* (МБТ), настоятельно рекомендуется для регулярного обследования лиц с ВИЧ-инфекцией на туберкулез (ВОЗ, 2015). Однако вопрос об эффективности применения данного теста у больных ВИЧ-инфекцией с высоким уровнем иммуносупрессии все еще остается открытым, т.к. велика вероятность получения сомнительных результатов теста в силу недостаточного коли-

чества эффекторных клеток у пациентов. В этом случае требуются дополнительные финансовые и временные затраты для повторного исследования без гарантии получения однозначного результата. Имеющиеся на сегодняшний день литературные данные показывают, что у наиболее сложных для дифференциальной диагностики туберкулеза пациентов – больных ВИЧ-инфекцией с количеством $CD4^+$ < 200 кл./мкл – процент сомнительных результатов составляет 8,2% (6–11%), но в силу малого числа исследований (всего 7 работ) (Santin, 2012) данная цифра требует уточнений.

Цели и задачи – оценить процент сомнительных результатов QFT у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции при дифференциальной диагностике туберкулеза.

Исследование проводилось на базе ГБУЗ «ИКБ № 2» ДЗМ. У больных ВИЧ-инфекцией критериями включения служило наличие одного из 4 клинических симптомов, характерных для туберкулеза (лихорадка, потеря массы тела, кашель, ночные поты). У больных собирали демографические данные, определяли иммунный статус и использовали QFT для исследования крови.

Из 89 отобранных для участия в исследовании пациентов в анализируемую группу были включены 67. Остальные исключены по причине отсутствия сведений об иммунном статусе и/или материала для проведения QFT. В анализируемой группе было 70,1% ($n=47$) мужчин и 29,9% ($n=20$) женщин в возрасте от 24 до 61 года (36 ± 7 лет). Количество $CD4^+$ -лимфоцитов варьировало от 0 до 374 кл./мкл (67 ± 87 кл./мкл). Количество положительных ответов QFT составило 22,4% ($n=15$), отрицательных – 50,7% ($n=34$), что позволило получить результативные заключения для 73,1% ($n=49$) пациентов. Доля сомнительных результатов составила 26,9% ($n=18$). Дополнительно мы оценили влияние количества $CD4^+$ -лимфоцитов на количество сомнительных результатов. Пациенты были разделены на 4 группы по количеству $CD4^+$ -клеток: ≥ 200 кл./мкл (группа 0); от 100 до 199 кл./мкл (группа I), от 50 до 99 кл./мкл (группа II), < 50 кл./мкл (группа III). Количество больных в группах составило: 4,5% ($n=3$), 22,4% ($n=15$), 29,9% ($n=20$), 43,3% ($n=29$) соответственно. Из-за малого количества больных группа 0 в дальнейшем не анализировалась. Распределение сомнительных результатов QFT в оставшихся группах было следующим: I группа – 20,0% ($n=3$); II группа – 20,0% ($n=4$); III группа – 37,9% ($n=11$). Несмотря на видимое увеличение количества сомнительных результатов при уменьшении числа $CD4^+$ -клеток, статистически значимых отличий нами не получено (критерий Фишера $\varphi=1,373$ (II – III группы)). Возможно, увеличение размера выборки позволит их выявить.

В настоящей работе были получены данные, позволяющие определить долю сомнительных результатов QFT у больных ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях в выборке пациентов из России – от 20 до 37,9%. Объяснение причин большего процента сомнительных результатов в нашей выборке и уточнение статистической значимости корреляции требует проведения дальнейших исследований.

Л.А. Сайгушева, Е.Ф. Дудко, Е.А. Евтушенко, А.В. Кяров. Информативность содержания sIgA в слюне и бактерионосительства *S. aureus* у лиц с заболеваниями пародонта. БУ ВО «Сургутский государственный университет», г. Сургут

Среди болезней, имеющих большое значение в стоматологии, наиболее распространенной считается пародонтит, который проявляется в различных формах, формируя в полости рта очаги хронической инфекции.

В развитии воспалительных заболеваний пародонта ведущую роль отводят микробным и иммунным механизмам, а прогноз и течение заболеваний зависят от уровня факторов неспецифической резистентности полости рта, среди которых основополагающими являются нормальная микрофлора и sIgA.

Целью настоящего исследования явилось определение информативности содержания sIgA в слюне и бактерионо-

сительства *S. aureus* у лиц с заболеваниями пародонта. В работе использовались клинические, бактериологические, иммунологические и статистические методы исследования, включая метод последовательной диагностической процедуры А. Вальда. Бактериологическое исследование включало взятие мазков с 4 биотопов (слизистая оболочка носа, зева, щеки и десны), посев на питательные среды, которые доставлялись в бактериологическую лабораторию в течение 1 ч с последующей идентификацией микроорганизмов. Содержание секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в слюне осуществлялось с помощью наборов реагентов sIgA-ИФА-БЕСТ-стрип ЗАО «Вектор-Бест» методом иммуноферментного анализа.

Обследованы 96 человек в возрасте от 22 до 59 лет, обратившихся за пародонтологической помощью. По содержанию sIgA в слюне выделены 3 группы: 1-я группа – лица, у которых содержание sIgA в слюне составляло 17–100 мг/л; 2-я – 101–200 мг/л; 3-я – более 201 мг/л.

В результате проведенных исследований установлено, что 1-ю группу составили лица с интактным пародонтом и пародонтитом легкой и средней степени тяжести примерно с равной частотой случаев. Во второй группе доминировали случаи пародонтита средней тяжести (48,4%). В третьей группе преобладали случаи пародонтита средней (50%) и тяжелой степени (34,4%). В первой группе число носителей *S. aureus* составило 35,5%. Во второй группе число носителей *S. aureus* возросло до 51,5%, и значительно больше было в 3-й группе, в которой наблюдались самые тяжелые случаи пародонтита при высоком содержании sIgA (более 200 мг/л).

При оценке количества колонизируемых *S. aureus* биотопов установлено, что в первой группе пациентов преобладали случаи выделения *S. aureus* только в одном из исследуемых биотопов (со слизистой оболочки или носа или зева; 32,3% случаев), во второй группе в 24,2% случаев отмечено выделение *S. aureus* одновременно с двух этих биотопов. В третьей группе пациентов в более половины случаев выделение золотистого стафилококка отмечалось одновременно в 3-х и 4-х биотопах (нос, зев, десна и нос, зев, десна, щека; 53,1% случаев), что может указывать не только на локальные изменения состояния слизистой оболочки полости рта, но и на снижение резистентности организма.

В процессе проведенных исследований определены величины диагностических коэффициентов содержания sIgA (ДК=9) в слюне и бактерионосительства *S. aureus* (ДК=11) у лиц с пародонтитом. Достижение уровня 20 баллов дает основание для дифференциальной диагностики с вероятностью ошибки в 1,0% ($p < 0,01$) и позволяет вынести решение «заболевание» с назначением соответствующего профилактического и лечебного воздействия.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что высокая частота выделения *S. aureus* с различных биотопов и широко варьируемый уровень sIgA при заболеваниях пародонта определяют необходимость проведения бактериологических и иммунологических исследований для оказания персонализированной помощи в проведении профилактических и лечебных мероприятий.

И.Э. Ляшенко, Н.П. Сетко, Е.А. Михайлова, В.И. Желтова, А.Ю. Миронов. Оценка адгезивной способности эшерихий с различным набором персигментных характеристик. ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург

Адгезивная способность как начальный этап колонизации имеет важное значение для индикации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в том числе эшерихий. Трудности в оценке диагностической значимости этого свойства определяются тем, что различия в адгезивных характеристиках штаммов, выделенных от больных и здоровых, проявляются лишь в преобладании признака у разных культур (Бондаренко В.М. и др., 1987). Известно, что абсолютное большинство типов адгезинов эшерихий детерминируется плазмидами и часто коррелируют с другими факторами патогенности (Петровская В.Г., 1990). Адгезия и факторы

персистенции являются свойствами, обуславливающими начало и длительность симбиотического или инфекционного процесса. В связи с этим представлялось интересным изучение адгезивных характеристик и персистентных свойств эшерихий.

Цель настоящей работы состояла в оценке адгезивной активности эшерихий с различным набором персистентных признаков – антилизоцимной активности (АЛА) и антиинтерфероновой активности (АИА).

Материалом для исследования послужили 173 штамма кишечных палочек, выделенных из кишечника здоровых лиц и от больных эшерихиозами, из мочи больных пиелонефритом и из воды открытых водоемов. Признаки персистенции определяли чашечным методом (Бухарин О.В. с соавт., 2001). Адгезивная способность изучалась по методике В.И. Бриллиса с соавт. (1986) и оценивалась по индексу адгезии микроорганизмов (ИАМ – среднее количество микробных клеток на одном участвующем в адгезии эритроците).

Результаты показали, что среди исследуемых штаммов 44,5% обладали только АЛА, 41% штаммов – АЛА и АИА, у 14,5% штаммов отсутствовали признаки персистенции, у 88,5% эшерихий была выявлена выраженная адгезивная активность. При оценке наличия признака адгезии были установлены незначительные различия в группах: у эшерихий с АЛА адгезивной способностью обладали 85,3% штаммов, с АЛА и АИА – 97,2%, без признаков персистенции – 72% культур. Существенные различия были выявлены при определении уровня выраженности адгезивной активности с использованием ИАМ. В группе штаммов с изолированной АЛА большинство культур были с низкими и средними показателями ИАМ (36,3 и 41,5% соответственно). Среди эшерихий с двумя признаками персистенции АЛА и АИА увеличивалось количество штаммов со средним и высоким уровнем адгезивной активности (46,4 и 35,2% соответственно). Кишечные палочки с отсутствием персистентных свойств отличались практически равномерным распределением штаммов без адгезивной способности, а также с низким и средним уровнем выраженности этого признака (28,4, 32,5 и 36,7% соответственно).

Таким образом, абсолютное большинство исследуемых кишечных палочек, независимо от свойств персистенции, обладает адгезивной способностью. При этом установлена тенденция увеличения числа активных штаммов и повышения уровня выраженности адгезивной активности в группе бактерий, обладающих АЛА и АИА, что может быть использовано в качестве дополнительного критерия индикации патогенных и условно-патогенных эшерихий в лабораторной практике.

Т.О. Федорова, Е.А. Михайлова, О.О. Жеребятьева, В.Ю. Махалов, Г.О. Махалова. **Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из мочевыводящих путей у лиц пожилого возраста.** ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Оренбург

Инфекция мочевыводящих путей – одна из наиболее частых патологий у пожилых лиц. Применение катетеров и дренажей на фоне возрастного снижения резистентности способствует развитию восходящей инфекции, нередко переходящей в нозокомиальный грамотрицательный сепсис. Во всем мире прослеживается тенденция к увеличению удельного веса синегнойной палочки в общей структуре внутригоспитальных гнойно-септических инфекций. Повсеместное распространение *P. aeruginosa*, их высокая резистентность к известным антибактериальным препаратам, применяемым в медицинской практике, диктуют необходимость мониторинга био профиля циркулирующих псевдомонад.

Цель: определить чувствительность к антимикробным препаратам штаммов синегнойной палочки, изолированных из мочевыводящих путей у лиц пожилого возраста.

В задачи входило выделение и идентификация штаммов

P. aeruginosa из мочи у лиц пожилого возраста с зарегистрированными заболеваниями мочевыводящих путей и оценка чувствительности к антибактериальным препаратам выделенных штаммов.

Проведено обследование 50 пациентов в возрасте 75–90 лет с зарегистрированными циститами, уретритами и пиелонефритами, из которых 35 пациентов перед проведением исследования подвергались катетеризации мочевого пузыря. Выделение микрофлоры проводили бактериологическим методом по общепринятым методикам (Приказ № 535). Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом (МУК 4.2.1890-04 МЗРФ).

В ходе исследования было выделено 33 изолята *P. aeruginosa*, что составило 66% от общего числа микроорганизмов, причем 22 из них было выделено у лиц, подвергающихся катетеризации. Штаммы синегнойной палочки выделялись в монокультуре в 40% случаев, в составе ассоциаций в 60% случаев. Ассоциантами штаммов *P. aeruginosa* являлись преимущественно энтеробактерии и стафилококки.

Показатель микробной обсемененности синегнойной палочки в исследуемом материале в среднем составил 10^5 КОЕ/мл. При изучении чувствительности к антибиотикам было выявлено следующее: 90% штаммов *P. aeruginosa* были чувствительны к меропенему, имипенему, цефепиму и амикацину; 80% – к цефперазону и цефтазидиму; 75% – к ципрофлоксацину; 40% – к гентамицину, котримоксазолу и ампициллину. Кроме антибиотиков, для лечения инфекций мочевыводящих путей часто назначают диоксидин – антибактериальный препарат для местного и парентерального применения. В связи с этим в настоящем исследовании мы определили чувствительность к данному препарату. Было установлено, что 90% штаммов *P. aeruginosa* отличались чувствительностью к диоксидину.

P. aeruginosa является одним из основных этиологических факторов заболеваний мочевыводящих систем у лиц пожилого возраста, так как выявляется в 66% случаев от общего количества бактерий. Предшествующая катетеризация способствует заселению мочевыводящих путей синегнойной палочкой. Самыми эффективными препаратами в отношении штаммов *P. aeruginosa* являются бета-лактамы антибиотиками (цефалоспорины, карбапенемы), менее эффективными аминогликозиды (гентамицин) и некоторые пенициллины (ампициллин). Наряду с антибиотиками целесообразным является применение диоксидина, так как это средство достаточно эффективно в отношении возбудителя.

Л.В. Макарова¹, Н.В. Ходарев¹, Е.В. Олемтцева¹, А.С. Кириченко², О.Н. Папушин², Т.В. Усаткина², Т.Н. Гребеницкова², Т.В. Медведева². **Случай лабораторной диагностики атипичного инфекционного мононуклеоза.** ¹Медико-санитарная часть УФСБ России по Ростовской области; ²ФКГУ «1602 ВКГ» МО РФ, г. Ростов-на-Дону

Инфекционный мононуклеоз является одним из разновидностей лейкомоидных реакций, где выраженность иммунологических реакций позволяет считать его болезнью иммунной системы.

Представляем клинический случай проявления инфекционного мононуклеоза. Пациентка А., 1994 г.р., находилась на стационарном обследовании и лечении в ФКГУ «1602 ВКГ» МО РФ. Жалобы при поступлении на увеличенные, болезненные подчелюстные и шейные лимфоузлы, боль в горле при глотании, выраженную слабость, озноб, насморк. Из анамнеза известно: считает себя больной, когда появился насморк, переходящие боли в горле при глотании. Через неделю выявила увеличенные подчелюстные и шейные лимфатические узлы. Далее, находясь на амбулаторном лечении по поводу тонзиллита, состояние без улучшения. После консультации инфекционистов ФКГУ «1602 ВКГ» госпитализирована в инфекционное отделение. По данным объективного исследования при поступлении: нормального телосложения, удовлетворительного питания. Кожные покровы лица в об-

ласти носа и щек покрыты сыпью, видимые слизистые чистые, обычной окраски. Шейные лимфоузлы увеличены до 3–5 см, болезненные при пальпации, окружность шеи 42 см. Периферических отеков нет. Лор-статус: зев гиперемирован, отечен, дужки отечные, миндалины увеличены до III–IV степени, покрыты гнойно-некротическими наслоениями, просвет между ними 2–3 мм; носовое дыхание резко затруднено. Результаты клинических исследований: общий анализ крови при поступлении: гемоглобин 113 г/л, эритроциты $3,8 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $20,5 \times 10^9/л$, тромбоциты $114,0 \times 10^9/л$; лейкоцитарная формула: нейтрофилы 27%, палочкоядерные 12%, сегментоядерные 15%, лимфоциты 70%, моноциты 3%, широкоплазменные – (+), мононуклеары – 10 клеток, СОЭ – 12 мм/ч. Результат ПЦР исследования: Epstein Barr virus – ДНК обнаружена. Результат серологического исследования Epstein Barr virus VCA IgM положительно.

На фоне проводимого комплексного лечения усилились боли в горле при глотании, появилось затрудненное открывание рта, отделение крови при сплевывании – осмотрена ЛОР-специалистом, установлен диагноз: паратонзиллярный абсцесс слева, острый ринит. Проведена операция: вскрытие паратонзиллярного абсцесса слева, получен гнойно-геморрагический экссудат в большом количестве, полость промыта раствором метрогила. Однако после операции продолжалось кровотечение, остановка которого была невозможной без общей анестезии для тампонады гортаноглотки. Под общей анестезией и ИВЛ выполнена операция: тампонада гортаноглотки. Диагноз: глоточное кровотечение на фоне гнойно-некротической ангины, на фоне тяжелого течения инфекционного мононуклеоза. Состояние после вскрытия левостороннего паратонзиллярного абсцесса – постгеморрагическая анемия средней тяжести (гемоглобин 89 г/л). Проведена интенсивная терапия, и на фоне стабильного состояния (гемоглобин 94 г/л) пациентка переведена в профильное отделение для продолжения противовирусной и антибактериальной терапии.

В результате проведенного лечения достигнуто полное отсутствие вируса Epstein Barr virus в крови, купированы симптомы интоксикации, стабилизировались гематологические показатели. Выписана в удовлетворительном состоянии под наблюдением инфекциониста, терапевта, отоларинголога по месту жительства. Рекомендовано строго соблюдать режим труда, питания и отдыха. Приведенный клинический случай выявления инфекционного мононуклеоза свидетельствует о том, что настороженность врачей первичного звена снижена и создает прецеденты для поздней его диагностики. Можно полагать, что адекватная оценка гематологической картины пациентов, а также совместная работа врачей смежных специальностей является обязательным условием ведения трудных пациентов.

Е.Б. Лазарева, Н.В. Евдокимова, А.В. Гришин, С.А. Тарасов. Особенности микробиоценозов у больных с нарушениями мезентериального кровообращения. ГБУЗ г. Москвы «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Микробное сообщество играет важную роль в поддержании нормального гомеостаза организма. Микрофлору человека следует рассматривать как совокупность множества микробиоценозов, нарушения в которых могут приводить к развитию серьезных осложнений в организме человека.

Целью работы явилось изучение микрофлоры биотопов у больных с тромбозом мезентериальных сосудов.

В динамике обследованы 10 пациентов, от которых получено 233 пробы различных видов клинического материала: образцов крови – 103, мочи – 43, отделяемого зева – 31, носа – 18, ран – 5, кал на дисбактериоз – 17 и прочих (отделяемое из дренажа, внутривенного катетера, бронхосмывы) – 16. Выделено 318 штаммов микроорганизмов. Родовую и видовую идентификацию выполняли с помощью тест-систем фирм «Lachema» и «bioMérieux». Лекарственную чувствительность микроорганизмов определяли диско-диффузионным методом.

Для выявления этиологической значимости микроорганизмов использовали показатель постоянства, характеризующий долю (в %) проб биоматериалов, содержащих микроорганизмы той или иной таксономической группы.

В результате анализа выделенной микрофлоры установлено, что микроорганизмы были выделены от 4 больных (38,8% проб). Наиболее часто присутствовали энтерококки (11,7%), дрожжеподобные грибы рода *Candida* (10,7%), а также коагулазоотрицательные стафилококки (10,7%), коагулазоположительные стафилококки (5,9%). Неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы обнаружены в 5,1% проб. По одной пробе приходилось на *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*

В исследованных пробах мочи наиболее часто присутствовали энтерококки (18,6%) и представители семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.* и *Klebsiella spp.* В 67,4% проб отсутствовал рост микроорганизмов.

В отделяемом из зева чаще присутствовали *S. aureus* и *Acinetobacter spp.* (по 45,2% каждого), а также микроорганизмы, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae*: *Klebsiella spp.* (38,7%), *E. coli* (35,5%) и *Enterobacter spp.* (25,8%). *Candida spp.* выделены из 26,9% проб.

Кал на дисбактериоз исследовали у 6 больных (17 проб). Дисбиотические нарушения микрофлоры ЖКТ были вызваны дефицитом бифидо- и лактобактерий, присутствием дрожжеподобных грибов рода *Candida* и условно-патогенных микроорганизмов: *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *S. aureus*. Причем наиболее выраженные нарушения микрофлоры ЖКТ обнаружены у больных с короткой тонкой кишкой после перенесенной операции по поводу тромбоза мезентериальных сосудов с развитием ее некроза. У этих больных существенно было снижено содержание лактозоположительной негемолитической кишечной палочки и увеличено количество клебсиелл.

Сравнительный анализ микрофлоры, выделенной из различных биотопов, показал, что наиболее часто совпадала микрофлора содержимого толстой кишки и зева, что является выраженным признаком дисбиотических нарушений.

О.А. Землянский¹, Е.Б. Тюрина², Д.С. Стародубов², А.Б. Казенный². Опыт выявления ДНК M. tuberculosis в резекционном и биопсийном материале с помощью автоматического ПЦР-анализатора GenExpert в Белгородской области. ¹НИУ «БелГУ», ²ОГКУЗ «Противотуберкулезный диспансер», г. Белгород,

Несмотря на то что в Белгородской области в течение последних 5 лет сохраняется благополучная эпидемическая ситуация по туберкулезу, остается высокой доля больных с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. В этих условиях возрастает роль ускоренной молекулярно-генетической диагностики туберкулеза, которая позволяет верифицировать диагноз и назначить больному адекватную схему лечения с учетом лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*, не дожидаясь результатов длительно проводимых рутинных бактериологических исследований. Поиск возбудителя целесообразно осуществлять во всех доступных биологических материалах, в том числе резекционном и биопсийном материале из очагов поражения в легких. Это особенно актуально в тех случаях, когда не удается обнаружить возбудитель в мокроте.

В 2014 г. проведены исследования резекционного и биопсийного материала от 50 пациентов, находившихся на диагностике и/или лечении по поводу туберкулеза легких в Белгородском областном противотуберкулезном диспансере. Материал исследовался молекулярно-генетическим методом с помощью автоматического ПЦР-анализатора GeneXpert. Метод позволяет обнаружить ДНК *M. tuberculosis* и одновременно выявить генетические маркеры устойчивости к рифампицину, ассоциированные с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Параллельно применялись рутинные бактериологические методы исследования

резекционного и биопсийного материала: люминесцентная микроскопия мазков и посевы на плотные питательные среды Левенштейна–Йенсена и Финна-II. Кроме того, данной группе больных проведен стандартный комплекс бактериологической диагностики туберкулеза легких: трехкратный посев мокроты на жидкие (в ВАСТЕС MGIT 960) и плотные питательные среды Левенштейна–Йенсена и Финна-II с обязательной люминесцентной микроскопией мазков, тестирование на лекарственную чувствительность *M. tuberculosis* методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна–Йенсена.

Цель исследования – оценить эффективность молекулярно-генетического метода обнаружения возбудителя туберкулеза в резекционном и биопсийном материале с помощью автоматического ПЦР-анализатора GeneXpert по сравнению с бактериологическими методами.

Из 50 обследованных пациентов диагноз туберкулеза легких был установлен у 36 (72%) человек, у 14 (28%) – заболевание легких нетуберкулезной этиологии.

Бактериологическими методами удалось обнаружить *M. tuberculosis* в мокроте у 10 (27,8%) больных из 36, в резекционном и биопсийном материале – у 21 больного (58,3%). С помощью молекулярно-генетических исследований резекционного и биопсийного материала возбудитель туберкулеза был обнаружен у 27 (75%) больных.

Множественная лекарственная устойчивость возбудителя выявлена у 3 (8,3%) больных при бактериологическом исследовании мокроты, у 5 (13,9%) больных при бактериологическом исследовании резекционного и биопсийного материала, и у 11 (30,6%) больных с помощью молекулярно-генетических исследований резекционного и биопсийного материала.

Молекулярно-генетический метод исследования резекционного и биопсийного материала с помощью автоматического ПЦР-анализатора GeneXpert показал более высокую эффективность обнаружения возбудителя туберкулеза и его множественной лекарственной устойчивости по сравнению с бактериологическими методами. Применение данного метода, особенно в сложных диагностических случаях, позволяет обеспечить быструю этиологическую диагностику и адекватную терапию туберкулеза легких, что в свою очередь ведет к значительному сокращению сроков лечения.

Л.Ю. Воеводская, А.Г. Золовкина, Л.Г. Григоричева, О.В. Михайлова, С.Б. Карбышева, О.В. Кимаикина. Опыт использования ADVIA CENTAUR®CP (Siemens) в диагностике вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции. ФГБУ Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования Минздрава России, г. Барнаул

Основным методом диагностики ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов В и С на территории Российской Федерации в течение последних 25 лет является метод иммуноферментного анализа. В клиничко-диагностической лаборатории ФГБУ ФЦ ТОЭ диагностика данных инфекций проводится на автоматической системе ADVIA Centaur®CP (Siemens) методом иммунохемилюминесцентного анализа.

Цель исследования: обобщить опыт выполнения скрининговых исследований вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции методом прямой иммунохемилюминесценции на автоматической системе ADVIA Centaur®CP (Siemens). Провести сравнительный анализ чувствительности и специфичности ИФА и ИХЛА.

Задачи исследования: оптимизировать скрининговые исследования парентеральных инфекций для выдачи окончательного лабораторного заключения о наличии или отсутствии инфекционного агента в пробе пациентов в кратчайшие сроки, используя наиболее чувствительные и специфичные методы.

Определение аHIV-0,1,2IgG; HbsAg; аHCVIgG в сыворотке крови пациентов проводилось методом прямого иммунохемилюминесцентного анализа на автоматической системе ADVIA Centaur®CP (Siemens) с помощью реагентов ADVIA

CENTAUR HCV200; ADVIA CENTAUR HbsAg200; ADVIA CENTAUR HIV100 (Siemens).

Были проанализированы 1436 сывороток крови пациентов. С помощью набора реагентов ADVIA CENTAUR HIV100 исследовано в скрининге 216 образцов на аHIV-0,1,2IgG, из них 210 были негативными, 6 позитивными, 3 из которых подтверждены в ходе арбитражных исследований. Чувствительность реагентов ADVIA CENTAUR HIV100 (Siemens) составила 100%, специфичность 98,5%. В скрининге на аHCVIgG реагентами ADVIA CENTAUR HCV200 было выполнено 660 исследований, 628 из них были негативными, 32 позитивными, 30 из которых подтверждены. Чувствительность ADVIA CENTAUR HCV200 (Siemens) составила 100%, специфичность 99,6%. В ходе скрининговых исследований на HbsAg (ADVIA CENTAUR HbsAg200) 604 образца были негативными, 15 позитивными, 11 из которых подтверждены в подтверждающем тесте. Чувствительность ADVIA CENTAUR HbsAg200 составила 91,6%, специфичность 99,3%. По литературным данным, чувствительность ИФА составляет 99–100%, специфичность 96–99%.

Высокая степень стандартизации и точности, отсутствие человеческого фактора позволяют реагентам ADVIA CENTAUR HCV200, ADVIA CENTAUR HIV100, ADVIA CENTAUR HbsAg200 показывать более высокую специфичность в сравнении с ИФА. Снижение количества ложноположительных и ложноотрицательных результатов, более короткая продолжительность реакции позволяет быстрее выдать окончательное лабораторное заключение и оптимизировать процесс диагностики парентеральных инфекций в хирургическом стационаре. Более низкие значения чувствительности ADVIA CENTAUR HbsAg200 могут объясняться проблемой диагностики так называемых «ускользающих» мутантных субтипов вирусного гепатита В (escape-mutants), экспрессирующих HbsAg с атипичными серологическими свойствами, которая характерна и для ИФА.

О.В. Кимаикина, С.Б. Карбышева, Л.Г. Григоричева, А.В. Поповцева, А.Г. Золовкина, Л.Ю. Воеводская, Н.А. Корень, О.В. Михайлова, Е.В. Калина. Опыт использования микробиологического анализатора VersaTrek в диагностике парапротезной инфекции суставов. ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, г. Барнаул

Инфекционные осложнения при эндопротезировании суставов остаются одной из основных экономических и социально-значимых проблем. Объективными трудностями микробиологической диагностики в этих случаях являются труднокультивируемые, прихотливые и анаэробные микроорганизмы на имплантатах в составе биопленок; низкая концентрация возбудителя в образце, при которой могут возникнуть имплантассоциированные инфекции.

Цель исследования: сравнить микробиологические исследования образцов биоматериала классическим способом и в микробиологическом анализаторе VersaTrek (TrekDiagnosticSystems, США); оценить приемлемость исследования в данном анализаторе гомогенизированных биоптатов и смывной жидкости после УЗ-обработки удаленных имплантов.

Проведено исследование 1015 образцов биологического материала (синовиальная жидкость – 353, интраоперационные биоптаты – 566, смывная жидкость после УЗ-обработки удаленных имплантов – 96). Биопробы засеивались параллельно во флаконы микробиологического анализатора VersaTrek (TrekDiagnosticSystems, США) и на чашки Петри с 5% кровяным агаром, агаром Сабуро (при подозрении на грибковую инфекцию), пробирки с тиогликолевой средой: синовиальная жидкость и гомогенаты образцов тканей по 0,1 мл, смывная жидкость по 0,5 мл. Идентификация микроорганизмов производилась на анализаторе WalkAway 96, в сложных случаях ДНК-секвенированием. Клинически значимыми считались микроорганизмы, выделенные от пациентов с признаками инфекции суставов, парапротезной инфекции, предварительным диагнозом асептическая нестабильность

протезов при выделении в двух и более образцах фенотипически идентичной микрофлоры.

При сравнительном анализе двух методов получены сопоставимые отрицательные результаты в 82,7% образцов синовиальной жидкости, 87,5% биоптатов, 71% образцов смывной жидкости. Рост идентичных клинически значимых микроорганизмов зарегистрирован в 12, 8,1, 22% образцов соответственно. В части образцов клинически значимые микроорганизмы были получены либо в VersaTrek (труднокультивируемые, грибы, анаэробы, стафилококки), либо классическим методом (грибы, анаэробы) – в 3,7 и 0,3% образцов синовиальной жидкости, 1,1 и 0,4% биоптатов, 1,1 и 1,1% смывной жидкости. Количество контаминированных образцов синовиальной жидкости составило – 0,3% (VersaTrek) и 0,8% (классика), биоптатов – 1,4 и 0,5%, смывной жидкости – 2 и 2% соответственно. Чувствительность методов при посеве классическим способом и с помощью анализатора VersaTrek для синовиальной жидкости составила 77 и 98%, для биоптатов 89 и 96,8%, для смывной жидкости – 95,4 и 95,4% соответственно.

Ложноположительные результаты на анализаторе были получены в 0,3% образцов синовиальной жидкости и в 0,9% биоптатов. Ложноотрицательные результаты были получены в 0,2% биоптатов и в 1% образцов смывной жидкости (при микроскопии жидкости из анаэробных флаконов в этих образцах обнаружены микроорганизмы *Parvimonas micra*, выросшие только в тиогликолевой среде).

Микробиологическое исследование синовиальной жидкости является наиболее эффективным с применением анализатора VersaTrek. Учитывая сравнимые низкие проценты контаминированных образцов, исследование в анализаторе биоптатов и смывной жидкости после УЗ-обработки протезов возможно. Данные исследования перспективны у пациентов с парапротезной инфекцией неустановленной этиологии, особенно в случаях повторных ревизионных операций.

И.В. Соловьева, И.В. Белова, А.Г. Тоцилина, Т.П. Иванова, В.А. Жирнов. Особенности возрастной динамики структуры микробиоты толстой кишки и методы ее коррекции. ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Изучение микробной эндоэкологии человека (микробиологии) относится к одному из наиболее актуальных направлений исследований в области экологии, биологии и медицины. Большой интерес представляет изучение видового разнообразия и структуры сообщества симбиотических микроорганизмов кишечника, так как известно, что нет ни одной функции макроорганизма, на которую прямо или косвенно не влиял бы микробиоценоз этого биотопа.

Цель работы: на основании изучения особенностей возрастной динамики структуры микробиоты просвета толстой кишки «здоровых» и «больных» людей разных возрастных групп создать эндемичный пробиотик и разработать алгоритмы его применения.

Задачи – изучить видовую структуру сообществ симбиотических микроорганизмов толстой кишки «здоровых» и «больных» людей разных возрастных групп, проживающих на территории г. Нижнего Новгорода и области, создать базу данных результатов исследования, на основе анализа результатов структурирования базы данных произвести отбор производственно-перспективных эндемичных штаммов микроорганизмов, представителей резидентной микрофлоры, разработать алгоритмы включения пробиотика в комплекс базовой терапии.

Объектом исследования служили образцы клинического материала микрофлоры просвета толстой кишки здоровых и больных людей следующих возрастных групп: 0 – 23 ч 59 мин – 173 чел., 24 ч – 167 ч – 444 чел., 7 дн. – 29 дн. – 358 чел., 1 мес – 11 мес 29 дн. – 535 чел., 1 год – 6 лет 11 мес 29 дн. – 444 чел., 7 лет – 17 лет 11 мес 29 дн. – 395 чел., 18 лет – 59 лет 11 мес 29 дн. – 470 чел., 60 лет и старше – 449 чел. Всего исследована микрофлора у 3268 человек, выделено

32 784 культуры, идентифицировано до вида 23 497 штаммов микроорганизмов – представителей облигатной микрофлоры, в том числе 453 штамма лактобацилл.

Показано, что в процессе формирования микрофлоры кишечника человека участвуют как аэробные, так и анаэробные микроорганизмы, причем в равных соотношениях с первого часа жизни, процесс нарастания анаэробной компоненты (представители родов *Lactobacillus*, *Lactococcus* и *Bifidobacterium*) идет параллельно с ростом условно-патогенных микроорганизмов, *E. coli* и бактерий рода *Enterococcus*, минуя стадию «трансформации». Установлено, что с наибольшей частотой – в 92% случаев – оппортунистические микроорганизмы в значимых количествах ($> 10^5$ КОЕ/г) выделяются в группе «здоровых» детей в возрасте от одного месяца до года. Частота обнаружения УПМ в микрофлоре толстой кишки здорового человека начинает снижаться после первого года жизни и составляет 18% в возрастной группе 60 лет и старше. Доказано, что суммарная численность сообществ симбиотических микроорганизмов, выделяемых из толстой кишки здоровых людей во всех возрастных группах, на один два порядка выше, чем у больных ($p < 0,05$), за исключением группы 60 лет и старше.

Из 453 штаммов лактобацилл отобрано 3 производственно-перспективных штамма, изучены их свойства в соответствии с МУ 2.3.2.2789-10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов» и подтверждена биосовместимость штаммов как между собой, так и с производственными штаммами бифидобактерий. На основе этих штаммов был создан эндемичный пробиотик «LB-комплекс S». Разработаны алгоритмы включения его в качестве пробиотической составляющей в диетотерапию при комплексном лечении различных нозологических форм заболеваний в зависимости от фармакокинетики и фармакодинамики базовых препаратов и показана его высокая эффективность.

В.М. Лахтин, М.В. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин. Визуальная диагностика цитокиновых, ферментных и лектиновых систем на мембранах. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Лектины, распознающие гликоконъюгаты (ГК), белки, цитокины и ферменты представлены системами биомаркерного и медицинского значения. Они участвуют в сборочных процессах (каскадах), кофункционалируются. Системы ферментов, цитокинов и лектинов, обладающие флуоресценцией (Фл) или хемилюминесценцией (Хл), являются высокочувствительными.

Цель: обобщить диагностическую ценность наших исследований гормональных, ферментных и лектиновых систем на мембранах.

Использовали мембраны *Immobilon P* и *Durapore* (Millipore) для блотингов белковых и экзополимерных соединений (ЭПС) после их фракционирования и изоэлектрофоретического (ИЭФ) разделения. Проводили мембранный анализ Фл (внутренней и после окрашивания красителем SYPRO), а также анализ Хл после обработки мембраны мечеными пероксидазой антителами (АТ), биотин-стрептавидинового иммунного (АТ1—АТ2) сэндвича или ГК-сэндвича. Картины свечения анализировали в живом изображении в системе *BioChem System* (UVP, Calif.). Использовали синтетические полимерные ГК «Углевод—полиакриламид (РАА)» (www.lectinity.com), собственные препараты лектинов пробиотических бактерий (ЛПБ из лактобацилл и бифидобактерий: ЛЛ, ЛБ), рекомбинантный эритропоэтин (рЭПО: эритрогим и эпокрин [ЭПО-эр, ЭПО-эп]). Результаты. 1. *Гормональная система.* Негликозилированная *E. coli*-система ЭПО-эр лучше проявлялась иммунным сэндвичем к N-концевому фрагменту чЭПО; имела меньше (в сравнении с ЭПО-эп) ИЭФ-форм (блочно расположенных менее кислых в сравнении с эндогенным ЭПО [эЭПО] мочи). Гликозилированная *CHO*-система ЭПО-эп, связываясь с

иммунным сэндвичем, выявляла больше форм (в более протяженном блоке со смещением в сторону блока форм эЭПО). Дюрапоровая мембрана (в комбинации с иммобилином) служила идеальной репликой ИЭФ-разделенных «не окрашенных» систем для экспресс-контроля взятого в трек образца, примесей, физико-химической конверсии в моче. 1.1. ГК-связывание в сочетании с АТ-проявлением диагностировалось в системах рЭПО и эЭПО большее число изоэлектрофоретических форм с возрастанием асимметрии распределения интенсивностей форм (мозаичности сочетаний форм) в блоках. Препараты гормона диагностировались в виде ГК-тип-зависимых паттернов в главных двух блоках с рЭПО: с повышенной АТ-чувствительностью форм (слабее связывание Gal-РАА, некоторых других ГК) и сниженной АТ-чувствительностью (сильнее, разнообразнее дискретные мозаики ГК-связывания, появление агрегационных форм рЭПО сialoГК-связывания; наличие АТ-проявляемых агрегационных диффузных слаборазделяемых форм рЭПО). Среди выявляемых паттернов Map-РАА, GalNAc-РАА, LacNAc-РАА, альфа-L-Fuc-РАА и Gal-РАА достаточным было сравнение 2–3 типов ГК-паттернов для диагностики сходных по АТ-чувствительности типов рЭПО. 1.2. Диагностика гормона в моче. 1.2.1. Разработана *экспресс-дот-блотовая* визуальная диагностика рЭПО в концентрате мочи в процессе контролируемых последовательных рН7—рН4—рН3-термообработок блоты в ацетатном буфере с регистрацией Хл гормона, проявленного пероксидазным иммунным сэндвичем. 1.2.2. Разработана *диагностика гормона в течение 96 ч* после однократной инъекции рабочей дозы рЭПО пациенту (на блоте с разделенной системой рЭПО, проявленного в присутствии пероксидазы и субстрата). 1.2.3. Разработано диагностическое использование *ранней и пролонгированной ИЭФ-конверсии системы рЭПО* в направлении системы эЭПО, позволившее по изменению соотношений форм в области рЭПО или эЭПО судить о присутствии в организме рЭПО. 1.2.4. *Диагностика повышенного окислительного метаболизма* в моче с рЭПО и наличия наборов перекисных продуктов окисления (в случае блотов с разделенной системой рЭПО, проявленных хемиллюминесцентным субстратом и хранящихся в темноте при 5 °С несколько суток). Однократное нанесение на такой блот перекиси в рабочей концентрации индуцировало Хл протяженного блока форм с оксидазной активностью в треках. 2. *Лектиновые системы. Системы ЛПБ (ЛЛ и ЛБ)* характеризовались связыванием и распознаванием ГК муцинового типа, штамм/вид/род-зависимостью, консорциумной взаимодополняемостью (на примере Ацилакта и трех его ингредиентов штамма). У штамма выявлялись несколько ГК-тип-зависимых систем с мажорными и минорными ИЭФ-формами. В случае лактобацилл выявлялись штамм-зависимые системы оксидоредуктаз с рI 5.1-5.5 (по данным Хл), максимально прочно связанные с иммобилином. Метод позволял идентифицировать одновременно блок 4–5 форм оксидаз с рI 3–4 и лектиновую систему с рI 5.5-7 (на примере фитопрепарата). Диагностический потенциал – в применении методологии к любым грамположительным бактериям. 3. *Система протеиназ* лактобацилл штаммов Ацилакта выявлена по способности ферментов расщеплять альфа/бета-казеины, гликопротеины (регистрируется остаточная Фл этих белков в спектре ИЭФ-разделенных белковых наборов). Диагностический потенциал – в выявлении потенциальных сигнальных олигопептидаз ограниченного протеолиза гликопротеинов. 4. *Система деполимераз* бифидобактерий визуально (по данным Фл) деградировала мультисловесые ЭПС (в том числе биосурфактанты) в комплексах с катионными штамм/род-зависимыми белками. Перспектива – диагностика наличия, типов и статуса комплексов ЭПС–Белки грамположительных бактерий.

Описанные диагностические процедуры перспективны для визуальной клинической лабораторной диагностики (ко) функционирующих белковых систем, развития биочиповых мембранных технологий.

В.А. Чесноков¹, А.А. Стафеев¹, М.Г. Чеснокова¹, А.Ю. Миронов². Микробиота полости рта при ортопедической реабилитации пациентов съёмными пластиночными протезами. ¹ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава РФ, г.Омск, РФ; ²ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, РФ

Цель исследования – оценить качественный и количественный состав микробиоты слизистой оболочки полости рта и поверхности зубных протезов при ортопедической реабилитации съёмными пластиночными протезами.

В клинике ортопедической стоматологии проведено обследование 28 лиц возраста от 45–65 лет (мужчин и женщин поровну), проживающих в г. Омске, без выраженной соматической патологии, которым были изготовлены съёмные акриловые протезы. Обследованным проводили оценку микробиоценоза полости рта до протезирования и после сдачи акриловых протезов в течение 1 мес (период адаптации). Для микологического исследования проводили забор биоматериала при помощи стерильного тупфера с поверхности съёмных пластиночных зубных протезов, а также со слизистой оболочки полости рта. Количественное содержание микробиоты выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (lg КОЕ/мл). Дрожжеподобные грибы рода *Candida* выделяли на среде Сабуро, для селективной изоляции *Candida* использовали среду CandiSelect 4 (BioRad, Франция). Биометрический анализ проводили с использованием пакетов Statistica-6.0, БИОСТАТИСТИКА, возможностей программы Microsoft Excel.

Микологический посев биоматериала пациентов со среды Сабуро позволил выделить дрожжеподобные грибы вида *Candida albicans* (*C. albicans*). Со слизистой оболочки полости рта пациентов до протезирования высевали *C. albicans* в низкой концентрации, составившей $0,33 \pm 0,23$ КОЕ/мл в сравнении с количественным содержанием после протезирования ($1,92 \pm 0,53$ КОЕ/мл, $T=2,50$, $Z=2,37$, $p=0,018$). Наиболее высокое содержание *C. albicans* отмечали в биоматериале с поверхности протезов, полученном от пациентов со съёмными акриловыми протезами ($3,17 \pm 0,73$ КОЕ/мл), в сравнении с биотопом слизистой оболочки полости рта ($1,92 \pm 0,53$ КОЕ/мл), $T=9,50$, $Z=2,089$, $p=0,037$. Следует отметить, что концентрация микробиоты биотопа поверхности протезов значительно превышала ее выявление на слизистой оболочке полости рта пациентов до протезирования ($T=2,00$, $Z=2,90$, $p=0,004$). Наиболее высокая концентрация *C. albicans* установлена при колонизации съёмных протезов, что определенным образом может оказывать деструктивное влияние на протезный материал. Таким образом, проведенный микологический анализ биоматериала у лиц со съёмными акриловыми протезами показал выявление микробиоты (*Candida albicans*) со слизистой полости рта у пациентов обеих групп, также с поверхности съёмных протезов. Наиболее высокая концентрация *C. albicans* установлена при колонизации съёмных акриловых протезов. Полученные результаты согласуются с литературными данными авторов, свидетельствующими о биодеструкции акриловых конструкционных материалов при колонизации *Candida albicans*. Результаты проведенных микологических исследований свидетельствуют о выраженной колонизации протезов микробиотой, что может оказывать неблагоприятное воздействие на состояние полости рта. С целью профилактики негативных биодеструктивных изменений конструкционных материалов съёмных акриловых протезов можно рекомендовать пациентам комплекс мероприятий, включающий применение бактерицидных растворов для хранения и обработки протезов ультразвуком.

Н.П. Сетко, Е.А. Михайлова, А.Ю. Миронов, О.О. Жеребятъева, О.Д. Константинова, Г.О. Махалова. Этиологическая роль нормальной микрофлоры урогенитального тракта в развитии репродуктивно значимых инфекций. ГБОУ ВПО Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург

Длительно текущие, рецидивирующие урогенитальные

заболевания приводят к нарушению сексуальной и репродуктивной функций, снижению качества жизни, бесплодным бракам. Наряду с возбудителями венерических инфекций представители нормальной микрофлоры тоже могут выступать в качестве этиологических агентов формирования воспаления, осложненного бесплодием. Важно выявить возможных возбудителей репродуктивно-значимых инфекций, установить факторы их патогенности для рациональной терапии.

Цель: выявить роль коагулазоотрицательных стафилококков и грибов рода *Candida* в развитии воспалительных процессов гениталий.

Были обследованы 67 женщин с неспецифическими воспалениями гениталий (вульвовагиниты, цервициты, аднекситы), обратившихся в женскую консультацию. Диагноз устанавливался акушером-гинекологом на основе клинических, физикальных и лабораторных данных. До начала антибактериальной терапии проводилось бактериологическое исследование цервикального отделяемого. Для оценки этиологической значимости изолированных штаммов условно-патогенных бактерий определяли показатель микробной обсемененности (ПМО, КОЕ/мл), уровень персистентного фактора – антилизозимной активности (АЛА, мкг/мл). Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми методами на основании морфологических, тинкториальных, культуральных свойств, биохимический профиль оценивали с помощью тест-систем фирмы LACHEMA (Чехия). Способность штаммов деградировать лизоцим оценивали чашечным методом.

Результаты показали, что в спектре выделяемых из проб аэробных микроорганизмов присутствовали грампозитивные и грамотрицательные таксоны – энтеробактерии (в том числе клебсиеллы и эшерихии), энтерококки, коринебактерии, стафилококки (коагулазоотрицательные и коагулоположительные), а также грибы рода *Candida* и рода *Rhodotorula*.

Частота высеваемости коагулазоотрицательных стафилококков (в основном *S. epidermidis*) составила 89,5%, причем в 81,6% случаев ПМО изолятов достигал 10^5 КОЕ/мл. Коагулоположительные кокки – *S. aureus* – высеивались у 7% женщин. Все выделенные штаммы эпидермальных стафилококков обладали АЛА, уровень которой у 76,5% штаммов превышал 6 мкг/мл. Дрожжевые грибы рода *Candida* изолировались из цервикального отделяемого 44,8% женщин. Одновременно эти таксоны – *S. epidermidis* и грибы рода *Candida* – обнаруживались у 20,9% обследуемых. Количественное содержание грибковой флоры не превышало 10^3 КОЕ/мл, однако у всех штаммов обнаружилась способность к деградации лизоцима, уровень которой был не менее 2 мкг/мл. Другие выявленные в данном исследовании таксоны микроорганизмов не имели этиологически значимых признаков.

Высокий уровень ПМО и АЛА для *S. epidermidis* и грибов рода *Candida* свидетельствует в пользу важной роли эпидермального стафилококка и дрожжевых грибов в развитии урогенитальных инфекций. Многочисленное представительство в биотопе урогенитального тракта этих таксонов, способных к синергидному истощению лизоцима, может снижать мукозальную резистентность и поддерживать воспаление, приводящее к бесплодию.

С.Б. Киргизова, А.Ю. Миронов, Е.А. Михайлова, С.К. Киняшева, Г.О. Махалова. Диагностика и профилактика стафилококкового носительства среди студентов медицинского вуза. ГБОУ ВПО Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург

В настоящее время *Staphylococcus aureus* является одним из ведущих этиологических факторов гнойно-воспалительных инфекций в больничных стационарах. Особую опасность в эпидемическом плане представляют носители *S. aureus* резидентного типа, т.к. именно они в большом количестве выделяются во внешнюю среду патогенные стафилококки.

Цель – выявление и санация назального носительства *S. aureus* у студентов медицинского вуза, контактирующих с больными во время практики в лечебном стационаре.

Проведено бактериологическое обследование на назальное стафилококковое носительство 59 студентов 3 курса Оренбургского государственного медицинского университета. Дифференциацию типа носительства осуществляли по методике Чистовича Г.Н. (1969). Для санации, согласно известному способу (Бухарин О.В. и др., 2013), использовали препарат эндогенного индуктора интерферона «Циклоферон».

Среди обследуемого контингента выявлено 16 (27,1%) резидентных бактерионосителей. Транзиторный тип носительства *S. aureus* зарегистрирован у 22 лиц (37,3%), а у 11 (35,6%) человек *S. aureus* не высеивался, и микробный пейзаж слизистых носа был представлен только условно-патогенными стафилококками (*S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. warneri* и др.). Студентам, у которых был определен резидентный тип назального носительства *S. aureus*, провели санацию передних отделов носа препаратом «Циклоферон». По окончании санации *S. aureus* был изолирован только у 6 из 16 saniруемых лиц (в 37,5% случаев), при этом у 4-х из обследуемых выделили смешанную культуру золотистого и коагулазоотрицательных стафилококков (*S. epidermidis*, *S. hominis*), а тип носительства золотистых стафилококков изменился с резидентного на транзиторный. У 10 saniруемых произошла полная элиминация *S. aureus* и нормализация микробиоценоза слизистых оболочек носа. Изучение пролонгированного действия санации показало, что и через несколько месяцев saniрующей эффект сохранился, а за счет смены резидентного на транзиторный тип носительства и последующей элиминации *S. aureus* из организма saniруемых лиц в целом составил 87,5%.

Проведение диагностики и санирования стафилококкового бактерионосительства среди студентов-медиков перед началом учебной практики целесообразно с целью предотвращения экзогенного распространения стафилококковых инфекций в лечебно-профилактических стационарах.

А.Н. Коломеец¹, Н.А. Околелова¹, Н.В. Рудаков^{1,2}, И.Е. Самойленко¹, С.А. Рудакова^{1,2}, О.А. Боброва¹, Г.В. Березкина¹.

Выявление риккетсий в снятых с пациентов иксодовых клещах в Омской области. ¹ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора; ²ГБОУ ВПО Омский государственный медицинский университет Минздрава России

Случаи клещевых риккетсиозов (КР) в Сибири и на Дальнем Востоке связаны с *R. sibirica subsp. sibirica* (сибирский клещевой тиф – СКТ) и *R. heilonjiangensis*, астраханской пятнистой лихорадки (АПЛ) в Астраханской области – с *Rickettsia conorii subsp. caspiensis*. В иксодовых клещах в России выявлены еще четыре вида патогенных риккетсий – *R. aeschlimannii*, *R. helvetica*, *R. slovacica*, *R. raoultii*. В условиях сочетанных очагов передаваемых клещами инфекций нами разработан двухэтапный алгоритм лабораторной диагностики, включающий экспресс-исследование (ПЦР, ИФА на антиген) снятых переносчиков или крови пациента (если клеща нет), при заболевании – серологическое и молекулярно-биологическое исследование биоматериалов. Для выявления риккетсий используют ПЦР с праймерами к фрагментам генов поверхностного белка *ompA* и цитратсинтазы (*gltA*) с определением нуклеотидных последовательностей ампликона. Имеются единичные данные о выявлении патогенных риккетсий в материале от пациентов с использованием молекулярно-биологических методов в России, а все выделенные штаммы риккетсий от больных относятся к *R. sibirica*. При этом данные по снятым переносчикам отсутствуют. Целью работы являлось выявление риккетсий в снятых с людей переносчиках в Омской области.

Исследованы 136 экземпляров клещей (44 – *I. persulcatus* и 92 – *Dermacentor sp.*), снятых с людей в Омской области. ПЦР осуществляли с использованием набора реагентов «Ампли-Сенс® PCR» (ЦНИИЭ, г. Москва) с праймерами на фрагмент гена *gltA* Cs409 и Rp1258 или Rp877 и Rp1258 производства «Химэксперт» (г. Москва). 11 образцов исследованы также с праймерами Rr 190.70, Rr 190.701 и Rr 190.180 (производи-

тель тот же) на наличие фрагмента гена *ompA*. Секвенсовую реакцию проводили с использованием набора ABI PRISM® BigDye® Terminator v.1.1 Kit (Life Technologies, США). Секвенирование очищенных фрагментов проводилось на генетическом анализаторе AB 3500xL (Life Technologies, США).

В семи образцах определена по обоим генам *R. raoultii*, в двух – *Candidatus R. tarasevichiae*, в одном – *R. slovaca* (по фрагменту *ompA*). Таким образом, впервые показано наличие в снятых с пациентов переносчиках на территории, неэндемичной по СКТ, трех различных видов риккетсий. Впервые в Западной Сибири выявлена *R. slovaca*.

М.Ю. Севастьянова, А.Б. Чухловин, Л.А. Корноухова, Ю.В. Эмануэль, С.Б. Ланда, В.Л. Эмануэль. ДНК-диагностика уреазопозитивных микробов в метафилактике уролитиаза. ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (ПСПбГМУ)» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Цель – изучить связь инфицирования уреазопозитивными микроорганизмами мочевого тракта с патогенетическими звеньями уролитиаза.

Изучена эпидемиология 2 маркерных видов бактерий у 68 больных с мочекаменной болезнью (МКБ). Группа сравнения из 77 человек без уролитиаза была сопоставима по возрасту и гендерному составу. ДНК из мочи выделяли сорбентным методом. Генодиагностика микроорганизмов проводилась с помощью ПЦР ДНК, детекцию участков генов уреазы и *hsp65* бактерий *Proteus mirabilis* и *Corynebacterium urealyticum* осуществляли методом геноспецифической ПЦР. Биофизические характеристики белка Тамма-Хорсфалла мочи, исследованные методом динамического светорассеивания (лазерная корреляционная спектроскопия), позволяют оценивать размеры частиц (гидродинамический радиус, нм).

Патологическое кристаллообразование по интегральным биофизическим тестам (верификация криогеля мочи, диагностикум Литос-системой) достоверно верифицировало группу больных с МКБ от контрольной группы ($p < 0,001$). ПЦР-позитивность мочевых осадков по *P. mirabilis* и *C. urealyticum* у больных МКБ коррелировала между собой ($p < 0,01$). Частота встречаемости *P. mirabilis* у больных МКБ была существенно повышена по сравнению с группой контроля (21 и 2% соответственно, $p = 0,003$). Выявляемость *C. urealyticum* была также существенно повышена у больных (особенно старших возрастов) по сравнению с группой контроля (44 и 2% соответственно, $p < 0,001$). Показано, что уреазная активность изучаемой микробной ассоциации увеличивает ионную силу коллоидной среды, которой является моча за счет присутствия белка Тамма-Хорсфалла, путем появления ионов аммония с неизбежным анионным сопровождением. Соответственно увеличивается осмотическая концентрация мочи и реализуется сдвиг pH с учетом нарастания концентрации щелочного йона аммония. В совокупности такие воздействия на белок Тамма-Хорсфалла приводят к его переходу из олигомерного состояния с молекулярной массой 7 млн D в полимерную форму 28 млн D, что обуславливает агрегацию кристаллов, в том числе оксалатов кальция с формированием смешанных по минеральному составу конкрементов. Иначе говоря, уреазопозитивные микроорганизмы играют роль в активации кристаллообразования, и, таким образом, антибактериальная терапия должна рассматриваться как этиопатогенетическое воздействие, направленное на метафилактику уролитиаза среди лиц, обладающих белком Тамма-Хорсфалла с постгеномными модификациями, обуславливающие полимеризацию молекул даже при значениях ионной силы и pH мочи, при которых у здоровых лиц полимеризация не наблюдается.

Таким образом, геноспецифический ПЦР-метод выявления инфицирования мочевых путей уреазопозитивными микроорганизмами в сочетании с верификацией биофизических характеристик белка Тамма-Хорсфалла является новым важным элементом этиопатогенетической диагностики и метафилактики уролитиаза.

В.В. Шкарин, Н.В. Саперкин, А.В. Сергеева. Инфекционные болезни. История трагедий и побед. ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород

В монографии «Инфекция. История трагедий и побед» представлены исторические и библиографические данные влияния инфекционных болезней на социальные процессы в человеческом обществе. Дана информация не только о жизнедеятельности великих людей, но и акцентируется внимание на обстоятельствах заражения, течения различных инфекций, а также рассматривается влияние болезни на их творческую деятельность.

История инфекций – это не только история трагедий. Это еще и история побед, за которой стоят мужество, борьба, самопожертвование ученых, медиков, отдельных людей, внесших большой вклад в борьбу с инфекционными болезнями. И этот личный вклад становится успехом общества, успехом отечества, успехом всего человечества.

Книга «Инфекция. История трагедий и побед», несомненно, представляет большой интерес для широкого круга читателей профессиональных сообществ и для лиц, интересующихся историей инфекционных болезней. Книга имеет ярко выраженную просветительскую направленность и несёт многообразие аспектов знаний в истории изучения и борьбе с инфекционными болезнями – истории яркой, трагической и героической, истории поражений и побед, истории, которая определила настоящее и устремлена в будущее.

Д.Д. Меньшиков, А.В. Семенова. Данные компьютерного мониторинга инфекций в лабораторной и клинико-диагностической информации. ГБУЗ г. Москвы НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Гнойно-воспалительные процессы (ГВП), в том числе внутрибольничные, занимают одно из ведущих мест в патологии человека. Количество пациентов с ГВП в последние годы не уменьшается. В развитых странах эту проблему рассматривают как угрозу национальной безопасности.

Сформировалось единое мнение о существенных различиях ведущей этиологической роли тех или иных микроорганизмов в возникновении ГВП в разных странах, регионах, стационарах и даже их отделениях и палатах. Отличается и распространенность устойчивых к антибиотикам штаммов возбудителей.

Мониторинг возбудителей ГВП, рекомендованный ВОЗ и нормативными документами РФ, как одно из направлений контроля инфекций сотрудники института проводят в течение многих лет, а с конца 70-х г. XX в. используют для общения и анализа микробиологических данных компьютерные программы.

Установлены различия этиологической роли микроорганизмов и распространенности биоваров, устойчивых к антибиотикам, в разных подразделениях стационара. Кроме того, этиологическая значимость возбудителей ГВП в разные периоды (годы, месяцы) существенно колебалась. Так, например, количество больных с вызванными *Staphylococcus aureus* гнойными инфекциями колебалось от 39 до 20% при тенденции к уменьшению, а протекающих с участием *Pseudomonas aeruginosa* возрастало с 10% в 1995 г. до 22% в 2014 г. От 21 до 56% колебалась частота выявления смешанных инфекций.

Результаты компьютерного мониторинга микроорганизмов использовали при коллегиальной разработке, применении и оценке эффективности специфических иммунных препаратов (гипериммунных плазм, вакцин), планировании закупок антибиотиков. Ежемесячно проводили выявление вариантов возбудителей инфекций одной таксономической принадлежности и идентичных по фенотипам устойчивости к антибиотикам. Коллегиально с клиницистами, эпидемиологами и врачом – клиническим фармакологом оценивали наличие эпидемических вспышек, случаев групповых и парных заболеваний.

Оперативный противоэпидемический контроль, в том

числе санитарно-микробиологические исследования, выполняли с учетом данных об этиологической значимости возбудителей ГВП в подразделениях института.

Использовали наиболее эффективные методики микробиологической диагностики. При этом решали задачи не только быстрого назначения больным оптимальной антимикробной терапии, но и оценки эпидемиологической ситуации.

Для повышения достоверности результатов анализов, обнаружения госпитальных штаммов микроорганизмов в больничной среде в настоящее время широко используется геномная диагностика (ПЦР) и другие молекулярные методы в комплексе с классической культуральной микробиологической диагностикой.

Стремительное развитие информационных технологий

дает возможность разработки компьютерных программ, позволяющих объединить усилия сотрудников лабораторий и клиницистов, в частности для выявления взаимосвязи распространенности возбудителей ГВП, их биологических свойств, использования антибиотиков и дезинфицирующих препаратов и выявления корреляционных связей этих данных со статистическими показателями работы стационара, характеризующими качество лечения больных. Для разработки алгоритма управления лечебным процессом в стационаре необходимо выявление наиболее достоверных критериев для создания компьютерной программы оценки эффективности проведения противоэпидемических и других организационных мероприятий в режиме on-line с быстрой оценкой результативности проведенной работы с позиций системы «мероприятие-эффект».

СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ НА СЛУЖБЕ КЛИНИКИ

Катя Ватерстрадт, Керстин Шнурр. Анализ функциональных характеристик сывороточного альбумина. MedInnovation GmbH, Грос-Берлинер Дамм 151, 12487 Берлин / Германия

Анализ функциональности альбумина крови является простым в применении тестом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) для определения функциональных свойств сывороточного альбумина как транспортного белка. Патологические изменения в организме могут влиять на функциональные свойства сывороточного альбумина человека (САЧ). Независимые модули ЭПР-теста позволяют проводить диагностику различных заболеваний, таких как онкология, заболевания печени и почек, сепсис. Анализ функциональности альбумина основывается на определении специфических конформационных изменений молекулы альбумина. Такие измерения детектируются посредством способности САЧ связывать жирные кислоты. САЧ транспортирует гидрофобные вещества, такие как жирные кислоты, витамины и микроэлементы, а также метаболиты и лекарственные препараты. Метод ЭПР дает возможность измерять соответствующие специфические аллостерические изменения САЧ посредством связывания спин меченных жирных кислот с исследуемым объектом. Таким образом, оценка биофизических параметров связывания жирных кислот по ЭПР-спектрам позволяет зафиксировать конформационное состояние исследуемого САЧ. Также по спектрам ЭПР возможно произвести комплексную оценку конформационного и функционального состояния САЧ, в том числе определить эффективность детоксикации (DTE) и реальное качество транспортных свойств (RTQ) транспортных белков.

Альбумин обладает высокой конформационной подвижностью, что является основой разнообразия его биологических функций. В последние годы интенсивно исследуются низкомолекулярные соединения – биомаркеры, связывающиеся с транспортными протеинами, как вещества, имеющие высокий потенциал для раннего выявления патологий [Kawashima et al., JProteomeRes, 2010; Lowenthal et al., ClinChem, 2005; Metha et al., DisMarkers, 2003]. В патологических условиях наблюдаются модификации конформационной подвижности альбумина, индуцирующие изменения транспортных и детоксификационных характеристик САЧ. Эти параметры характеризуют как свойства альбумина пациентов при различных патологиях, так и параметры растворов коммерческих альбуминов.

В клинических исследованиях ЭПР-тест САЧ продемонстрировал как высокую чувствительность при различных локализациях очагов злокачественной пролиферации (около 90%), так и специфичность (90%) [Seidel et al., Z. Med. Phys., 2005; Kazmierczak et al., Clin. Chem., 2006; Gurachevsky et al.,

Clin. Chem. Lab. Med., 2008; Gelos et al., Int. J. Colorectal. Dis., 2010; Moergel et al., Clin. Oral. Investig., 2012]. Также данный тест демонстрирует преимущество (91% эффективности) по сравнению с маркерами СЕА (45%) и СА19-9 (28%) в случаях диагностики колоректального рака. В случае дифференциации аденомы и дивертикулита ЭПР-тест САЧ и конвенциональные опухолевые маркеры сравнимы по их специфичности (около 90%) [Gelos et al., Int. J. Colorectal. Dis., 2010].

В исследованиях патологий печени ЭПР-тест САЧ демонстрирует значимое снижение показателя DTE по сравнению с контрольной группой. У больных с печеночной недостаточностью (ACLF) этот параметр фиксирует дальнейшее снижение по сравнению с пациентами с циррозом печени [Jalan et al., Hepatology, 2009].

Высокий диагностический потенциал ЭПР-теста был продемонстрирован в исследованиях по диагностике сепсиса/синдрома системной воспалительной реакции. Результаты клинического исследования на базе отделений интенсивной терапии указывают на статистически значимое различие показателя DTE при развитии септических осложнений и случаев ССВР. Динамика DTE соответствовала реальной клинической картине.

ЭПР-тест САЧ может рассматриваться как значимый тест при диагностике онкологических заболеваний и мониторинге противоопухолевой терапии, в том числе для контроля рецидивов; а также при прогнозе развития ССВР, сепсиса, острых заболеваний печени, для исследования эффективности систем искусственной печени и диализа и для контроля качества промышленных альбуминов.

А.С. Ильичева¹, М.А. Фомина², А.А. Егоров¹. Окислительная модификация белков крови у больных с гипергомоцистеинемией. ¹ГБУЗ МО «Коломенская центральная районная больница», Московская область; ²ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава РФ

Целью работы являлось изучение продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) в крови больных с атеросклеротическим поражением артериального русла и повышенным уровнем гомоцистеина. В странах Европы и США гипергомоцистеинемия обнаруживается у 2–10% населения, в РФ повышенный уровень гомоцистеина определяется у 10–50% здорового населения. Концентрация гомоцистеина в крови, по разным источникам, колеблется от 5 до 11 мкмоль/л; при концентрациях от 15 мкмоль/л и выше уже говорят о гипергомоцистеинемии. Из-за наличия SH-группы гомоцистеин обладает прооксидантными свойствами; при высоких концентрациях окисляется с образованием свободных радикалов. В аэробных организмах имеется система защиты, поддерживающая равновесие между продукцией свободных