

ЗАЛ «МЕЧНИКОВ»

ЭТИОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(Этиология, ранняя диагностика и лабораторный контроль инфекционных заболеваний; антибиотикорезистентность и возможности ее выявления; вирусологическая диагностика: современность и новые возможности; диагностика паразитарных заболеваний: проблемы, реалии, перспективы; клиническая микология; диагностика инфекций, передающихся половым путем)

Г.И. Алаторцева, Л.Н. Лухверчик, М.Н. Носик, Л.Н. Нестеренко, И.И. Амиантова, М.В. Жукина, В.В. Доценко, В.В. Зверев. Изучение вируснейтрализующей активности антител к рекомбинантным аналогам регуляторных белков ВИЧ-1 в зараженной культуре клеток. ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

Исследовано взаимодействие IgG-антител, выделенных из сывороток крови кроликов, иммунизированных рекомбинантными полипептидами, содержащими слитные с β -галактозидазой *E. coli* фрагменты белков VIF (*Met1 – His200*) и NEF ($K_4 – P_{122}$) ВИЧ-1 с инфицированной культурой клеток MT-4. Специфичность взаимодействия антител с гомологичными рекомбинантными антигенами была предварительно подтверждена методами иммуноферментного анализа (ИФА) и иммуноблоттинга (ИБ). В реакции нейтрализации на инфицированной культуре клеток показана нейтрализующая активность антител к рекомбинантным антигенам VIF и NEF в разведениях от 1:10 до 1:160 со степенью защиты до 100%. При разведениях антител от 1:640 до 1:1280 отмечалось снижение защитного эффекта, проявляющееся в виде характерных цитодеструктивных изменений и образовании синцитиев, что свидетельствовало об активной репликации вируса. Антитела к рекомбинантным антигенам VIF, NEF и β -галактозидазе *E. coli* в разведении 1:10 не обладали токсичностью по отношению к неинфицированной культуре клеток. Антитела к β -галактозидазе *E. coli* не оказывали подавляющего действия на репликацию вируса и не взаимодействовали с рекомбинантными полипептидами в ИФА и ИБ. Взаимодействие антител к рекомбинантным белкам VIF и NEF с вирусным антигеном исследовали также с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции с использованием набора моноклональных антител к антигенам ВИЧ-1. В присутствии антител к рекомбинантному белку VIF в разведении 1:1280 и к белку NEF – в разведении 1:640 наличие клеток, экспрессирующих вирусный антиген, обнаруживалось в виде специфического свечения, что подтверждало репликацию вируса. При разведении антител к белку VIF, равному 1:320, к белку NEF – 1:160, уровень свечения был близок к наблюдаемому в неинфицированной культуре клеток, что соответствовало подавлению экспрессии вирусных антигенов.

Таким образом, с помощью вирусологических методов показана вируснейтрализующая активность антител, полученных к рекомбинантным антигенам VIF и NEF. Специфичность взаимодействия полученных антител с клетками инфицированной культуры подчеркивает подобие эпитопов исследуемых рекомбинантных антигенов и природных белков. Подавление цитопатического действия вируса и экспрессии вирусных антигенов в присутствии антител к рекомбинантным антигенам позволяет также предположить, что в составе исследуемых рекомбинантных антигенов воспроизведены консервативные домены, ответственные за участие белков VIF и NEF в жизненном цикле вируса. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения использованной модели для исследования нейтрализующей активности антител к индивидуальному белку ВИЧ при изучении патогенеза ВИЧ-инфекции и разработке подходов

к созданию эффективных средств профилактики и лечения, поскольку существуют данные о влиянии уровня нейтрализующих антител на развитие и исход ВИЧ-инфекции и о возможности терапевтического применения комбинаций вируснейтрализующих антител. Так как полипептиды, содержащие антигенные детерминанты белков VIF и NEF, являются компонентами некоторых разрабатываемых вакцин против ВИЧ-инфекции, определение специфических антител к ним может найти применение не только для диагностики и оценки иммунного статуса, но и для изучения эффективности вакцинации.

Е.В. Алиева¹, Ю.В. Первушин¹, Е.А. Боровкова². Особенности микробного пейзажа у лиц пожилого возраста. ¹ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь; ²ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница», Кисловодск

Микробиота – устойчивое сообщество микроорганизмов, обитающее в отдельном участке организма-хозяина. Основными представителями микробиоты организма человека являются: грамположительные облигатно-анаэробные бактерии, такие как, бифидобактерии, лактобактерии, эубактерии, пептастрептококки, клостридии. Грамотрицательные облигатно-анаэробные бактерии, такие как бактероиды, фузобактерии, вейлонеллы. Факультативно-аэробные микроорганизмы: эшерихии, стафилококки, стрептококки, бациллы, дрожжеподобные грибы. Следует отметить, что с возрастом в толстом кишечнике увеличивается количество клостридий и энтеробактерий. Энтеробактерии могут способствовать продукции токсинов и канцерогенов в процессе анаэробного обмена белка. У пожилых лиц определяется также увеличение количества фузобактерий и эубактерий в фекалиях. Фузобактерии участвуют в разложении аминокислот и способствуют образованию амиака и индолов, тогда как эубактерии, метаболизируя желчные кислоты, также способствуют образованию токсических продуктов. При помощи микробиологического метода было показано, что у здоровых пожилых лиц незначительно уменьшается количество *Bacteroides* по сравнению со здоровыми молодыми людьми. У пожилых лиц уменьшается также количество видов рода *Bacteroides*. Эти бактерии отвечают за утилизацию углерода и переваривание полисахаридов в толстой кишке, изменения на уровне видов популяции *Bacteroides* могут нарушать метаболический профиль микрофлоры.

Причины нарушения микробиоценоза у лиц пожилого возраста:

1. Уменьшение желудочного кислотообразования;
2. Нарушение продукции и выделения желчи панкреатическими и кишечными ферментами;
3. Нарушение периодичности моторной деятельности пищеварительного канала;
4. Изменения в режиме двигательной активности, питания, в составе употребляемой пищи;
5. Наличие сопутствующих заболеваний, в частности сахарного диабета, медикаментозное лечение сопутствующих заболеваний (прием нестероидных противовоспалительных препаратов и др.).

Особенности клинических проявлений нарушения микробиоценоза у пожилых людей: ведущим клиническим симптомом у данной категории больных оказываются запоры, беспокоящие 77,5% пациентов. Это более чем в 3 раза превышает число больных, предъявляющих жалобы на диарею. Такое выраженное статистически достоверное доминирование позволяет выделить запоры в качестве основного, а нередко и единственного, клинического проявления дисбактериоза кишечника у больных старших возрастных групп.

Последствия изменения микробиоценоза у пожилых людей:

1. Снижение защитных функции микрофлоры способствует развитию злокачественных новообразований;

2. Снижение способности кишечной микрофлоры перерабатывать холестерин;

3. Ускорение процессов старения организма вследствие дефицита витаминов, микроэлементов и нарушения аминокислотного обмена;

4. Интоксикация организма вследствие нарастания бродильных и гнилостных процессов, что неизбежно ведет к сокращению периода активного долголетия и обострению хронических заболеваний;

5. Снижение количества лактобактерий повышает риск образования камней в почках.

Е.В. Алиева¹, Т.В. Фролова², Е.А. Боровкова², И.Ф. Мазко³.

Случай листериоза новорожденного. ¹ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь; ²ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница», Кисловодск; ³ГБУЗ СК Родильный дом г. Кисловодска

Целью настоящей работы является констатация рисков заражения листериозом и гибели новорожденного, вследствие объективных и субъективных обстоятельств осложненного акушерско-гинекологического анамнеза его беременной матери; возможность достоверной лабораторной диагностики листериоза из секционного материала новорожденного с применением классического бактериологического метода исследования. В марте 2015 г. в бактериологическую лабораторию городской больницы г. Кисловодска был доставлен секционный материал (легкое) умершего новорожденного ребенка от матери Х. Клинический диагноз основной: врожденная двухсторонняя пневмония, тяжелая форма, неуточненной этиологии. Диагноз не уточнен из-за непродолжительности жизни младенца и кратковременности пребывания в отделении. Экстренное кесарево сечение. Околоплодные воды – мекональные, зловонные. После рождения состояния ребенка крайне тяжелое. Продолжительность жизни составила 19 часов 42 минуты. Исследование доставленного в лабораторию секционного материала проводили классическим бактериологическим методом в соответствии с нормативно-методическими документами. Посев производили на кровяной агар, агар Эндо, желточно-солевой агар (ЖСА). При микроскопии мазка – отпечатка легкого в поле зрения были обнаружены в небольшом количестве мелкие палочки? кокки? Через сутки инкубации при температуре 37°C на кровяном агаре получен обильный рост мелких колоний, диаметром около 1 мм, гладких, выпуклых, прозрачных, бесцветных, окруженных зоной β-гемолиза. В мазке культур от колоний грамположительные кокки? коккоподобные палочки размером 0,5×0,7 мкм. На ЖСА, агаре Эндо рост выделяемой культуры отсутствовал. Тест Грегерсена с 3% КОН – отрицательный. Для дифференциальной диагностики со стрептококками, энтерококками, стафилококками, коринебактериями поставлены соответствующие тесты (пересев на питательный агар, на бульон Хоттингера с глюкозой, энтерококк-агар). Первичные посевы инкубировали в термостате двое суток. Через 48 часов, с учетом поставленных тестов (рост на питательном агаре, отсутствие роста на ЖСА, энтерококк-агаре, положительный

тест на каталазу с 10% H₂O₂, отрицательный тест Грегерсена, отсутствие цитохромоксидазы, гемолитическая активность на 5% кровяном агаре) предположили наличие листерий в образце секционного материала. Дальнейший ход исследования был направлен на подтверждение этого предположения. Исследовали подвижность культуры при 22°C (подвижна) и 37°C (неподвижна), характер роста на бульоне Хоттингера с глюкозой (равномерное помутнение с образованием плотного трудно диспергируемого придонного осадка). На питательном агаре для культивирования и выявления листерий (ПАЛ) выявлена утилизация эскулина с образованием эскулетина. Основным тестом, позволившим достоверно идентифицировать выделенную культуру бактерий до вида, явился признак лецитиназной активности. Для этого использовали среду № 1 ГРМ производства «ФБУН ГНЦ ПМБ», (Оболонск, Россия), на основе эмульсии яичного желтка с внесением 0,5% активированного угля и без такового. Через сутки и, более выражено через двое, на среде с углем бактериальная культура проявила лецитиназную активность в виде зоны помутнения шириной около 3–4 мм. На среде без активированного угля лецитиназная активность не проявилась. На основании результатов микроскопии, подвижности при 22° С, характера роста в бульоне Хоттингера с глюкозой, отсутствия роста на ЖСА и энтерококк – агаре, наличия роста на питательном агаре, проявления гемолитической и лецитиназной активности, биохимических свойств через шесть суток от момента начала исследования был выдан окончательный ответ о выделении из секционного материала новорожденного чистой культуры бактерий вида *Listeria monocytogenes*.

Н.А. Алхутова, Н.А. Ковязина. **Валидация определения липополисахарид-связывающего белка для диагностики сепсиса у пациентов реанимационного отделения многопрофильного стационара.** Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.Н. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург

Механизмы развития сепсиса до конца не изучены, но известно, что в них вовлечены многочисленные медиаторы воспаления, многие из которых сегодня рассцениваются в качестве биологических маркеров сепсиса. Относительно новым биомаркером сепсиса является липополисахарид-связывающий белок (LBP). Однако на сегодняшний день в литературе представлено ограниченное количество исследований о клинической значимости липополисахарид-связывающего белка.

Липополисахарид-связывающий белок (LBP) – гликопротеин, синтезируется главным образом в печени и играет важную роль в презентации бактериального антигена. Содержание LBP в сыворотке крови в норме составляет 3–10 мкг/мл, пиковые концентрации обнаруживаются через 6–12 ч, а период полужизни составляет 12–24 ч. LBP способен распознавать молекулярные структуры грамотрицательных, грамположительных микроорганизмов и возбудителей грибковых инфекций. О значимости LBP для диагностики сепсиса существуют противоречивые мнения. Так, некоторые авторы полагают, что LBP целесообразно включать в диагностический алгоритм, так как определение его концентрации в сыворотке крови может восполнить диагностическое окно, в период от снижения концентрации ИЛ-6 до начала увеличения содержания прокальцитонина (PCT). Продемонстрировано, что LBP является лучшим маркером сепсиса [Gaini S. et al., 2006] и более точно определяет прогноз тяжелой инфекции, чем прокальцитонин [Mierzchala M. et al., 2011]. Показано, что уровень LBP быстро возрастает при наличии инфекции, что не исключает перспективность использования этого белка для количественной оценки эндотоксемии и в качестве маркера развивающегося или скрытого текущего послеоперационного инфекционного осложнения у кардио-

хирургических больных [Yaroustovsky M. et al., 2013]. Существует мнение, что серийные измерения на LBP наиболее точно прогнозируют исход сепсиса по сравнению с показателями по АРАСНЕ II, интерлейкином-6, С-реактивным белком и способствуют своевременному и адекватному выбору терапии [Villar J. et al., 2009]. Однако имеются данные о том, что LBP не проявляет себя как более точный диагностический маркер в дифференциации сепсиса от синдрома системного воспалительного ответа неинфекционной природы и как прогностический маркер сепсиса по сравнению с PCT [Meunier I.A. et al., 2011].

В исследование были включены 14 пациентов с сепсисом, с тяжелой соматической патологией и полиорганной недостаточностью, наблюдавшиеся в реанимационных отделениях ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России в течение 2015 года. Определение LBP проводили в сыворотке крови иммунохемилюминесцентным методом на автоматическом анализаторе Immulite 2000Хpi с помощью коммерческого набора реагентов LBP(IMMULITE 2000) в соответствии с рекомендациями производителя.

Настоящее исследование позволило выявить только некоторые тенденции изменения LBP при ведении больных с сепсисом, но получить однозначного мнения о значимости этого теста в диагностике и ведении септических больных не удалось. Так, уровень LBP достоверно коррелировал с тяжестью состояния пациентов, существенно снижался у тех больных, которые преодолевали тяжелое состояние, но оставался на том же уровне или значительно повышался у тех пациентов, тяжесть состояния которых была без улучшения или умерших. Однако из-за ограниченного числа исследований остались нерешенными вопросы, касающиеся динамики изменения уровня LBP при серийных измерениях у больных с сепсисом в ответ на терапию антибиотиками, не удалось показать наличие достоверных корреляционных связей между LBP и другими биомаркерами сепсиса.

Выводы:

1. LBP нельзя использовать как изолированный маркер сепсиса.

2. Оценку изменений LBP необходимо проводить совместно с динамикой других биомаркеров сепсиса.

3. Клиническую значимость имеет оценка индивидуальных колебаний LBP.

Таким образом, представляется целесообразным проведение углубленных исследований для уточнения ценности LBP в диагностике и прогнозе гнойно-септических осложнений, а также для получения объективных доказательств выполнения специфицированных требований к тесту.

М.В. Белова, И.А. Тюрин, Т.А. Стрельникова, С.А. Соловьев, М.А. Годков. **Характеристика контингента токсикологических больных, инфицированных гемоконтактными вирусными инфекциями.** НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

В стационары скорой помощи на общих основаниях поступают с urgentными видами патологии пациенты, инфицированные гемоконтактными вирусными инфекциями (ГВИ). Особую группу среди этой категории пострадавших составляют лица с передозировкой психоактивных веществ (ПАВ) вследствие наркомании и токсикомании, а также в связи с суицидальными попытками. Так, по данным Федерального научно-методического Центра по профилактике и борьбе со СПИД более половины (57,3%) всех выявленных в 2014 году новых случаев ВИЧ-инфекции связаны с употреблением ПАВ.

Цель: охарактеризовать контингент токсикологических пациентов, инфицированных ГВИ.

Анализировали данные клиничко-лабораторного обследования пациентов, поступавших в 2014–2015 гг. в отделение

лечения острых отравлений (ОЛОО) НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского (НИИ СП). Химико-токсикологическую диагностику острого отравления осуществляли в два этапа, используя ИХА и ТСХ как предварительные и ГЖХ-МС и ВЭЖХ-МС как подтверждающие методы. Установление факта инфицирования ВИЧ (HIV), гепатитов В (HBV) и С (HCV) проводили на основании выявления лабораторных маркеров ГВИ методом ИФА в лаборатории клинической иммунологии НИИ СП.

В 2014 г. в ОЛОО было госпитализировано 4934 человека, в 2015 г. – 3948 человек. Из них доля пациентов с маркерами ГВИ составила 15,5 и 16,2% соответственно. Большинство этих пациентов поступали в тяжелом состоянии в отделение токсикологической реанимации, составив 40,8 и 36,3% от токсикологических больных реанимационного профиля в эти годы. Среди пациентов с отравлениями легкой степени доля инфицированных ГВИ не превышала 2%. Преимущественно ГВИ выявляли у мужчин – 82,6 и 79% в 2014 и 2015 гг. соответственно. Возраст пациентов варьировал от 17 до 87 лет. При этом более половины (52,9 и 57,2%) случаев приходилось на лиц в возрасте 30–39 лет. У подавляющего большинства больных причиной острого отравления был прием ПАВ с целью наркотического или токсического опьянения – 81,7 и 85,2% соответственно. Около 10% пациентов принимали токсикант с суицидальной целью. В 2–3% случаев прием токсичных веществ был случайным, криминальным или с целью самолечения.

Среди веществ, вызвавших отравление у лиц с ГВИ, на первом месте стояли «классические» наркотики (героин, морфин, метадон, производные амфетамина, кокаин). В 2014 г. они были выявлены у 348 (45,4%) инфицированных пациентов. При этом HCV выявлен у 244, HIV – у 2, микст-инфекция HIV+HCV – у 84 и HIV+HBV+HCV – у 4 пациентов. На долю отравлений новыми синтетическими наркотиками (психодислептиками) приходилось 9,3% случаев ($n = 71$). Из них у 55 пациентов диагностирован HCV, сочетание HCV+HIV выявлено у 10, а также по 2 человека были инфицированы HIV, HBV и сочетанием HBV + HCV. У 115 человек зарегистрировано отравление психофармакологическими препаратами (ПФП), причем в 24 случаях принятыми с целью одурманивания. У большинства пациентов установлены отравления несколькими наркотическими средствами или в комбинации с ПФП, а также на фоне алкогольного опьянения.

В 2015 г. среди пациентов с ГВИ доля отравлений опиоидными наркотическими средствами (морфином, героином, метадон и др.) выросла до 61,7% ($n = 395$). Следует отметить, что у 135 пациентов аналитическими методами доказано употребление героина (вероятно инъекционное) и все они оказались инфицированы HCV, у 36 из них выявлено наличие HIV, а у 5 – микст-инфекция HIV + HBV + HCV. Доля отравлений психодислептиками выросла незначительно – 11,3% ($n = 72$); 65 человек из них оказались инфицированными HIV и HCV. ПФП были обнаружены у 191 пациента, причем в 125 случаях ПФП принимались с целью опьянения. Как и в предшествующем году, большинство отравлений происходило при совместном приеме нескольких ПАВ, а также в комбинации с алкоголем.

Подавляющее число пациентов с острыми отравлениями, отягченными ГВИ, составляют лица, страдающие полинаркоманиями и токсикоманиями. Эти лица составляют группу повышенного риска распространения HIV-инфекции и вирусных гепатитов.

Н.С. Бобырева. **Об эпидемиологической ситуации по паразитарным заболеваниям в Ненецком автономном округе.** Северный государственный медицинский университет, НИИ Арктической медицины, Архангельск

За последние годы в Ненецком автономном округе (НАО)

произошел значительный подъем заболеваемости населения паразитарными заболеваниями. Показатель заболеваемости паразитозами населения НАО превышает показатель РФ по отдельным видам в 50 раз (лямблиоз), по другим в 5–7 раз (аскаридоз, энтеробиоз, дифиллоботриоз).

В период с 2002 по 2014 г. нами было обследовано 16 136 человек методом микроскопического анализа кала по Като. За этот же период времени медом ИФА-анализа было обследовано на различные виды паразитозов 2 829 человек. Статистический анализ данных проводился с помощью пакета программ SPSS 20.00, Excel 2010. За критерии формирования выборки были взяты: род деятельности, место проживания, возрастные категории, половая принадлежность. Критериями включения в выборку являлось наличие письменного информированного согласия обследуемого на участие в исследовании, специально разработанное для этих целей. Критериями не включения являлся отказ от участия в исследовании; нетрудоспособность.

В ходе исследования было выявлено, что доминирующей инвазией в структуре гельминтозов является энтеробиоз, его доля в 2014 г. составила 80,4% от общего количества. Доля детей в возрасте до 17 лет с энтеробиозом составила 99,1%. Максимальные показатели заболеваемости энтеробиозом приходились на возрастную группу от 3 до 6 лет.

В 2014 г. наблюдалось снижение заболеваемости населения НАО лямблиозом в 24,8 раза по сравнению с 2013 годом. Среди заболевших лямблиозом 45,9% составляли дети. Показатель заболеваемости детей лямблиозом в 2014 г. составил 39,5 на 100 тысяч детей до 17 лет, что в 22 раза меньше по сравнению с 2013 г. (3323,9).

Эпидемиологическая обстановка по дифиллоботриозу в НАО по-прежнему сложная. Высокая заболеваемость населения дифиллоботриозом поддерживаются за счет широко распространенной привычки среди местного населения употреблять в пищу термически необработанную сырую рыбу. В 2014 г. в округе показатель заболеваемости составил 90,6 на 100 тыс. населения (2013 г. – 72,4; 2012 г. – 115,5; 2011 г. – 134,4).

Случаи заболевания описторхозом и аскаридозом были представлены завозными случаями в силу природно-климатических условий, так как округ относится к Арктическому региону России.

Хотя в последние годы в НАО произошло увеличение объема проводимых противоэпидемиологических и профилактических мероприятий, результаты проведенных исследований свидетельствуют об отсутствии в НАО тенденции к снижению уровня заболеваемости паразитарными заболеваниями. Это связано с неудовлетворительными санитарно-гигиеническими условиями жизни в поселках НАО, скученностью проживания, отсутствием в большинстве населенных пунктов централизованных систем водоснабжения и канализации, недостаточностью очистки сточных вод, попадающих в реку Печора, поэтому в бассейн реки попадает большое количество инфекционных и паразитарных агентов.

Поэтому важной задачей является предотвращение и выявление заболеваний на ранней стадии, обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, формирование у населения правильного отношения к проблемам здоровья, повышение информированности врачей в отношении опасности паразитозов и своевременности их выявления.

К.В. Булатова, И.В. Карандашова, А.Д. Неверов, В.П. Чуланов. **Выявление мутаций устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия: методика исследования и интерпретация результатов.** ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Для лечения хронического гепатита С (ХГС) с 2011 г. ис-

пользуются препараты прямого противовирусного действия (ПППД). В настоящее время во многих странах одобрены к применению ПППД 4 классов – ингибиторы NS3/4A-протеазы, нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы NS5B-полимеразы и ингибиторы NS5A-белка, мишенями которых являются 3 белка HCV. В большинстве случаев терапия с использованием ПППД приводит к формированию у пациента устойчивого вирусологического ответа (УВО). Одной из причин неэффективности терапии являются мутации лекарственной устойчивости HCV. В связи с высокой генетической вариабельностью возбудителя эти мутации могут быть сформированы как во время проведения противовирусной терапии (ПВТ), так и до приема лекарственных препаратов. Было показано, что наибольшее негативное влияние на эффективность терапии оказывает лекарственная устойчивость, сформированная у вируса, относящегося к 1a, 1b и 3 генотипам. В ряде случаев к формированию устойчивости у разных генотипов HCV приводят различные мутации. Высокая стоимость ПППД и наличие мутаций устойчивости к ним до начала ПВТ определяют целесообразность проведения исследования по выявлению лекарственной устойчивости HCV перед терапией ХГС, вызванного 1a, 1b и 3 генотипами HCV. Полученные результаты окажут помощь клиницисту в выборе препаратов ПППД для ПВТ, что в итоге будет способствовать более эффективному лечению ХГС.

Целью работы являлась разработка методологии исследования по выявлению мутаций устойчивости HCV к ингибиторам NS3/4A-протеазы, NS5B-полимеразы и NS5A-белка с использованием прямого секвенирования.

Выбор праймеров для ПЦР-амплификации NS3/4A-, NS5A- и NS5B-регионов генома HCV и секвенирования полученных ПЦР-фрагментов 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 1a и 1b генотипов HCV к ингибиторам NS3/4A-протеазы, NS5A-белка, NS5B-полимеразы, у 3 генотипа – к ингибиторам NS5A-белка и нуклеозидным ингибиторам NS5B-полимеразы. Исследование включает выделение РНК из плазмы крови, постановку ОТ для получения кДНК, амплификацию исследуемых для каждого генотипа фрагментов генома HCV, которые содержат все известные мутации устойчивости HCV к соответствующим ингибиторам вирусных белков, подготовку к секвенированию и последующее секвенирование полученных ПЦР-фрагментов. Секвенированные последовательности анализируются с помощью разработанного ПО «ДЕОНА. Профиль Вирус гепатита С» («РМбит»), которое позволяет выявлять мутации лекарственной устойчивости, характерные для 1a, 1b и 3 генотипов HCV, к используемым для лечения каждого генотипа ПППД, клинически интерпретировать полученные результаты дифференцированно для вышеназванных генотипов и для каждого лекарственного препарата. Разработанная методология выявления мутаций лекарственной устойчивости к ПППД пригодна для использования в клинической лабораторной диагностике и научной практике для выявления вышеназванных мутаций в геноме HCV.

Л.Ю. Воеводская, Е.В. Пронькина², Л.Г. Григоричева¹, А.Г. Золовкина¹. **Клиническая эффективность иммунохроматографического анализа в диагностике сифилиса.** ¹ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава РФ, Барнаул; ²КГБУЗ «Алтайский краевой кожно-венерологический диспансер», Барнаул

Наблюдаемое интенсивное снижение распространенности сифилиса в Российской Федерации (2005 г. – 68,4; 2010 г. – 44,7; 2015 г. – 23 случаев на 100 000 населения) пока не свидетельствует о полноценном эпидемическом благополучии. Снижение заболеваемости сифилисом сопровождается изменениями в структуре клинических форм в сторону увеличения числа скрытых поздних, неутонченных, формированием серорезистентности и замедленной негативации серологических реакций после проведенного лечения. Лабораторная диагностика сифилиса в этой ситуации требует комплексного подхода, использования различных трепонемных и нетрепонемных тестов. С 2006–2010 гг. имеются сообщения об успешном использовании иммунохроматографических тестов в скрининге сифилиса. С 2012 г. метод иммунохроматографии рекомендован к применению Российским обществом дерматовенерологов и косметологов, с 2015 г. включен в Федеральные клинические рекомендации по ведению больных сифилисом.

Цель: оценить клиническую эффективность иммунохроматографического теста (Syphilis 3.0 (Multi) Standart Diagnostics, Inc) в скрининговых исследованиях пациентов и доноров костной ткани.

Исследованы 40 образцов сыворотки крови больных сифилисом (исследуемая группа) и 40 здоровых лиц (доноров) (контрольная группа) в иммуноферментном анализе (ИФА) («РекомбиБест антипаллидум суммарные антитела» «Вектор-Бест», Россия), в реакции прямой гемагглютинации (РПГА) (РПГА Бест-антипаллидум «Вектор-Бест») и иммунохроматографическими тестами «Syphilis 3.0 (Multi)» «Standart diagnostic, Inc», которые позволяют детектировать суммарные антитела к рекомбинантным белкам *Tr. pallidum* (17, 15 KDa).

Метод иммунохроматографического анализа является полноценным трепонемным тестом с образованием иммунных комплексов антитело–антиген, которые детектируются с помощью конъюгата и частиц коллоидного золота. Заявленная чувствительность и специфичность теста составляют 99,3 и 99,5% соответственно.

В группе образцов крови, полученных от больных различными формами сифилиса и лиц, состоящих на диспансерном учете после проведенного им специфического лечения, и определенных в ИФА и РПГА, как содержащие суммарные антитела к антигенам *T. pallidum*, с наборами для иммунохроматографического анализа получено 40 положительных результатов (клиническая чувствительность метода составила 100%).

В группе здоровых доноров при исследовании 40 образцов сыворотки крови с отрицательными результатами исследования в иммуноферментном анализе и РПГА в иммунохроматографическом тесте было получено 39 отрицательных результатов (клиническая специфичность метода исследования – 97,6%).

Высокая диагностическая чувствительность (100%) и специфичность (97,6%) иммунохроматографической тест-системы сопоставима с аналитическими характеристиками ИФА и РПГА. Простая технологическая процедура выполнения и интерпретации результата, отсутствие необходимости сложного оборудования позволяют использовать этот метод в качестве полноценного дополнительного диагностического теста для скрининговых исследований у пациентов и доноров костной ткани с минимальными сроками выполнения и высокой клинической эффективностью.

О.Л. Воронина¹, М.С. Кунда¹, Н.Н. Рыжова¹, Е.И. Аксенова¹, Н.Е. Шаранова¹, А.Н. Семенов¹, Е.Л. Амелина², А.В. Лазарева³, О.И. Симонова³, С.Ю. Семькин⁴, А.А. Баранов³, А.Г. Чучалин², А.Л. Гинцбург¹. **Молекулярно-генетические методы в идентификации и мониторинге появляющихся микроорганизмов.** ¹ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва; ²ФГБУ «НИИ пульмонологии ФМБА России», Москва; ³ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава РФ; ⁴ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава РФ, Москва

Появляющиеся (emerging) микроорганизмы, оказывающие наиболее пагубное воздействие на дыхательную функцию больных муковисцидозом и врожденным пороком развития легких, широко представлены в порядке *Burkholderiales*. Грамотрицательные неферментирующие микроорганизмы сложны в культивировании и идентификации. Молекулярно-генетические методы позволяют определить вид и генотип бактерии при анализе ДНК биологического образца. Мультилокусное секвенирование (Multi Locus Sequence Typing, MLST) стало основным подходом в исследовании распространения эпидемически значимых штаммов *Burkholderia cepacia complex* (Bcc), *Achromobacter spp.*, *Pandoraea promoenusa*, *Lautropia mirabilis* среди пациентов специализированных стационаров.

Ретроспективный анализ данных позволил установить время начала распространения российских эпидемических штаммов *Burkholderia cenocepacia* ST709 *Achromobacter ruhlandii* ST36. Сокращенный вариант MLST был использован для мониторинга этих штаммов среди пациентов и выявления новых генотипов.

Разработанные нами молекулярные мишени были испытаны также в контроле трансмиссивного микроорганизма *P. promoenusa* и в мониторинге *L. mirabilis* – маркера изменения микробного сообщества. Роль этого микроорганизма в патогенезе заболеваний легких еще предстоит исследовать.

Таким образом, молекулярно-генетические методы эффективны в контроле известных появляющихся микроорганизмов и в выявлении новых.

О.Л. Воронина, М.С. Кунда, Н.Н. Рыжова, Е.И. Аксенова, Н.Е. Шаранова, А.Н. Семенов, А.Л. Гинцбург. **Оптимизация микробной диагностики биологических образцов на основе генотипирования и секвенирования нового поколения.** ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва

Благодаря усилиям ведущих научно-исследовательских центров России генотипирование микроорганизмов стало доступнее для практической медицины и помогает в эпидемических расследованиях внутрибольничных инфекций и в проведении профилактических мероприятий по ограничению распространения опасных микроорганизмов в отдельных сообществах пациентов.

Наши исследования показали возможности по генотипированию бактерий непосредственно в биологических образцах с сокращением мишеней для идентификации и секвенирования до наиболее вариабельных, что существенно ускоряет и удешевляет анализ. Подход применим не только для типирования наиболее распространенных внутрибольничных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, но и для появляющихся, но эпидемически значимых *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter spp.* и других представителей порядка *Burkholderiales*. Своевременное выявление последних особенно важно для определения алгоритма лечения больных с муковисцидозом и врожденным пороком развития легких.

Для определения вероятности инфицирования пациента

эпидемически значимыми *Burkholderiales* необходимо иметь представление о микробиоте легких больного. Массовое параллельное секвенирование ампликонов 16S rDNA позволяет дать ответ на этот вопрос. Масштабирование исследования с применением платформы MiSeq Illumina перспективно для снижения себестоимости анализа одного образца.

Внедрение такого подхода в лабораторную практику сопряжено с необходимостью создания и поддержания баз данных, оснащения оборудованием для обработки и хранения большого объема информации, обучением сотрудников основам биоинформатики.

Только комплексный подход позволит перевести лабораторию на новый уровень идентификации и контроля инфекций.

*А.Г. Галстян¹, Е.Л. Амелина², С.А. Красовский², М.В. Усачева², О.В. Борисова¹. Получение антигена для разработки иммуноферментной тест-системы для диагностики *P. aeruginosa*. ¹ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова», Москва; ²ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, Москва*

Своевременная диагностика *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов с муковисцидозом позволяет провести успешную антибиотикотерапию, что позволяет избежать хронической колонизации организма и прогрессирования легочной патологии. Серологические методы выявления синегнойной инфекции отличаются быстротой, хорошей чувствительностью и специфичностью в сравнении с более длительным микробиологическим исследованием.

Цель: получение антигена для разработки ИФА тест-системы для выявления специфических IgG антител к *P. aeruginosa*.

В работе использовали 12 музейных штаммов *P. aeruginosa* соответствующих 12 серотипам по классификации Habs; стандартный антиген St.Ag 1-17 (Statens Serum Intitute, Дания); антисинегнойную сыворотку *Pseudomonas*-CF-IgG standart antiserum (Statens Serum Intitute, Дания); 75 образцов сывороток от пациентов различного возраста с муковисцидозом и микробиологически установленным фактом инфицирования *Pseudomonas aeruginosa*; 43 образца сывороток от здоровых пациентов различного возраста, субстратную буферную смесь ЗАО БТК «Биосервис», стоп-реагент ЗАО БТК «Биосервис». Полученные данные обрабатывались с помощью пакета OriginPro 9.0. Для получения антигена на бульоне Trüchle наращивали биомассу 12 штаммов *P. aeruginosa*, которую после отмывки в стерильном изотоническом растворе, ресуспендирования и заморозки подвергали ультразвуковой деструкции. Полученные гомогенизаты фильтровали через мембраны с диаметром пор 0,22 и 0,45 мкм и хранили при -20°C. Для сорбции на планшеты использовали композицию антигена (1-12НЕ антиген), содержащую одинаковую концентрацию белка каждого из 12 препаратов.

Количественное определение содержания IgG антител в сыворотках проводили твердофазным иммуноферментным методом. В качестве референсного антигена использовали антиген St.Ag 1-17, в качестве калибровочного стандарта использовали антисинегнойную сыворотку *Pseudomonas*-CF-IgG standart antiserum, содержащую 100 000 ОЕ/мл. В лунки планшета с иммобилизованными антигенами 1-12НЕ или St.Ag:1-17 вносили по 100 мкл исследуемых образцов сывороток и калибровочных образцов в буферном растворе с белковыми стабилизаторами. Инкубацию проводили в течение 45 минут при 37°C и 500 об/мин. После пятикратной промывки в планшеты вносили по 100 мкл конъюгата, моноклональных антител к Fc-фрагменту IgG человека с пероксидазой хрена (0,4 мкг/мл). После инкубации, которую проводили в течение 45 минут при 37°C и 500 об/мин, и последующей промывки в лунки планшета вносили по 100 мкл раствора субстратной буферной смеси. Через 15 мин пероксидазную реакцию

останавливали путем внесения во все лунки по 50 мкл стоп-реагента. Результаты ферментативной реакции регистрировали на аппарате BioRad Model 680, измеряя поглощение (ОП) при 450–680 нм. Полученные данные обрабатывали с помощью пакета программ OriginPro 9.0.

Содержание антител в исследуемых образцах определяли по калибровочному графику, построенному на основании концентрации калибровочных образцов и соответствующим им значениям оптических плотностей с использованием полиномиальной аппроксимации. С помощью пакета OriginPro 9.0 проводили ROC-анализ полученных данных. При проведении исследования с антигеном 1-12НЕ были получены 97,7% специфичность и 100% чувствительность при cut-off равном 4,68 ОЕ/мл, а при использовании стандартным антигеном St.Ag 1-17 – 100% специфичность и чувствительность при cut-off, равном 4,95 ОЕ/мл.

Выводы: При исследовании охарактеризованной выборки сывороток с использованием антигена 1-12НЕ получены данные свидетельствующие о высокой чувствительности и специфичности определения IgG-антител к *Pseudomonas aeruginosa*.

*Е.Н. Головешкина, А.Е. Гуцин. Разработка методики определения РНК *Treponema pallidum* с помощью реакции транскрипционной амплификации (НАСБА) в режиме реального времени для диагностики ранних форм сифилиса. ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва*

Проблема заболеваемости сифилисом до сих пор остается актуальной как РФ, так и в других странах. По данным Всемирной организации здравоохранения на 2015 год, ежегодно в мире регистрируется 5,6 миллионов случаев заболевания сифилисом. Диагностика сифилиса ввиду клинического полиморфизма заболевания невозможна без лабораторного подтверждения. Самым распространенным прямым методом для диагностики ранних форм сифилиса с эрозивно-язвенными поражениями является микроскопия в темном поле (ТПМ), однако диагностическая чувствительность ТПМ составляет 70–86%, специфичность – 73–100%. В зарубежных и отечественных рекомендациях имеются указания на использование высокочувствительных и высокоспецифичных методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) для диагностики ранних форм заболевания – первичного и вторичного сифилиса при исследовании эрозивно-язвенных элементов. Одним из МАНК является НАСБА (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification, NASBA). Принцип метода НАСБА основан на изотермической транскрипционной амплификации молекул РНК на матрице образующихся в процессе реакции промежуточных молекул ДНК. При диагностике бактериальных инфекций с помощью метода НАСБА мишенью для амплификации служит рибосомальная РНК. Количество рибосом в одной клетке содержится от нескольких сотен до нескольких десятков тысяч, обеспечивая тем самым, даже при минимальной концентрации бактериальных клеток в пробе достаточно высокую концентрацию мишеней для амплификации. Поскольку НАСБА является высокочувствительным и высокоспецифичным методом, а принцип амплификации отличается от наиболее часто используемого метода – ПЦР, то НАСБА может использоваться в качестве независимого метода для подтверждения результатов ПЦР.

Целью нашей работы является разработка методики для определения рРНК *T. pallidum* с помощью реакции транскрипционной амплификации (НАСБА) в режиме реального времени.

На первом этапе для разработки мишень-специфических реагентов был проведен сравнительный анализ последовательностей генов 16S рРНК у широкого спектра микроорганизмов, включая представителей рода *Treponema* на основе

информации GeneBank. Был определен участок, высоко специфический для *T. pallidum* и, в пределах данного участка выбраны последовательности для праймеров и гибридизационного зонда. Выбранная область нуклеотидной последовательности 16S рРНК *T. pallidum* комплементарная зонду содержит не менее 8 отличий от гомологичных последовательностей других ближайших представителей вида *T. pallidum*, что обеспечивает высокую аналитическую специфичность разрабатываемой методики. Последовательность прямого праймера была идентична последовательности мишени, а последовательность обратного праймера, кроме последовательности комплементарной мишени, на 5' конце содержала последовательность промотора полимеразы T7 РНК.

Предел обнаружения разработанной методики был исследован на рекомбинантном препарате фага лямбда gt10 с клонированной последовательностью ДНК *T. pallidum* и последовательностью промотора полимеразы T7 РНК. При добавлении такого препарата в реакцию НАСБА, T7 РНК-полимераза взаимодействует с последовательностью промотора и запускает процесс образования молекул РНК. Из исходного препарата была приготовлена серия последовательных разведений. Установленный предел обнаружения составил 20 копий 16S рРНК *T. pallidum* в реакцию, или 4×10^3 копий в мл, что с учетом содержания рРНК в клетке *T. pallidum*, обеспечивает выявление единичных микроорганизмов в исследуемом образце. Указанный предел обнаружения разработанной методики значительно превышает установленный ранее предел обнаружения для ТПМ – 10^5 клеток в мл и обеспечивает более высокую диагностическую чувствительность.

А.С. Горохова, К.А. Ляднова, Е.Н. Жиренкина, Е. В. Степанова, В.П. Сергеев, Е.Н. Понировский, Е.Н. Морозов. **Проблемы пробоподготовки в ПЦР-диагностике паразитарных заболеваний.** ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Выявление и определение возбудителей с помощью молекулярно-генетических методов, в первую очередь ПЦР, имеют важное значение в лабораторной практике благодаря главному преимуществу – высокой чувствительности. Выделение ДНК из материала является важным этапом в ПЦР-диагностике, особенно в случаях низкой паразитемии. В клинической лабораторной практике при взятии пробы для исследования количество паразитов не известно.

Нами было проведено сравнительное изучение наборов для выделения ДНК разных производителей. Для этого были приготовлены разведения в 100 мкл среды 1000, 100, 10 и 1 промастигот *Leishmania donovani* референсного штамма МНОМ/IN/80/DD8, концентрацию подтверждали микроскопией. Сравнение результатов проводили по ранее отработанной методике амплификации, позволяющей обнаружить 1–2 возбудителя в образце. Выделение ДНК проводили наборами согласно протоколу производителя: «ДНК-Экстран-1», «ДНК-Экстран-2» (компания «Синтол»), «ПРОБА-ГС» и «ПРОБА-РАПИД» (ООО «ДНК-Технология»). Наиболее чувствительным (обнаружение 1 промастиготы в образце) оказался «ДНК-Экстран-2», недостатком которого является длительный процесс выделения (более 1 рабочего дня). При концентрации 1000 промастигот все образцы показали положительный результат.

В рутинной лабораторной диагностике большое значение играет экономия времени, которая может привести к появлению ложноположительных результатов, особенно при низкой паразитемии в клиническом материале. Поэтому большое значение приобретают высококвалифицированные специалисты лабораторной службы, которые могут оптимизировать при возникновении подобных задач все этапы исследований, и врачи практического здравоохранения, способные правильно интерпретировать результаты. Унификация молекулярно-

генетических методов диагностики паразитарных болезней ближайшее время не удастся достичь, поэтому ВОЗ рекомендует для данных исследований референсные лаборатории.

Д.А. Грядунов, А.Т. Лейнсоо, Б.Л. Шаскольский, Е.В. Кулагина, О.В. Антонова, Е.И. Дементьева, Д.В. Зименков. **Гидрогелевые биочипы для молекулярно-генетического профилирования маркеров лекарственной устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний.** Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (ИМБ РАН), Москва

В 2014 г. ВОЗ опубликован глобальный доклад об эпидемиологическом обследовании «Устойчивость к противомикробным препаратам», в котором отмечается опасность роста антибиотикорезистентности для целого ряда возбудителей инфекций. Среди них присутствуют чрезвычайно актуальные для Российской Федерации возбудители туберкулеза и гонореи. Важной задачей современной лабораторной диагностики является создание методов быстрой и эффективной идентификации лекарственно-устойчивых форм инфекционных агентов. В силу чрезвычайного разнообразия механизмов устойчивости патогенов разрабатываемые методики должны охватывать максимально возможный спектр молекулярных параметров, ассоциированных с резистентностью. Одной из технологий, успешно зарекомендовавших себя для многопараметрического анализа возбудителей инфекционных заболеваний, является платформа гидрогелевых биочипов ИМБ РАН. Разработаны, запатентованы и внедрены в практику учреждений противотуберкулезной службы РФ биочипы для одновременной идентификации более 120 генетических детерминант множественной и широкой лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза. Созданы биочипы для идентификации и анализа генетических маркеров резистентности возбудителей инфекций органов репродукции, включая как облигатные патогены (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Mycoplasma genitalium*), передающиеся половым путем, так и ряд возбудителей оппортунистических инфекций. Идентификация микроорганизма на биочипе с одновременным его генотипированием и анализом маркеров лекарственной устойчивости обеспечивает персонализированный выбор эффективных антимикробных препаратов. Работа выполнена при поддержке Программы ФНИ государственных академий на 2013–2020 годы (№ подтемы 0103-2014-003).

Н.В. Дмитриева, И.Н. Петухова, Н.С. Багирова, З.В. Григорьевская, С.А. Дьякова, И.В. Терещенко, Е.Н. Соколова. **Распространенность нозокомальных микроорганизмов в онкологической клинике.** Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ, Москва

Цель: выявление распространенности мультирезистентных штаммов грамотрицательных микроорганизмов в онкологической клинике.

Идентификация микроорганизмов и определение чувствительности к антибиотикам проводились с использованием автоматических микробиологических систем MS Maldi Tof, Vitek-2, MicroScan WalkAway. Было проанализировано 8326 микроорганизмов из которых 5003 были представлены грамотрицательными палочками. Бактерии были изолированы из из патологических материалов от онкологических больных (без повторных выделений) за последние 5 лет. Патологические материалы были представлены в 86% случаев отделяемым из ран (РИ) или дренажей (ОД) при поверхностных, глубоких и органнопространственных инфекциях, из крови при бактериемии и сепсисе (КР), из мочи при инфекциях мочевых путей (МИ) и из мокроты или бронхоальвеолярный лаваж или забор стерильными щетками при бронхоскопии при инфекциях нижних дыхательных путей (ИД).

Наиболее частыми возбудителями инфекций были: *Acine-*

tobacter baumannii, синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), *Klebsiella pneumoniae*, Кишечная палочка (*Escherichia coli*). *A. baumannii* среди прочих грамотрицательных микроорганизмов была выявлена при ИД в 34,3% случаев, ОД – 27,0% ОР – 9,4%, МИ – 12,7%, КР – 4,9%, прочие 11,6%. *P. aeruginosa* составила при ИД – 30,8%, ОД – 24,0%, ОР – 8,7%, МИ – 17,3%, КР – 5,2%, прочие – 13,9%. *K. pneumoniae* составила при ИД – 31,7%, ОД – 24,9%, ОР – 8,6%, МИ – 21,7%, КР – 5,8%, прочие – 7,3%. *E. coli* составила при ИД – 9,9%, ОД – 22,1%, ОР – 6,8%, МИ – 48,3%, КР – 4,2%, прочие – 8,8%. Количество карбапенем-резистентных штаммов встречалось для имипенема и меропенема соответственно среди *P. aeruginosa* в 29 и 59%, среди *K. pneumoniae* 29 и 85%, в отношении *A. baumannii* – 100 и 86%. Среди *E. coli* карбапенем-резистентные штаммы не встречались, однако количество продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра составила 44%.

Таким образом, нозокомиальные инфекции были вызваны в основном грамотрицательными микроорганизмами: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. Высокое количество карбапенем-резистентных штаммов (29–100%) диктует необходимость ограничения использования этих антибиотиков в современной клинике.

М.Ю. Дмитриюкова¹, Т.Н. Романюк¹, Л.И. Короленкова², О.Ю. Шипулина¹. **Частота выявления интегрированных форм ВПЧ ВКР при тяжелой дисплазии и микроинвазивном раке шейки матки.** ¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва; ²Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Этиологической причиной развития тяжелой дисплазии и РШМ является вирус папилломы человека ВПЧ высокого онкогенного риска. ВПЧ – ДНК-содержащий эпителиотропный вирус. В инфицированных клетках вирус может персистировать в эписомальной либо интегрированной форме. При интеграции обычно повреждается ген E1 или E2, продукты которого являются транскрипционными факторами, регулирующими синтез онкогенов E6 и E7. Таким образом, интеграция ДНК ВПЧ в геном клетки – важный фактор развития злокачественного процесса.

Цель работы: изучить распространение генотипов и частоту интеграции ВПЧ у лиц с подтвержденным гистологическим диагнозом тяжелая дисплазия шейки матки.

Было исследовано 94 образца соскоба эпителия цервикального канала, взятых у женщин с подтвержденным диагнозом тяжелая дисплазия ШМ и микроинвазивный РШМ. Возраст пациентов составил 20–78 лет, медиана – 33 года. Забор проводился с 2012 по 2015 год. Определение концентрации ВПЧ ВКР и генотипирование проводилось с использованием наборов реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скринитр-FL» и «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-FL». Наличие интегрированной формы определялось путем одновременной специфической амплификации E2 и E7 участков генома ВПЧ.

Было отобрано 94 образца с подтвержденным диагнозом HSIL. Распространенность ВПЧ ВКР составила: ВПЧ 16 генотипа обнаружено у 61 пациента (64,9%); 18 – 4 (4,3%); 31 – 7 (7,4%); 33 – 13 (13,8%); 35 – 3 (3,2%); 45, 51 – по 2 (2,1%); 52, 58 – по 1 (1,0%). При этом 16 тип в 7 случаях был в интегрированной форме, 2 из которых были полными. 18 тип – 1 случай полной интеграции. Оба случая обнаружения 45 типа было ассоциировано с интегрированной формой, причем 1 образец содержал полностью интегрированный геном ВПЧ. Кроме того, один из 7 образцов, содержащих ВПЧ 31, был в частично интегрированной форме.

Таким образом, у всех пациентов с тяжелой дисплазией выявлялся ВПЧ ВКР, при этом в 11,7% случаев выявлялась интегрированная форма ВПЧ.

С.Н. Дробченко¹, О. Марголин². **Детермин Комбо – экспресс-тест нового 4-го поколения.** ¹ЗАО «Биоград», Санкт-Петербург; ²Alere Medical Co Ltd, Япония

Тесты 3-го поколения, к которому относятся большинство выпускаемых экспресс-тестов, не позволяют определять раннюю стадию инфицирования ВИЧ, так называемый период серонегативного окна. Именно на эту стадию приходится пик концентрации вируса в крови, когда организм еще не выработал антитела к вирусу. Поэтому вероятность передачи ВИЧ-инфекции на этой стадии выше, чем на последующих этапах, до развития выраженной иммуносупрессии. Именно поэтому компанией Alere были разработаны инновационные тесты на ВИЧ 4-го поколения – экспресс-тест Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo (Alere, Япония). Данный экспресс-тест определяет наличие, как антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, так и антигена p24 ВИЧ. Высокая точность теста подтверждена испытаниями на тысячах образцов. В данной работе описаны результаты исследования образцов сероконверсионных панелей первыми в мире экспресс-тестами 4-го поколения Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo.

Исследования были проведены на сероконверсионных панелях: панель Zepmetrix (BCP) 6246, США и 33 панели ВВИ, США. Тесты Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo выпускаются в формате тест-карт – по 10 тест-полосок, герметично индивидуально упакованных в фольгу. На каждую тест-полоску нанесены рекомбинантные антигены ВИЧ-1/ВИЧ-2, синтетические пептиды, антитела анти-p24 и авидин. Для проведения анализа отделяли одну тест-полоску от тест-карты, удаляли защитную фольгу с тест-полоски и наносили 50 мкл образца. Результат проявлялся в виде окрашенных полос в зоне результата через 20 минут. Если антиген p24 ВИЧ присутствовал в образце, красная линия появлялась в области окна антигена (Ag). При наличии в образце антител к ВИЧ-1, ВИЧ-1 группы O и/или ВИЧ-2 проявлялась красная полоса в области окна антител (Ab). Во всех образцах появлялась контрольная полоса.

На панели BCP тест Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo сначала определял наличие антигена p24, при этом полоса антигена выявлялась слабой, затем интенсивность полосы антигена росла (15, 16 образцы) и, начиная с 16 образца, появлялась слабая полоса антител. Далее интенсивность полосы антител возрастала, а полоса антигена исчезала полностью. Тесты 3-го поколения на данной панели определяли ВИЧ, начиная с 16 образца, когда появлялась слабая полоса антител. Тесты 3-го поколения не определяли ВИЧ-положительные образцы 14 и 15, на которые приходится наибольшая концентрация вируса в крови. На образцах данной панели применение теста 4-го поколения позволило выявить ВИЧ на 7 дней раньше. На 10 панелях ВВИ тест Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo определял ВИЧ инфекцию, начиная с одного и того же образца, что и тест 3-го поколения и на 23 панелях опережал тест 3-го поколения на 2–20 дней.

Тесты 4-го поколения Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, способны выявлять ВИЧ-инфекцию на ранней стадии, еще до появления определяемых титров антител. Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo дифференцирует выявление антигена ВИЧ p24 и антител к ВИЧ в одном анализе, что позволяет определить статус каждого из маркеров. Экспресс-тесты Детермин обладающая высокой чувствительностью, специфичностью, характеризуются простотой постановки анализа, легкостью интерпретации и стабильностью результата. Высокое значение PPV тестов Детермин позволяет быть уверенным в полученном положительном результате.

Тесты Детермин зарегистрированы Росздравнадзором, имеют CE-марку, разрешены FDA для использования в США. По результатам испытаний и инспекций производства включены в список преквалифицированных диагностиче-

ских продуктов ВОЗ. Поставляется в рамках программ ВОЗ, ЮНИСЕФ, Глобального Фонда. 56% от объема закупок Глобального фонда и 87% закупок ВОЗ составляют экспрест-тесты Determine™ HIV-1/2 (выявляют антитела к ВИЧ) и Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo (выявляют антитела и антиген p24).

А.В. Дружинина. Микробиологический мониторинг патогенов инфекций, связанных с медицинской помощью в центре сердечно-сосудистой хирургии. ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава РФ, Челябинск

Инфекции, связанные с медицинской помощью (ИСМП) в отделениях сердечно-сосудистой хирургии – актуальная каждодневная проблема врачей-клиницистов. С целью уменьшения частоты ИСМП и оптимизации антибактериальной фармакотерапии в бактериологическом отделе клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава РФ г. Челябинска проведен анализ структуры и антибиотикорезистентности патогенов ИСМП за 2013–2015 гг. ИСМП в кардиохирургии – это пневмония, инфекция кровотока, инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ): глубокие ИОХВ (медиастенит, остеомиелит грудины) и поверхностные ИОХВ (нагноение послеоперационной раны, нагноение ложа ЭКС). Микробиологический мониторинг структуры патогенов пневмонии показал, что большинство составляют грамотрицательные палочки – 81,8%, в равных долях представленных неферментирующими грамотрицательными бактериями (НГОБ) – преимущественно *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* (42,4%) и энтеробактериями – преимущественно *Klebsiella pneumoniae* (39,3%). Грамположительные кокки (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) составляют 12,1%, грибы рода *Candida* spp. – 3%. Основными патогенами при инфекции кровотока являются также грамотрицательные палочки – 68,4%, из них: НГОБ – 31,6%, энтеробактерии – 36,8%. Грамположительные кокки (*Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp.) были выделены в 26,3% случаев сепсиса, грибы рода *Candida* – в 5,3% случаев. Лидирующими патогенами ИОХВ – как глубоких, так и поверхностных стали грамположительные кокки – 62 и 80% соответственно. При этом на первом месте стоят коагулазонегативные стафилококки (в основном *Staphylococcus epidermidis*) – 34,5 и 51,4% соответственно. На втором месте – *Staphylococcus aureus* – 20,7 и 20% соответственно. На третьем месте – *Enterococcus* spp. – 6,9 и 8,6%. Грамотрицательные палочки, как патогены глубоких ИОХВ выделены в 38% случаев (НГОБ – 20,7%, энтеробактерии – 17,2%), как патогены поверхностных ИОХВ – в 20% случаев (НГОБ – 11,4%, энтеробактерии – 8,6%). Всем патогенам ИСМП определяли чувствительность к антимикробным препаратам за тот же период. Доля штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, продуцирующих металлобеталактамазы составила 43,3% от общего числа НГОБ. Антибиотикорезистентность энтеробактерий (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*), обусловленная беталактамазами расширенного спектра, определена в 25% случаев. Метициллинрезистентные штаммы *Staphylococcus aureus* выделены в 37,5% случаев ИСМП, вызванных данным патогеном. Метициллинрезистентные штаммы *Staphylococcus* spp. (преимущественно *Staphylococcus epidermidis*) составили 70%. Все выделенные штаммы *Enterococcus* spp. были чувствительны к ванкомицину.

С.А. Егорова¹, Л.А. Кафтырева¹, Е.В. Войтенкова¹, А.В. Забровская¹, Е.В. Смирнова², Н.В. Толузакова², С.А. Чертова², С.Г. Довгаль³, Е.Г. Матвеева³, Л.Ю. Журнова⁴, Н.П. Уткина⁴, Л.Ю. Сихандо⁴, Т.Ф. Пеленко⁴. Чувствительность штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014–2015 гг., к антимикробным препаратам выбора при

лечения сальмонеллезом. ¹ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербурге», филиал № 4; ³Консультативно-диагностическая поликлиника Приморского района № 1, Санкт-Петербург; ⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербурге», филиал № 6

Для эмпирической антимикробной терапии сальмонеллезов (в случае тяжелого течения кишечной инфекции, генерализованного заболевания, а также у пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями) рекомендованы хинолоны и цефалоспорины расширенного спектра. Изучение штаммов *Salmonella*, выделенных от амбулаторных пациентов в Санкт-Петербурге в 2014–2016 гг., выявило устойчивость к препаратам, рекомендованным для лечения сальмонеллезов. Более половины изученных штаммов (59%) характеризовались устойчивостью к хинолонам, наиболее характерна такая резистентность для сероваров *S. Enteritidis* и *S. Infantis* (66,7 и 88,2% соответственно). Резистентность была обусловлена хромосомными мутациями в гене *gyrA*: у штаммов *S. Enteritidis* – Ser83Phe и Asp87Gly, у штаммов *S. Infantis* – Asp87Tyr. Доля штаммов *Salmonella* различных сероваров, устойчивых к цефалоспорином 3–4 поколения и продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра генетического семейства CTX-M (генетических групп CTX-M1, -2, -9), составила 2,9%. Для сероваров *S. Typhimurium* и *S. Infantis* характерна множественная устойчивость к антимикробным препаратам (65,4 и 82,4% соответственно).

Устойчивость к фторхинолонам и цефалоспорином расширенного спектра на фоне утраты чувствительности *Salmonella* к «старым» антибиотикам (ампициллин, хлорамфеникол, ко-тримоксазол) значительно ограничивает возможности антимикробной терапии осложненных сальмонеллезов. Формирование резистентности у *Salmonella* вызвано в первую очередь использованием антибиотиков в ветеринарии и сельском хозяйстве. Мониторинг данных по антибиотикорезистентности *Salmonella*, выделенных от людей, из пищевых продуктов и от сельскохозяйственных животных, и основанная на этих данных рациональная антимикробная терапия позволят ограничить селекцию и распространение устойчивых штаммов возбудителя.

Н.И. Еремеева, Д.В. Вахрушева. Выявление больных туберкулезом методом Циля-Нильсена в клинико-диагностических лабораториях первичной медицинской помощи Урала в 2010–2014 гг. ФГБУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, Екатеринбург

В настоящее время метод бактериоскопического исследования мокроты по Цилю-Нильсену во всем мире признан быстрым, простым, относительно недорогим и доступным способом выявления наиболее заразных больных туберкулезом. Данный метод входит в схемы обследования пациентов с целью выявления туберкулезной инфекции, и на первом этапе диагностики осуществляется в клинико-диагностических лабораториях (КДЛ) учреждений первичной медико-санитарной помощи (ПМСП).

В связи с тем, что ситуация по туберкулезу в территориях Урала, подведомственных ФГБУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, на протяжении ряда лет оценивается как напряженная, близкая к эпидемии, можно было бы ожидать высокую чувствительность (до 65% и выше) прямого метода микроскопии мокроты по Цилю-Нильсену.

Анализ выявляемости туберкулеза при проведении бактериоскопического исследования в 2010–2014 гг. в учреждениях ПМСП на территориях Урала по сведениям официальной статистической отчетности (Подгаева В.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу и деятельность

противотуберкулезной службы на Урале в 2012 году / Под ред. С.Н. Скорнякова. Екатеринбург; 2013) демонстрирует неутешительную картину.

Так, число лиц, обследованных на туберкулез бактериоскопическим методом в КДЛ учреждений ПМСП, с 2010 по 2014 гг. в среднем составило 16 343±24 687,7. В то же время процент выявленных больных методом Циля-Нильсена от впервые выявленных больных туберкулезом с бактериовыделением составил 0,76 и 0,0225% от всех больных, обследованных на туберкулез в общей лечебной сети. Надо отметить, что доля впервые выделенных больных туберкулезом с бактериовыделением в течение анализируемого периода составила 4250,8±160,2.

Анализ вероятных экономических затрат, произведенных на однократное обследование всех лиц данным методом в учреждениях ПМСП на Урале, исходя из средней стоимости одного исследования 250 руб., показал, что на выявление одного больного туберкулезом с бактериовыделением экономические затраты составили в среднем: 1 891 750±619 601 руб.

Основной метод выявления больных туберкулезом – бактериовыделителей – микроскопия мокроты в ОЛС является малоинформативным, т. к. в среднем выявляет лишь 0,76% в/в больных с бактериовыделением и 0,0225% от всех больных обследованных в ОЛС. При этом, доля больных туберкулезом с бактериовыделением остается практически неизменной. Таким образом, финансовые затраты на микроскопическое исследование мокроты методом Циля-Нильсена в КДЛ учреждений ПМСП не оправданы, поскольку получаемые результаты не достигают поставленных целей (быстрое выявление эпидемиологически опасных больных туберкулезом в обществе). Вследствие этого, более 99% больных ТБ с бактериовыделением, обратившихся в ОЛС, остаются не выявленными и при подозрении на ТБ подвергаются дальнейшему обследованию другими методами, при этом продолжают оставаться бактериовыделителями, являясь источниками высоко резистентного к лекарственным препаратам возбудителя.

*О.А. Землянский¹, Е.Б. Тюрина^{1,2}, А.А. Башкирев¹. Распространенность штаммов *M. tuberculosis* различных генетических семейств в Белгородской области. ¹НИУ «БелГУ», Белгород; ²ОГКУЗ «Противотуберкулезный диспансер», Белгород*

В Белгородской области в течение последних лет остается высокой доля больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Возникает необходимость поиска причин сложившейся ситуации, в том числе и обусловленных генетическими особенностями циркулирующих штаммов *M. tuberculosis*.

С помощью набора «СПОЛИГО-БИОЧИП» (производство ООО «Биочип-ИМБ», г.Москва) проведено сполитипирование 132 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом легких в Белгородской области в 2015 г.

Цель исследования: оценить распространенность штаммов *M. tuberculosis* различных генетических семейств в Белгородской области и их связь с множественной лекарственной устойчивостью.

Наиболее широко среди исследованных штаммов представлены штаммы генетического семейства Beijing – 43,5%. Среди штаммов с множественной лекарственной устойчивостью доля данного семейства составляет 73,5%, в то время как среди штаммов с сохраненной чувствительностью к противотуберкулезным препаратам только 26,7%. Доли других генетических семейств (H, T, LAM) составляют среди штаммов с множественной лекарственной устойчивостью 11,8, 8,8 и 5,9% соответственно.

На территории Белгородской области широко распространена генетическая группа Beijing, которая обладает выражен-

ной ассоциированностью с множественной лекарственной устойчивостью и вносит значительный вклад в эпидемический процесс. В этих условиях возрастает роль лабораторных исследований по генетическому типированию штаммов *M. tuberculosis*, результаты которых позволят обеспечить дифференцированный подход к работе в очагах туберкулеза, особенно с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя.

*Т.А. Зыкова, О.А. Богомолова, И.Б. Лысенко. Изучение уровня инфицирования онкогематологических больных грибами *Aspergillus fumigates*. ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону*

В соответствии с рекомендациями Европейского Респираторного общества (ERS) и Европейского общества специалистов по клинической микробиологии и инфекционным болезням (ESCMID) антитела к аспергиллам повышаются более, чем у 90% пациентов с хроническим легочным аспергиллезом. Детекция антител к *Aspergillus fumigates* позволяет дифференцировать инфицирование от колонизации. Целью исследования было установить частоту определения IgG к *Aspergillus fumigates* у онкогематологических больных. Обследовали 43 больных. IgG к *Aspergillus fumigates* определяли в сыворотке крови в качественном и количественном формате. Использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа. Положительным считали результат более 12 U/ml, неопределенным в интервале 8–12 U/ml, негативным менее 8 U/ml.

Среди обследованных больных острым лейкозом было 8, лимфомами – 23, множественной миеломой – 5, неспецифическим неопухолевым лимфаденитом – 7 человек. Серопозитивными было 25,6% (11), серонегативными 67,4% (29), промежуточный результат был определен у 7,0% (3) больных. Среди больных с лейкозом IgG антитела к *Aspergillus fumigates* были обнаружены в 12,5% (1), с лимфомами у 30,4% (7), с множественной миеломой у 20,0% (1), с неспецифическими неопухолевыми лимфаденитами у 28,6% (2). Помимо этого 13,0% (3) больных с лимфомами имели неопределенный результат. Уровень IgG антител к *Aspergillus fumigates* среди серопозитивных больных находился в диапазоне 13,5–85,9 U/ml. У всех пациентов на момент обследования отсутствовали клинические признаки инфекции. Таким образом, был установлен высокий процент инфицирования онкогематологических больных грибами *Aspergillus fumigates*. Чаше других были инфицированы больные лимфомами.

Т.А. Зыкова, М.Н. Дурицкий, О.А. Богомолова, В.А. Сустрепов, И.П. Сидоренко, Е.Н. Черникова. Частота распространения гемоконтактных гепатитов среди онкологических больных и медицинских работников онкологического стационара. ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

Инфекции, вызванные вирусами гепатитов В и С, занимают одно из ведущих мест среди всех вирусных инфекций, регулярно регистрируемых у больных, находящихся в клинических стационарах онкологического профиля. Целью исследования было установить частоту распространения вирусных гепатитов В и С среди онкологических больных и медицинского персонала онкологического стационара.

Исследовали сыворотки крови больных с различными онкологическими заболеваниями, госпитализированных в стационар ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ. Определяли серологические маркеры инфицирования вирусным гепатитом В (HbsAg) и вирусным гепатитом С (anti-HCV суммарные) с применением твердофазного варианта иммуноферментного анализа. Использовали наборы реагентов «Вектоген В-Hbs-антиген» и «Бест анти-ВГС», производства ЗАО «Вектор-

Бест» (Новосибирск). Окончательный результат учитывали после проведения подтверждающих тестов, основанных на нейтрализации специфическими антителами (для HbsAg) и выявлении IgG и IgM к индивидуальным белкам, кодируемым структурной (core) и неструктурной (NS3, NS4, NS5) областью генома ВГС.

Сыворотки крови отбирали у больных перед поступлением в стационар. Исследования проводили в период 2013–2015 г. Всего за 3 года на носительство HbsAg обследовано 30 378 больных, на наличие анти-ВГС (IgM и IgG) 29 725 больных. В этот же период в рамках осуществления периодических медицинских осмотров обследовали медицинский персонал клиники РНИОИ. Всего обследовано в 2013 г. 898, в 2014 г. 792, в 2015 г. 662 медицинских работника. Частота выявления HbsAg среди больных, поступающих на лечение составила 2,3% с колебаниями от 2,0 до 2,5% по годам. Анти-ВГС у больных в среднем были выявлены в 4,5% случаев (от 4,1 до 4,8%). Частота выявления HbsAg среди медицинского персонала составила 0,5%, в том числе среди персонала хирургических отделений 0,8%. Так же, как и среди пациентов, частота определения анти-ВГС среди медицинских работников была выше, чем уровень носительства HbsAg. В среднем за 3 года анти-ВГС были обнаружены у 1,7% медицинских работников, в том числе среди персонала хирургических отделений 2,2%. В целом частота выявления HbsAg среди онкологических больных в 4,6 раза превышала тот же показатель у медицинских работников, а частота выявления анти-ВГС в 2,6 раза.

С.Б. Карбышева¹, И.В. Жильцов², Л.Г. Григоричева¹, В.М. Семенов², И.С. Веремей², А.Г. Золоткина¹. **Определение D-лактата в синовиальной жидкости в дифференциальной диагностике бактериальных и небактериальных артритов и инфекции протезированных суставов.** ¹ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования», Минздрава РФ, Барнаул; ²УО «Витебский государственный медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

Своевременная диагностика бактериальных артритов (БА) и инфекций протезированных суставов (ИПС) затруднена, так как наблюдаемая при этом симптоматика во многом неспецифична, равно как и показания доступных в настоящее время диагностических тестов. В результате на этапе первичного диагноза частота диагностических ошибок достигает 20–30%. При этом поздняя диагностика инфекционного артрита может привести к снижению функции сустава и увеличению объема инфицированных тканей. В связи с этим представляется актуальным использование нового, высокочувствительного и доступного теста для ранней дифференциальной диагностики бактериальных и асептических артритов.

Цель: оценить эффективность определения концентрации D-лактата в синовиальной жидкости у пациентов с бактериальными артритом (в т. ч. с инфекцией протезированных суставов) и пациентов с асептическим воспалением (в т.ч. с нестабильностью компонентов эндопротезов) с целью ранней дифференциальной диагностики инфекционных и неинфекционных поражений суставов.

Исследование проведено у 104 пациентов, госпитализированных в ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» в 2015–2016 гг. Среди обследованных 51 пациент страдал бактериальным артритом и инфекцией протезированных суставов. Из них у 32 (63%, контрольная группа) в синовиальной жидкости были обнаружены микроорганизмы (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* и *F. magna*). У 53 пациентов диагноз бактериального воспаления сустава не был подтвержден, из них 45 (85%) страдали от артрозов и асепти-

ческой нестабильности компонентов эндопротезов (группа контроля), 8 (15%) – от ревматоидного и микрокристаллических артритов.

Уровень маркеров воспаления в сыворотке крови (лейкоциты, СОЭ, СРБ) и синовиальной жидкости (цитоз, % нейтрофилов) у пациентов из исследуемой группы был достоверно выше, чем у пациентов из группы контроля ($p < 0,001$). Средняя концентрация D-лактата в синовиальной жидкости также была достоверно выше ($p < 0,001$) – 0,48 и 2,28 мМоль/л соответственно. Установлена прямая корреляция средней силы между концентрацией D-лактата и уровнем цитоза ($r = 0,5$); также выявлена слабая корреляция между концентрацией D-лактата и уровнями СРБ и лейкоцитов крови ($r = 0,3$ и $r = 0,2$ соответственно).

В группе пациентов с бактериальными артритом с идентифицированным возбудителем уровень маркеров воспаления в сыворотке крови (лейкоциты, СОЭ, СРБ) и синовиальной жидкости (цитоз, % нейтрофилов) был сопоставим с результатами пациентов с бактериальными артритом и отрицательными микробиологическими исследованиями ($p > 0,05$). Средняя концентрация D-лактата так же была сопоставима ($p = 0,18$) – 2,28 и 2,03 мМоль/л соответственно.

У пациентов с ревматоидным артритом и микрокристаллическими артритом уровень маркеров воспаления в сыворотке крови (лейкоциты, СОЭ, СРБ) и синовиальной жидкости (цитоз, % нейтрофилов) был сопоставим с таковыми у пациентов из группы бактериального воспаления с отрицательным бактериологическим исследованием ($p > 0,05$), однако средняя концентрация D-лактата оказалась достоверно ниже ($p < 0,001$) – 0,55 и 2,28 мМоль/л соответственно.

Определение D-лактата в синовиальной жидкости у пациентов с бактериальным и асептическим воспалением, может успешно применяться с целью дифференциальной диагностики. Особое значение этот показатель имеет при отсутствии достоверной разницы клинических и лабораторных признаков воспаления у пациентов с ревматическим, микрокристаллическим поражением суставов и пациентов с инфекцией суставов с негативным бактериологическим посевом.

Л.А. Кафтырева. **Сальмонеллез как внекишечная инфекция.** ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург

Сальмонеллез – заболевания различной степени тяжести, обычно проявляющиеся диареей. Может быть бессимптомное течение. Нередко наблюдаются внекишечные формы, которые в Международной классификации болезней (МКБ-10) четко не обозначены и могут входить в разделы A02.1 Сальмонеллезная септицемия и A02.2 Локализованная сальмонеллезная инфекция. Обследование пациентов с диареей на сальмонеллез является распространенным бактериологическим исследованием, но редко назначается клиницистами при внекишечных формах. Тем не менее, внекишечный сальмонеллез имеет широкое распространение, регистрируется во многих странах, его доля в общей структуре сальмонеллезной инфекции может превышать 10,0%. В России внекишечный сальмонеллез регистрируется редко. Низкая частота выявления объясняется ограниченным использованием бактериологического исследования крови и мочи у больных с лихорадкой и диарейным синдромом. При септической форме сальмонеллеза практически в каждом органе или ткани могут возникать очаги гнойного воспаления. Факторами риска являются возраст заболевших (дети раннего возраста и взрослые старше 60 лет), наличие сопутствующих заболеваний (иммунодефицитные состояния, ВИЧ-инфекция, сахарный диабет, анемия и др.). Генерализованные формы отличаются продолжительной бактериемией и поражением различных органов и систем (мочевыводящие пути, органы брюшной полости, мягкие ткани, дыхатель-

ная, костно-суставная и сердечно-сосудистая системы, реже – центральная нервная система). Последствия бактериемии проявляются в инфицировании мочевыводящих путей, могут возникать септические артриты, остеомиелиты, а также гнойные менингоэнцефалиты, при которых летальность достигает 80%. «Золотым стандартом» лабораторной диагностики сальмонеллезом считается бактериологическое исследование проб биоматериала с последовательным применением жидких селективных сред обогащения и дифференциально-диагностических плотных питательных сред с дальнейшей идентификацией выделенных штаммов по ферментативной и антигенной характеристике (МУ 4.2.2723-10). Определение чувствительности к антимикробным препаратам – заключительный этап клинической лабораторной диагностики. Иммунохроматографическая детекция возбудителя и амплификация нуклеиновых кислот относятся к наиболее оперативным методам прямой детекции сальмонелл в пробах биоматериала. Перечисленные методы широко применяют при диагностике ОКИ сальмонеллезной этиологии и, практически не используются при внекишечных формах сальмонеллезов. Серодиагностика, основанная на выявлении антител в РПГА, используется в качестве вспомогательного теста.

В.Т. Климов¹, М.В. Чеснокова, Т.В. Каримова². Оптимизация алгоритма лабораторной диагностики иерсиниозов. ¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Иркутск; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области», Новосибирск

Для увеличения частоты и спектра выделения энтеропатогенных иерсиний (*Yersinia pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*) при проведении микробиологического мониторинга предложен алгоритм лабораторного исследования с учетом ПЦР и масс-спектрометрии. Все лабораторные исследования на иерсинии, проводимые по оптимизированной нами схеме, включали: 1) холодное обогащение при +4 – +6°C в течение 2 дней; 2) мультиплексную ПЦР (электрофоретический вариант) на *Y. enterocolitica* с праймерами на ген адгезии/инвазии (*ail-16SrRNA*) и на *Y. pseudotuberculosis* с праймерами на ген инвазивности (*inv*) и (или) использование метода real-time ПЦР с тест-системой «*Y. enterocolitica/pseudotuberculosis* – FL» («Ампли-Сенс») с гибридационно-флуоресцентной детекцией; 3) посев, в случае положительной ПЦР, на среду с бромтимоловым синим (БТС) с инкубацией 48 ч при 37°C; 4) визуальный отбор характерных колоний с детекцией на MALDI-TOF MS с последующим высевом положительных колоний на щелочной агар (28°C 24 ч); 5) проведение общепринятых дифференциально-диагностических тестов и расширенной идентификации выделенных штаммов – ПЦР О-серогенотипирование *Y. pseudotuberculosis*; наличие генов, детерминирующих факторы патогенности энтеропатогенных иерсиний (*inv*, *HPI*, *YAPI*, *pYV*, *urp*, *ail*, *yst A*, *yst B*); био- и серотипирование *Y. enterocolitica*; изучение плазмидного спектра штаммов; генотипирование (*VNTR*, *PFGA*, секвенирование). При наличии положительной ПЦР и отрицательных бактериологических высевок, проводили второй (на 2–3 сутки). При двукратном отрицательном ПЦР анализе дальнейшее бактериологическое исследование прекращали.

Н.И. Ковалевич¹, Н.С. Саркисян¹, И.В. Санникова¹, О.В. Махия². Особенности цитокинового статуса у больных острым бруцеллезом до и после проведения антибактериальной терапии. ¹ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь; ²«Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь

Бруцеллез является широко распространенным инфекционно-аллергическим заболеванием с длительной персистенцией возбудителя и стертой клинической картиной. Существующие методы диагностики и прогноз течения

заболевания имеют ряд недостатков, поэтому актуальной задачей является поиск надежных, малоинвазивных методов выявления биомаркеров крови. В качестве биомаркеров могут выступать цитокины, непосредственно участвующие в иммунопатогенезе бруцеллеза.

Целью исследования явилось определение уровня провоспалительных цитокинов: ИЛ-12, ИЛ-8 и ИФН- γ , белков острой фазы воспаления – неоптерина и липополисахарид-связывающего белка (ЛПС-белок) в сыворотке крови больных острым бруцеллезом до и после проведения антибактериальной терапии.

Объектом исследования послужил клинический материал от 32 пациентов с лабораторно подтвержденным диагнозом – «Острый бруцеллез», поступивших в отделение по диагностике, лечению и экспертизе профпатологии бруцеллеза ГБУЗ СК «Городская клиническая больница № 2» г. Ставрополя. Диагноз бруцеллез устанавливался на основании данных эпидемиологических, клинических и лабораторных исследований. Группу сравнения составили здоровые люди ($n = 20$). Методом твердофазного иммуноферментного анализа было проведено определение уровня ИЛ-12, ИЛ-8, ИФН- γ , неоптерина и ЛПС-белка в сыворотке крови. Для статистического анализа использовали Т-критерий Уилкоксона (до и после лечения) и *t*-критерий Стьюдента. Определение изучаемых показателей проводили до и после проведения курса антибиотикотерапии. Терапия проводилась в течение 6 недель, в схеме доксицилин и рифампицин.

В ходе проведенного анализа у больных острым бруцеллезом до приема антибиотикотерапии уровень ИЛ-12 составил $25,66 \pm 0,72$ пг/мл, что ниже ($p < 0,05$) показателя в группе здоровых людей ($31,75 \pm 0,72$ пг/мл). После лечения уровень ИЛ-12 не изменился. Уровень ИЛ-8 до лечения значительно ($p < 0,05$) превысил показатель в контрольной группе ($4,33 \pm 0,8$ пг/мл) и составил $8,66 \pm 0,59$ пг/мл. После лечения антибиотиками уровень ИЛ-8 оставался высоким ($8,76 \pm 0,96$ пг/мл). Концентрация ИФН- γ в сыворотке крови больных до проведения терапии значительно превышала показатели в контрольной группе ($3,35 \pm 0,6$ пг/мл), составляя $18,22 \pm 5,03$ пг/мл ($p < 0,05$). После завершения курса антибактериальной терапии значения были в пределах референсных ($7,19 \pm 3,03$ пг/мл; $p > 0,05$).

У больных острым бруцеллезом до лечения антибиотиками уровень ЛПС – белка составил $52,2 \pm 0,77$ пг/мл, а после курса антибиотикотерапии – $50,79 \pm 0,78$ пг/мл, ($p < 0,05$). Уровень неоптерина в сыворотке крови больных бруцеллезом до начала специфической терапии составил $21,01 \pm 3,6$ нмоль/л, после лечения снизился до $13,69 \pm 3,39$ нмоль/л ($p < 0,05$). В результате проведенных исследований наиболее информативные показатели цитокинового статуса: неоптерин, ЛПС-белок, ИФН- γ .

Таким образом, комплексная оценка цитокинового статуса (ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-18) и белков острой фазы воспаления (неоптерина и ЛПС-белка) при течении бруцеллеза позволит получить ценную информацию для возможности прогноза течения инфекции, мониторинга эффективности терапии.

С.С. Козлов. Методы лабораторной диагностики кишечных паразитозов. Плюсы и минусы. ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Наиболее высокий регистрируемый уровень заболеваемости кишечными паразитозами в России приходится на энтеробиоз, лямблиоз и аскаридоз. Спектр используемых диагностических методов и приемов в последние годы существенно расширился и включает макро- и микроскопические методы, серологические и молекулярно-биологические, а также метод культивирования и биопроб. Последние два используются крайне редко и, в основном, в научных целях.

Каждый из методов имеет свои сильные и слабые стороны. Для микроскопического метода сильной стороной является отсутствие необходимости в проведении дополнительных исследований при визуальной идентификации паразита. Слабой стороной – субъективизм в правильной оценке нарушенного объекта, в результате чего могут регистрироваться как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты. Серологические методы диагностики кишечных паразитозов, в частности аскаридоза и лямблиоза, характеризуются столь низкими показателями чувствительности и специфичности, что не позволяют при его использовании подтвердить или исключить соответствующий диагноз. Молекулярно-биологические методы исследования фекалий на основе ПЦР обладают высокой специфичностью и чувствительностью, однако дают часто ложноположительные результаты ввиду появления в испражнениях транзитных яиц гельминтов или цист простейших, а технические трудности в пробоподготовке исходного материала нередко приводят к ложноотрицательным результатам. Таким образом, микроскопические методы остаются ведущими в лабораторной диагностике кишечных паразитозов. Их грамотное использование с различными вариантами пробоподготовки (использование методов эфир-формалинового осаждения, методов флотации и др.) в совокупности с повторными исследованиями позволяют с высокой долей вероятности подтвердить или отвергнуть диагноз того или иного кишечного паразитоза.

О.И. Кречикова. Неизвестное о стрептококках. НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск

Стрептококки – гетерогенная группа, объединенная в род *Streptococcus*, который включает авирулентные и патогенные виды, способны вызывать инфекции дыхательных путей, кожи и мягких тканей, тяжелые системные инфекции и др. До недавнего времени наиболее известными в клинической и лабораторной практике среди β-гемолитических стрептококков были *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, среди зеленящих – *S. pneumoniae*, выделение и идентификация которых не представляет затруднений. При диагностике тонзиллофарингитов в 3% случаев выделяются *S. dysgalactiae subsp. equisimilis (SDSE)*, 12% случаев осложненных инфекций кожи и мягких тканей были связаны с *SDSE*. Это позволяет предположить значительную этиологическую роль *SDSE* при заболеваниях человека. *SDSE* может быть выделен при тех же инфекциях, при которых выделяется *S. pyogenes*: тонзиллофарингитах, инфекциях кожи и мягких тканей (абсцессы, осложненные флегмоны, некротизирующий фасциит, целлюлит), артритах, остеомиелите, сепсисе и др. Штаммы *SDSE* имеют Лэнсфильд групповой антиген С или G, на кровяном агаре формируют крупные колонии с большой зоной β-гемолиза, идентичные по морфологии колониям *S. pyogenes*. Подобно *S. pyogenes* содержат факторы вирулентности: М-белок, стрептолизины О и S, продуцируют стрептокиназу, гиалуронидазу и др. Значимая особенность *SDSE* – резистентность к бацитрацину. Величина колоний, β-гемолиз и наличие полисахаридного группового антигена С или G характерно для *SDSE*, но требуется видовая идентификация и дифференциация *SDSE* от *S. dysgalactiae subsp. equi*, *S. dysgalactiae subsp. zoopidermidis*, *S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae* и *S. canis*, которые выделяются от домашних животных и не патогенны для человека. При исследовании крови пациентов выделяли *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. infantis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. peroris*, *S. parasanguinis*; при абсцессах головного мозга, остеомиелите, коксартрозе, холецистите, мезотимпаните – *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius* и анаэробные бактерии. Пробы биоматериала засеивали на агары: кровяной (основа Blood agar base, OXOID), шоколадный, для анаэробов с кровью (основа Anaerob agar base, OXOID), термостати-

ровали параллельно в атмосфере с 5% CO₂ и в анаэробных условиях не менее 48 часов. В первом случае – рост отсутствовал, в анаэробных условиях отмечался рост в 10–20% проб. Материал из стерильных локусов засеивали во флаконы для крови (ВАСТЕС) с питательными добавками – сыворотка крови + гемин и никотон-аденин динуклеотид (BD ВАСТЕС FOS). Идентификацию проводили на анализаторе Microflex («Bruker Daltonics», Германия). Гетерогенная группа зеленящих стрептококков – важная часть нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного и генитального трактов человека. По способности вызывать заболевания можно выделить 2 группы: – стрептококки с низкой вирулентностью, за исключением *S. pneumoniae*, и стрептококки, вызывающие инвазивные гнойные инфекции (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), объединенные в группу *S. anginosus* (ранее *S. milleri group*). Часто при эндокардитах выделяются стрептококки, объединенные в группы: 1. *S. mitis group* (*S. mitis*, *S. peroris*, *S. pneumoniae*, *S. sanguinis*, *S. parasanguinis*, *S. gordonii*, *S. cristatus*, *S. oralis*, *S. infantis*); 2. *S. mutans group*: (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. macaccae*); 3. *S. salivarius group*: (*S. salivarius*, *S. vestibularis*).

Физиологические особенности стрептококков, высокие питательные потребности, необходимость разнообразных условий культивирования делают затруднительной лабораторную диагностику стрептококковых инфекций. Необходимы теоретические знания, практические навыки и соответствующее оснащение – приборы для создания анаэробных условий культивирования, высококачественные и разнообразные питательные среды, анализаторы для видовой идентификации.

Н.А. Кузнецова. Анизоморфны спинномозговой жидкости в диагностике нейросифилиса. ГБУЗ МО «Московский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Москва

В настоящее время наряду со снижением общей заболеваемости сифилисом отмечается увеличение количества случаев его осложненной формы – нейросифилиса. Такая ситуация возникла в результате резкого увеличения заболеваемости населения сифилисом в 90-е годы прошлого столетия. В связи с этим появление случаев поздних форм нейросифилиса, в частности паренхиматозных, и своевременная их диагностика становится актуальной проблемой.

Недостаточная чувствительность современных серологических тестов, подтверждающих инвазию бледной трепонемы в структуры нервной системы и отсутствие патологических сдвигов показателей общеклинического исследования спинномозговой жидкости (СМЖ), создают патовую ситуацию у клиницистов. В результате отсутствия диагностических критериев при постановке диагноза нейросифилиса и назначении своевременной адекватной терапии решающим фактором является лишь опыт дерматовенеролога.

В настоящей работе методом клинической деградации биологических жидкостей (новая диагностическая технология «Литос-система») изучены особенности морфологических структур (анизоморфонов) цереброспинальной жидкости у 168 пациентов, которые в предыдущие годы получали лечение по поводу разных форм сифилиса. Из них, у 61 пациента с диагнозом нейросифилиса и резкоположительными результатами трепонемных тестов как в сыворотке, так и в СМЖ, при цитозе до 29 клеток и нормальной концентрации белка морфологический состав СМЖ был представлен специфическими дегенеративно-дистрофическими структурами, свидетельствующими о повреждении бледной трепонемой тканей головного мозга. Из 44 больных, у которых диагноз нейросифилиса по результатам лабораторных исследований нельзя было подтвердить, не опровергнуть (положительные специфические тесты в сыворотке крови и слабополо-

жительные в СМЖ при нормальной концентрации белка и количестве клеточных элементов), у 27 пациентов морфологическая картина СМЖ соответствовала позднему менинговаскулярному нейросифилису, у остальных 17 пациентов данные признаки отсутствовали. Из остальных 63 пациентов, которым нейросифилис не выставлен, с положительными результатами трепонемных тестов в сыворотке крови и отрицательными в СМЖ, у 8 пациентов определялись анизоморфоны, характерные для позднего менинговаскулярного нейросифилиса. У остальных 55 пациентов отсутствовали признаки деструкции ткани мозга.

Таким образом, морфологическое исследование анизоморфонов спинномозговой жидкости методом краевой дегидратации у пациентов с сифилисом в анамнезе, может служить дополнительным критерием диагностики нейросифилиса.

В.М. Лахтин, А.Л. Байракова, М.В. Лахтин, С.С. Афанасьев. Анализ постгеномного риска патогенности групп клинических штаммов стафилококков городской популяции. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского», Москва

Предложен подход к оценке риска патогенности (РП) групп клинических штаммов стафилококков городской популяции пациентов (ПП), наблюдавшихся в КДЦ при МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского.

1. Пул *Staphylococcus epidermidis* (43 штамма) разделили на 8 групп (по 5–6 штаммов) по выраженности антибиотикорезистентности (к 1–5 дисковым антибиотикам, I–V соответственно по мере возрастания РП) к 8 использованным в терапии антибиотикам (1 – цефазолину, 2 – цефамоксину, 3 – доксициклину, 4 – спирамицину, 5 – кларомероцину, 6 – ампицилину, 7 – азитромицину), 8 – рокситромицину.

2. ПП и группы (проведена оценка достоверности различий) характеризовались снижением чувствительности в рядах:

ПП: 1, 2 > 3 > 4 > 5, 6 > 7 > 8;

Ia: 1 > 2 > 3, 7, 8 > 5 > 4 > 6*, *-частичная резистентность (ЧР) в подгруппе;

Iб: 2, 1 > 3 > 8 > 5 > 4, 7 > 6*;

Iв: 6 > 1 > 2 > 3, 4 > 5 > 7 > 8**, **-полная резистентность (ПР);

Iг: 5 > 2 > 1, 3 > 4 > 6 > 8 > 7**. При сравнении I с ПП по мере возрастания РП наблюдался сцепленный характер изменений блочной чувствительности в I (регистрировалось смещение чувствительных блоков в подгруппах I в сторону ЧР и ПР). По этому критерию относительное возрастание РП в подгруппах I оценивается как: Ia > Iб > Iв > Iг.

IIa: 1 > 4 > 2 > 7 > 3 > 5 > 6* > 8**;

IIб: 2 > 1 > 6 > 3 > 7* > 4* > 5**, 8**. В II резко нарушена последовательность ранжирования ПП при сравнении с I, что в еще большей степени, чем в I, указывает (является критерием) на возрастание РП в случае II.

IV: 2 > 1 > 4 > 3 > 5**, 6**, 7**, 8**. V: 2 > 1 > 4 > 3**, 5**, 6**, 7**, 8**. Группы IV и V включают штаммы с максимальным РП.

Результаты демонстрируют полезность предложенного подхода для прогностико-диагностической экспресс-оценки постгеномного РП групп клинически значимых изолятов условно-патогенных микроорганизмов популяции городского контингента.

М.В. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.М. Лахтин, В.А. Алешкин. Кофункциональное лектинов пробиотических бактерий: потенциал для клинической и лабораторной медицины. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского», Москва

К лектинам относятся белковые структуры и комплексы, обратимо распознающие углеводы и гликоконъюгаты (ГК). Лектины пробиотических бактерий (ЛПБ) – имитаторы дей-

ствия клеточных пробиотиков, участники чувства кворума и кросс-токинга, члены функционального суперсемейства лектинов симбиотических микроорганизмов, представители нового класса бактериоцин-подобных деструкторов биопленок эукариотических патогенов. ЛПБ являются важной составляющей биотопа слизистой открытых полостей организма, поддерживающей здоровый баланс. Для ЛПБ (лектинов бифидобактерий и лактобацилл: ЛБ и ЛЛ) характерны наличие системных форм (мажорных и минорных, поверхностно-клеточных и секретированных, распознающих аналоги полисахаридов и гликоантигенов); кофункциональное с полисахаридами, биосурфактантами, гликозаминогликанами и другими ГК, антителами, оксидоредуктазами, протеиназами, фитолектинами, цитокинами, антибиотиками, макрофагами, лимфоцитами, рассасывающими цитоагглютинаты агентами, катионами металлов. ЛПБ способны находить мишени в смесях, характеризуются дистанционным действием, проявляют свойства антагонистов адгезинов грибов, инициируют направленные надмолекулярные сборки и регулируют их (ориентируют, переключают, супрессируют и экспрессируют активности в лектиновых ансамблях), участвуют в каскадных реакциях и процессах. Благодаря различающимся механизмам действия ЛПБ при сравнении с другими агентами, ЛБ и ЛЛ проявляют синергистические свойства не только при совместном действии, но также при действии с перечисленными выше агентами в отношении наборов гликоконъюгатных мишеней (твердофазных и растворимых, полимерных и сцепленных с клетками, ориентированных в пространстве, маскированных и демаскированных, с варьирующим средством к формам систем ЛПБ).

К новым стратегиям реализации потенциала ЛБ и ЛЛ относится их кофункциональное с пробиотиками (и пробиотическими штаммами микроорганизмов), индигенной полезной микробиотой синбиотопов открытых полостей организма.

ЛПБ могут найти применение в клинической и лабораторной медицине при исследовании адгезии и направленных сборок на сенсibilизированных пластиковых (полистирольных и пропиленовых) и мембранных (гидрофобных и гидрофильных) и поверхностно-клеточных покрытиях; при использовании твердых и жидких питательных сред, микропанелей (круглодонных и плоскодонных); при работах с суспензиями и массивами сорбированных клеток крови, пробиотических и условно-патогенных микробов (в монокультурах и смесях). В целом, результаты отражают стратегический потенциал использования ЛПБ для профилактики и терапии инфекционных болезней.

Н.И. Леонтьева, Н.М. Грачева, В.С. Филиппов, Е.И. Лиханская, И.Т. Щербаков, А.И. Соловьева. Клинико-патогенетические аспекты криптоспориоза, современные методы лабораторной диагностики и лечения. ФБУН «Московский НИИ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Цель исследования: выявить клинико-патогенетические особенности современного течения криптоспориоза, предложить наиболее эффективные методы диагностики и лечения.

В условиях инфекционного стационара наблюдались 266 пациентов в возрасте 18–50 лет с ОРВИ, осложненными развитием бактериальной инфекции. Основную группу составили 66 пациентов, получавших пробиотики разных групп (бифидумбактерин, лактобактерин, хилак форте) в терапевтической дозе 15 дней, группа сравнения (99) – стандартную терапию в те же сроки. Оценка эффективности пробиотиков осуществлялась по срокам исчезновения интоксикации, диспептических явлений, диарейного синдрома. В работе использовался комплекс исследований: бактериологические,

микроскопические (выявление ооцист классическим микроскопическим методом модифицированной окраски мазков фекалий по Циллю-Нильсену), иммунохроматографический (качественное определение антигенов иммунохроматографическим методом RIDA®Quick *Cryptosporidium parvum*), иммунологический (определение *Cryptosporidium Antigen* (Stool) ELISA); инструментальный (колоноскопия); гистологический (со взятием колонобиоптатов). Среди наблюдаемых пациентов отмечались только больные кишечной формой (латентная и с кишечными проявлениями), у которых отмечались умеренные диспептические явления с диарейным синдромом и непродолжительные явления интоксикации.

Клинико-лабораторные наблюдения за 266 пациентами с ОРВИ, осложненными бактериальной инфекцией, выявили в 26,19% криптоспориоз. Частота обнаружения криптоспоридий в кале одновременно тремя методами составила 26,19% (67 пациентов); микроскопический метод позволил диагностировать в 16,92% (45 пациентов); иммунохроматографический метод в 11,65% (31 пациент); иммуноферментный анализ в 9,8% (26 пациентов). Совпадение положительных результатов обследования одновременно тремя методами составило 20,89%, двух методов – 42,63%, а у 4 пациентов криптоспоридии диагностировали только методом ИФА. У всех обследуемых пациентов были выявлены дисбиотические нарушения в микрофлоре кишечника (ДК II–III степени в 97,85%).

Использование пробиотиков в стандартных дозах показало положительный эффект на сроки исчезновения интоксикации, диспептических явлений и нормализацию стула. Клинико-морфологический анализ колонобиоптатов выявил исчезновение криптоспоридий из пристеночной микрофлоры.

Таким образом, клинико-лабораторные наблюдения за 266 пациентами с инфекционными заболеваниями выявили в 26,19% криптоспориоз; в клинической картине преобладали пациенты с латентными кишечными формами заболевания; анализ сравнительного использования применяемых методов показал большую эффективность микроскопического метода диагностики криптоспориоза. Для повышения частоты выявления криптоспоридий целесообразны дополнительные методы диагностики – иммунохроматографический экспресс-метод (особенно на вспышках) и ИФА, гистологический (при дифференциальной диагностике заболевания); в связи с наличием дисбиотических нарушений в микрофлоре целесообразно включать в комплекс лечебных мероприятий пробиотические препараты, что позволит повысить эффективность лечения, сократить сроки санации от возбудителя и удешевить лечение.

Л.Н. Лухверчик¹, Г.И. Алаторцева¹, Л.Н. Нестеренко¹, Р.А. Бурханов², А.С. Оксанич². **Результаты сравнительного определения суммарных антител к антигенам *TREPONEMA PALLIDUM* с использованием новой иммуноферментной тест-системы.** ¹ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва; ²ЗАО «БТК Биосервис», Москва

Несмотря на снижение заболеваемости сифилисом в последние годы на территории РФ, одной из актуальных проблем дерматовенерологии остается ранняя диагностика данной инфекции, поскольку наблюдается изменение ее структуры в сторону увеличения скрытых форм инфекции – как ранних, так и поздних.

Нами разработана тест-система для определения суммарных антител (иммуноглобулинов классов G, M и др.) к антигенам *T. pallidum* в сыворотке/плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на основе рекомбинантных белков – аналогов липопропротеидов *T. pallidum*: Trp15, Trp17, Trp47, TmpA из коллекции ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

Тест-система создана в формате одностадийного твер-

дофазного «сэндвич» – ИФА. Для этого на внутренней поверхности лунок разборных 96-луночных планшетов адсорбировали смесь рекомбинантных антигенов (АГ) *T. pallidum*: Trp15; Trp17; TmpA; Trp47. При внесении анализируемых образцов в лунки антитела (АТ) связывались с АГ на их поверхности. Образовавшийся комплекс выявляли с помощью конъюгата рекомбинантных АГ (Trp15; Trp17; TmpA и Trp47) с пероксидазой хрена. В качестве хромогена использовали 3,3',5,5'-тетраметилбензидин.

Для оценки содержания суммарных АТ к *T. pallidum* было определено пороговое значение оптической плотности (ОП cut off) по результатам тестирования 145 отрицательных донорских образцов с помощью статистического метода построения характеристической кривой (ROC-curve).

Диагностическую чувствительность и диагностическую специфичность оценивали с использованием контрольных панелей сывороток крови человека, содержащих и не содержащих суммарные антитела к *T. pallidum*, от различных производителей – «Сыворотки контрольные для диагностики сифилиса» (ЗАО «ЭКОлаб», кат. № 03.10), «Антипаллидум – контрольная панель сывороток» (ЗАО «Вектор-Бест», кат. № D-1840), «Стандарт АТ (+/-) *T. pallidum*» (ЗАО «МБС», кат. № LBS-24). По результатам испытаний диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность разработанной тест-системы составили 100% соответственно.

Сравнительные испытания проводили на 164 образцах положительных сывороток, предварительно протестированных в наборе реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к *T. pallidum* «РекомбиБест антипаллидум – суммарные антитела» производства ЗАО «Вектор-Бест» (кат. № D-1856). Для корректного сравнения результатов ИФА для каждого исследованного образца были рассчитаны коэффициенты позитивности – КП (соотношение ОП образца/ ОП cut off) в разработанной тест-системе и наборе реагентов «РекомбиБест антипаллидум – суммарные антитела». Сравнительный анализ показал, что среднее значение КП в нашей тест-системе составило 11,82 против 6,96 – в тест-системе сравнения. Около 70% ($n = 114$) образцов различались по величине КП не более чем в 2,5 раза. 24% ($n = 40$) сывороток, исследованных в двух тест-системах, имели различия по КП в 2,5 и более раза, при этом в нашей тест-системе у большинства образцов значение КП было выше.

В то же время 10 сывороток (6,1%), определенных как положительные в наборе реагентов «РекомбиБест антипаллидум – суммарные антитела», в нашей тест-системе выявлены как отрицательные. Для подтверждения результатов анализа данные сыворотки дополнительно исследовали методом иммуноблотинга с помощью набора реагентов «Трепонема-Блот» производства ЗАО «БТК Биосервис» (кат. № E-0411). Полученные результаты показали, что исследуемые сыворотки не содержат антител к антигенам *T. pallidum*.

Таким образом, результаты сравнительных испытаний позволяют сделать вывод о том, что разработанная тест-система является высокоспецифичной, чувствительной и перспективной для применения в скрининговой серодиагностике сифилиса.

М.А. Макарова. **Эшерихиозы как внекишечная инфекция.** ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург

Escherichia coli является одной из хорошо изученных энтеробактерий. По набору факторов патогенности их разделяют на три группы: непатогенные комменсалы; возбудители кишечной инфекции – диареогенные (DEC); и вызывающие заболевания внекишечной локализации (ExPEC). *E. coli*, вызывающие инфекции внекишечной локализации, так же как и диареогенные, подразделяются на 3 «патогруппы»: MNEC – менингеальные; SPEC – септицемические и UPEC – уропа-

тогенные. Известно, что штаммы UPEC, часто обнаруживают в фекальной микробиоте здоровых людей, которая является основным источником возбудителей инфекций мочевыводящих путей (ИМП). К уропатогенным относят штаммы *E. coli* различных серологических групп: O1, O2, O4, O6, O20, O25, O75, O78 и др. За последние десять лет в Санкт-Петербурге и Ленинградской области штаммы *E. coli* серогруппы O6 занимали ведущее место в этиологии регистрируемых ОКИ эшерихиозной этиологии и составляли от 30,4 до 40,3%. Тем не менее они часто выделяются от здоровых лиц (без признаков ОКИ). Эта серологическая группа характеризуется большим разнообразием серовариантов. Штаммы *E. coli* O6:K15:H16 являются типичным представителем ETEC (энтеротоксигенные), продуцирующим энтеротоксины и вызывающим «холероподобные» диареи. К STEC (Шига-токсин продуцирующие) относятся *E. coli* O6:H1, O6:H3, O6:H34 и O6:H?. Штаммы *E. coli* O6:K1, O6:K2:H1, O6:K13:H1, O6:K53:H1, O6:K53:H-, O6:K53:H7, O6:K14:H31, O6:K5:H-, O6:K2:H7, O6:K54:H10, O6:K15:H31, O6:K2:H7, O6:K:H49 вызывают заболевания внекишечной локализации у человека и часто выделяется от животных (кошек и собак). Три серологических варианта O6:K:H10, O6:K:H34 и O6:K:H49 являются комменсалами и не способны вызывать патологические изменения со стороны ЖКТ и других органов не только у человека, но и у животных. Штамм *E. coli* O6:K5:H1 используется как основа пробиотического препарата «Мутафлор». Результаты лабораторной диагностики, основанные на ограниченном числе фенотипических тестов, не позволяют с уверенностью оценить этиологическую значимость штаммов *E. coli* с учетом их серологической принадлежности к определенной серогруппе. Нами были изучены штаммы *E. coli* O6 ($n = 119$), выделенные из проб фекалий здоровых людей. Установлено, что штаммы, идентифицируемые в настоящее время как возбудители ОКИ, не имели генов вирулентности диареогенных *E. coli*. В то же время в геноме этих штаммов присутствовали гены вирулентности уропатогенных *E. coli*: гены *pap* и *sfa*. Из-за неполного типирования антигенной структуры или факторов вирулентности в практических лабораториях классические уропатогенные штаммы *E. coli* O6 принимали за диареогенные. Из этого следует, что уровень заболеваемости ИМП зависит от длительно персистирующих в кишечнике человека штаммов *E. coli*, способных при определенных условиях вызывать ИМП за счет наличия у них специфических факторов вирулентности. Таким образом при бактериологической диагностике заболеваний различной локализации, вызванных *E. coli* O6, для обоснования истинной этиологической роли клинически значимых штаммов целесообразно идентифицировать до уровня серовара (определять O-, K- и H- антигены), а также определять ведущие факторы вирулентности. Накопленные в настоящее время данные свидетельствуют о необходимости пересмотра принципов лабораторного типирования эшерихий: включения на первом этапе определения маркеров вирулентности (их генетических детерминант) с последующим серотипированием для обоснования этиологической роли.

М.Е. Малышев, Л.П. Пивоварова, О.Б. Арискина, И.В. Оситова, Т.Г. Хабирова. **Ранние лабораторные критерии развития тяжелого сепсиса при сочетанной травме.** ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург

Инфекционные осложнения при сочетанной травме, определяемая ими летальность в разные сроки постшокового периода, их прогнозирование и своевременная диагностика остаются важной научной и клинической проблемой. Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью поиска ранних иммунологических критериев развития гнойных осложнений при сочетанной травме, что будет спо-

собствовать своевременной диагностике тяжелого сепсиса у данной категории больных и началу адекватной терапии.

Обследовано 88 пострадавших с сочетанной механической травмой и шоком II и III степени (возраст – 34,8 (28,5; 43,5 лет), находившихся на лечении в отделении сочетанной травмы ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе». В соответствии с величиной критерия $\pm 1/T$, разработанного в «СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», отражающего длительность периода нестабильной гемодинамики, в зависимости от тяжести травматического шока пострадавшие были разделены на 2 группы: 1) с шоком II степени (продолжительность шока более 7 часов ($n = 46$) и 2) с шоком III степени (пострадавшие с прогнозируемым летальным исходом ($n = 42$)). Развитие ССВО, сепсиса и тяжелого сепсиса определяли по наличию признаков, представленных в рекомендациях Калужской согласительной конференции (2004). Исследование крови пострадавших проводили при поступлении в противошоковое отделение через 24 часа, на 3, 5, 10 сутки после травмы.

Развитие смешанной гипоксии при сочетанной травме сопровождается отчетливым угнетением гуморального иммунного ответа и обуславливает усиление оксидантной активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ). Через 12 ч после поступления у пациентов с шоком III степени тяжести мы наблюдали 3-кратное увеличение хемилиуминесценции гранулоцитов в сочетании с заметным уменьшением (в 1,5 раза) антиоксидантной активности крови, что свидетельствовало о нарушении баланса в системе оксиданты-антиоксиданты и развитии оксидативного стресса. При этом функциональная активность НГ недостаточна для адекватного бактерицидного ответа, что подтверждается снижением у больных с шоком III степени количества Def⁺НГ в крови до 10 суток после травмы.

При поступлении в противошоковое отделение в крови пострадавших мы наблюдали повышенные уровни в крови IL-6 и IL-10 (в 20 раз и выше по сравнению с нормой). По результатам ROC-анализа для диагностики тяжелого сепсиса хорошую предсказательную ценность имеет концентрация IL-6 (выше 232 пг/мл) и IL-10 (выше 130 пг/мл) в крови при поступлении пострадавших в стационар. Также в крови пострадавших увеличивалось содержание IL-8 и IL1ra, причем у пострадавших с шоком III степени концентрация данных цитокинов была существенно выше, чем у здоровых волонтеров и у пациентов с шоком II степени на протяжении всего срока наблюдения.

У всех пациентов с сочетанной травмой было снижено количество CD14⁺ мононуклеаров, в особенности у пациентов с шоком III степени (вплоть до 10 суток), что являлось одним из важных условий генерализации бактериальной инфекции у данной категории больных и развития тяжелого сепсиса. Количество HLA-DR⁺ мононуклеаров сохранялось на нормальном или повышенном уровне, причем на 5 сутки содержание HLA-DR⁺ мононуклеаров коррелировало с развитием тяжелого сепсиса ($r = 0,44, p < 0,05$).

Таким образом, предикторами развития тяжелого сепсиса у пациентов с сочетанной травмой в первые 12 часов после травмы явились: повышение уровня IL-6 (в 25 раз и более), IL-10 (в 50 раз), IL1ra (в 12 раз) и снижение содержания в крови Def⁺ нейтрофильных гранулоцитов (в 4 раза). Высокочувствительным тестом бактериальной диссеминации у пациентов с тяжелым сепсисом явилось увеличение содержания в крови HLA-DR⁺ клеток на 5 сутки после травмы. Применение вышеперечисленных лабораторных показателей в клинической практике позволит предсказать развитие тяжелого посттравматического сепсиса уже в течение 12 ч после инцидента и начать предупредительную терапию прогнозируемого сепсиса с 1 суток после травмы.

Л.М. Масыгутова, А.И. Слепцова, Л.Г. Гизатуллина, Б.Р. Гарифуллин. **Индивидуальный подход к проведению иммунологического обследования у работников животноводческого комплекса.** ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа

Условия труда на современных предприятиях современного сельскохозяйственного производства не исключают неблагоприятного влияния на организм работников ряда производственных факторов. Совокупность длительного воздействия неблагоприятных факторов воздуха рабочей зоны, даже на уровне предельно-допустимых концентраций, повышает риск формирования патологических состояний различных органов и систем. В проведенных ранее исследованиях показано, что микробная обсемененность воздуха рабочей зоны в помещениях предприятий агропромышленного комплекса может стать причиной развития хронических иммунозависимых воспалительных заболеваний. Повысить качество оказания медицинских услуг населению, занятому в сельскохозяйственном производстве, можно путем совершенствования методов управления лечебно-диагностическим процессом на основе эффективного прогнозирования и ранней диагностики заболеваний, вызываемых профессиональной деятельностью. Своевременное выявление работающих, нуждающихся в более глубоком исследовании показателей иммунной системы, будет способствовать формированию рациональных схем организации лечебно-оздоровительных мероприятий.

Цель работы: разработать методику формирования групп работающих, нуждающихся в более глубоком исследовании показателей иммунной системы, с целью формирования рациональных схем организации профилактических мероприятий.

Для решения поставленной задачи:

1. определяют общее количество микроорганизмов, находящегося в 1 м³ воздуха в рабочей зоне (выраженное в значении общего микробного числа (ОМЧ на 1 м³);
2. проводят медицинский осмотр работающего контингента, согласно нормативным документам;
3. исследуют показатели общего анализа капиллярной крови с подсчетом процентного соотношения клеточного состава периферической крови. Рассчитывают индекс аллергии и индекс иммунореактивности (ИИР). При значении ОМЧ менее 500 КОЕ/м³, отсутствии ХИВЗ, значении ИА менее 1,08 усл. ед., значении ИИР менее 13 усл. ед. считают целесообразным проведение иммунологического исследования. При значении ОМЧ 500–2500 КОЕ/м³, выявлении одного ХИВЗ, значении ИА 1,08–1,3 усл. ед., значении ИИР 13,1–15,7 усл. ед. считают целесообразным проведение иммунологического исследования тестами первого уровня. При значении ОМЧ более 2500 КОЕ/м³, наличии не менее двух ХИВЗ, значении ИА 1,4–1,5 усл. ед., значении ИИР 15,8–18,3 усл. ед. считают целесообразным проведение иммунологического исследования тестами второго уровня.

Тактику лечебно-профилактических мероприятий строят согласно полученным результатам обследования. Предлагаемый способ легко воспроизводим в условиях периодических медицинских осмотров больших групп работников животноводческого комплекса, работающих в условиях микробной обсемененности воздуха рабочей зоны.

Т.И. Махова¹, Т.А. Румянцова¹, Е.Н. Головешкина¹, Н.С. Руднева², Л.Н. Суханова², А.Е. Гуцин¹. **Использование метода двойного пулирования и мультиплексной ПЦР для оптимизации скрининга на наличие инфекций, передаваемых половым путем, у беременных.** ¹ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; ²ГУЗ Тульский областной КВД Минздрава ТО, Тула

Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), имеют высокое клиническое значение в развитии осложнений во время беременности и в неонатальном периоде. В связи с этим в

международных рекомендациях имеются указания на проведение обязательного скрининга беременных с целью выявления уrogenитальных инфекций. Однако на территории РФ назначают только микроскопическое исследование для выявления гонококковой инфекции, регламентированное Приказом № 572н Минздрава. Учитывая высокие показатели чувствительности микроскопического метода (до 64%) и наличие других облигатных патогенов, влияющих на развитие репродуктивных осложнений, необходимо оптимизировать методику скрининга беременных. В нашем исследовании оценивалась возможность использования методики двойного пулирования образцов биологического материала совместно с набором для одновременного выявления ДНК четырех возбудителей ИППП (*Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Chlamydia trachomatis* (CT), *Trichomonas vaginalis* (TV) и *Mycoplasma genitalium* (MG)) и эффективность данной стратегии при скрининге беременных.

В исследовании использовали объединенный биоматериал (вагинальный, цервикальный и уретральный), полученный от 1025 беременных пациенток. Сбор материала проводили в Тульском областном КВД с марта по апрель 2015 г. Для проведения двойного пулирования все 1025 образцов разделили на партии по 25 образцов в каждой и формировали 10 пулов по 5 образцов. Для экстракции ДНК использовали набор «ДНК-сорб-АМ» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), для амплификации использовали набор «Амплиценс® N.gonorrhoeae/ C.trachomatis/ M.genitalium/ T.vaginalis-МУЛЬТИПРАЙМ-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). После тестирования пулированных образцов все 1025 образцов были протестированы индивидуально с помощью тех же наборов реагентов.

Среди всех протестированных образцов в 3 (0,29%) была выявлена NG и в 29 (2,8%) образцах TV как при индивидуальном тестировании, так и в пулах. CT обнаружили в 68 (6,7%) образцах, из них в пулах в 67 (6,5%). MG была выявлена у 36 (3,7%) пациенток в отдельных образцах и в пулах у 34 (3,3%). Диагностическая чувствительность при использовании двойного пулирования с набором для выявления четырех возбудителей для NG и TV достигает 100%, для CT – 98,5%, а для MG – 94,7%, диагностическая специфичность для каждого патогена составляет 100%. За счет уменьшения количества тестируемых образцов стоимость исследования снижается на 37%. Время, затрачиваемое сотрудником на проведение анализа двойного пулирования с методом мультиплексной ПЦР по сравнению с методикой моноплексной ПЦР, снижается на 63%.

Совместное использование метода двойного пулирования и мультиплексной ПЦР в реальном времени сокращает материальные затраты и время проведения лабораторных исследований при скрининге с целью выявления облигатных патогенов у беременных.

Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В. **Lactobacillus iners – смена парадигмы.** ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва

За более чем вековую исследовательскую историю было установлено, что у здоровой женщины репродуктивного возраста, несмотря на мутуалистический характер микроценоза влагалища, основными доминирующими представителями остаются лактобациллы, которые определяют степень антимикробной защиты влагалища (Sobel, J.D., 2000; Schwebke, J.R., 2003; Анкирская А.С., 2001). По данным ряда зарубежных и отечественных исследователей показано, что видовой спектр лактобацилл влагалища преимущественно представлен 4 видами: *Lactobacillus crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* и *L. iners* (Brown, C. J., 2007; Martinez, R.C., 2008; Ворошилина Е.С., 2010; Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., 2013). На по-

пуляции российских беременных женщин получено, что *L. crispatus* обнаружены у 63,2% женщин с нормоценозом, а вид *L. iners* выявлен у 84,6% беременных с бактериальным вагинозом (БВ) (Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., 2013).

Вид *L. iners* только в последнее время стали культивировать и исследовать как вагинальную лактобациллу. Это связано с тем, что они не растут на питательных средах, традиционно используемых для культивирования лактобацилл (Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., 2013). При изучении филогенетических и фенотипических характеристик *L. iners* она была отнесена к роду *Lactobacillus* и обозначена как *L. iners* CCUG 28746T. Сравнительный анализ гена 16S рРНК показал, что данная бактерия была близкородственной *L. delbrueckii*, *L. gasseri* и *L. johnsonii*. При этом расхождения значений по 16S рРНК у нее более 4%, что дало право отнести ее к новому виду лактобацилл. Геном *L. iners* является наименьшим из геномов лактобацилл, зарегистрированных на сегодняшний день, он содержит низкое (32,7%) соотношение цитозин + гуанин (CG), что аналогично родственным лактобациллам *L. johnsonii* (34,0%) и *L. gasseri* (35,3%) (Macklaim, J.M., 2011). Возможно, сокращение генома произошло после отделения от линии лактобацилл *L. johnsonii* и *L. gasseri*, но рРНК кластеры были сохранены. Еще более поразительно, что в геноме *L. iners* выявлены 26 чужеродных генов и до 80% аминокислот, нехарактерных для рода *Lactobacillus*. Необходимость конкурировать с другими микроорганизмами, в том числе и с другими видами лактобацилл, возможно, стала причиной приобретения чужеродных генов *L. iners*, таких как адгезины и цитолизины. Изучение генома *L. iners* показало отсутствие специфических для лактобацилл адгезинов, а адгезия происходила благодаря консервативным доменам: фибронектин-связывающий белок (LINAB1_0564) и фибриноген-связывающий белок (LINAB1_0798) (Macklaim, J.M., 2011). *L. iners* является «атипичной» лактобациллой и ее роль и значение в репродуктивном здоровье женщин признается неоднозначно разными исследователями. Отличительной чертой уникальной биологии *L. iners* является ее способность продолжать колонизировать влагалище в условиях, при которых другие молочнокислые бактерии не могут, в том числе во время БВ (Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., 2013).

Изучение биологических свойств *L. iners* показало, что этот вид требователен к составу питательной среды, фенотипически отличен от других видов лактобацилл и очень изменчив по морфологическим (морфотип лактобацилл, гарднерелл, строгих анаэробов) и тинкториальным (грамвариабельность) свойствам (Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., 2013).

Таким образом, полученные новые данные о морфологической мимикрии, культуральной уникальности, антибиотикочувствительности и наличии генов, кодирующих синтез патогенных белков, а также белков, дающих адаптационные привилегии для *L. iners*, а также отмечена ее высокая встречаемость именно у пациенток с БВ. Возможно, что именно наличие *L. iners* может стать индикатором предрасположенности к БВ, и женщины, у которых этот вид лактобацилл встречается в высоких титрах, входят в группу риска по рецидиву или рецидивам БВ.

Л.И. Мордовская, С.Д. Алексеева, Н.Р. Парникова. Возможности молекулярно-генетических исследований у больных туберкулезом. ГБУ РС (Я) Научно-практический центр «Фтизиатрия», Якутск

Эффективное применение современных схем лечения туберкулеза затруднено селекцией и циркуляцией гиперульгентных мультирезистентных штаммов МБТ, устойчивых к основным противотуберкулезным препаратам: рифампицину и изониазиду. Исследования показали, что большинство таких штаммов принадлежит к генетическому семейству Beijing. Следовательно, выявление штаммов этого генотипа является важной составляющей диагности-

ки туберкулеза и имеет существенное значение для выбора адекватного лечения.

Проведено определение генотипов *Beijing* и *nonBeijing* микобактерий туберкулезного комплекса (МБТК) у 348 человек с установленным бактериовыделением, в том числе у 312 (89,7%) больных активным туберкулезом легких и 36 (10,3%) пациентов с туберкулезом внелегочной локализации, находившихся на стационарном лечении в ГБУ РС (Я) НПЦ «Фтизиатрия». Клинические формы туберкулеза представлены преимущественно инфильтративным – 187 (54%) и диссеминированным туберкулезом – 63 (18,1%) человека. Другие формы туберкулеза представлены в единичных случаях (очаговый туберкулез – у 26 (7,5%), казеозная пневмония – у 10 (2,9%), фиброзно-кавернозный туберкулез легких – 9 (2,6%), экссудативный плеврит туберкулезной этиологии – 7 (2,0%), туберкулема – 9 (2,6%) и туберкулез внелегочной локализации – 36 (10,3%). Впервые выявленных больных с туберкулезом 117 (55,5%) человек. Мужчин было 213 (61,2%), женщин – 135 (38,8%), в возрасте 18–70 лет.

Выделение, обнаружение и количественное определение ДНК МБТК в образцах мокроты и операционном материале, лекарственную устойчивость МБТК к рифампицину и изониазиду, определение генотипа *Beijing* МБТ проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием набора реагентов «Амплитуб-РВ» (ЗАО «Синтол», Россия). В случае обнаружения мутаций в гене *rpoB* штаммы относили к устойчивым к рифампицину (ЛУ), при отсутствии мутаций – к чувствительным (ЛЧ), при наличии одновременно мутаций еще и в генах *kaiG*, *inhA*, кодирующих ЛУ к изониазиду, – к множественнолекарственно-устойчивым (МЛУ).

Генотип *Beijing* МБТ методом ПЦР-РВ обнаружен у 212 (60,9%) больных: у 194 (91,5%) человек из числа пациентов с туберкулезом органов дыхания (ТОД) и у 18 (8,5%) из числа больных с туберкулезом внелегочной локализации. У 47 (24,2%) больных ТОД установлена МЛУ, у 23 (11,8%) больных – ЛУ МБТК. У 80 (41,2%) больных с генотипом *Beijing* МБТ чувствительность к рифампицину и изониазиду сохранена. У 44 (22,6%) пациентов чувствительность МБТ к антибиотикам не определена.

МЛУ МБТК также выявлена у 7 (38,8%) пациентов с туберкулезом внелегочной локализации, лекарственная устойчивость (ЛУ) у 3 (16,7%), у 8 (44,4%) больных лекарственная чувствительность (ЛЧ) к рифампицину и изониазиду сохранена.

Генотип *nonBeijing* МБТ был определен у 136 (39,1%) человек: 121 (89,0%) больного с ТОД, у 15 (11,0%) пациентов с туберкулезом внелегочной локализации. МЛУ МБТК установлена у 16 (13,2%) больных с ТОД, что ниже в 2,9 раза, чем у больных с генотипом *Beijing* ($p < 0,05$), и у 4 (26,7%) пациентов с внелегочным туберкулезом. ЛУ МБТК определена у 16 (13,2%) больных с ТОД, у 2 (13,3%) пациентов с внелегочным туберкулезом. ЛЧ сохранена у 92 (67,6%) пациентов с ТОД и внелегочной локализации.

Среди штаммов микобактерий туберкулеза, выделенных от обследованных больных туберкулезом, преобладали штаммы генетического семейства *Beijing* (60,9%). Установлен достоверно высокий уровень множественной лекарственной устойчивости – 25,5% у лиц с генотипом *Beijing* микобактерий туберкулеза по сравнению с пациентами с генотипами *nonBeijing* микобактерий туберкулеза – 14,7%.

Л.Ф. Морозова¹, И.М. Цхомария¹, Т.М. Гузеева², И.В. Кукина¹, Е.В. Максаковская¹, Е.Н. Шукина¹, А.М. Баранова¹, А.В. Кондрашин¹, Е.Н. Морозов¹. Итоги работы Референс-центра по мониторингу за малярией в Российской Федерации за 2010–2015 гг. ¹ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, Москва; ²Федеральная служба по надзору в

сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), Москва

В настоящее время 87 стран мира остаются эндемичными и находятся в стадии борьбы с малярией и ее элиминации, главным образом эти страны приходится на Африку и Юго-Восточную Азию, 12 стран – в предэлиминационном периоде, 16 стран достигли элиминации малярии на своих территориях и 27 стран получили статус «свободных от малярии», подтвержденный сертификатом ВОЗ. Российская Федерация представлена в группе стран, направляющих усилия на предупреждение восстановления местной передачи малярии. Задержка, а также неправильная видовая дифференциальная диагностика, в результате которой назначают некорректное лечение, способствуют быстрому распространению малярии или повышению риска возникновения осложненных и смертельных случаев тропической малярии. Окончательным подтверждением диагноза малярии служит обнаружение возбудителей при микроскопическом исследовании препаратов крови на малярию, определение вида плазмодия и видовых форм на разных стадиях развития (трофозоиты, шизонты и гаметоциты) и подсчет уровня паразитемии. Нарушения, допущенные в технике подготовки предметных стекол, взятии и транспортировке крови, приготовлении рабочего раствора краски Романовского–Гимзы и окраске препаратов, могут привести к ошибочным диагнозам или непригодности препаратов для просмотра. В связи с этим, региональные ФБУЗ «Центр Гигиены и Эпидемиологии» для подтверждения достоверности лабораторного диагноза направляют препараты крови («толстую каплю» или «толстую каплю на подкладке» и «тонкий мазок») от больных малярией в Референс-центр по мониторингу за малярией, функционирующий с 2006 г. на базе НИИ медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ. В Референс-центр по мониторингу за малярией за 6 лет поступило 547 препаратов. В результате проведенного анализа выяснилось, что в 2010 г. диагноз не подтвердился у 2,7% (из расчета 111 препаратов), 2011 г. – 1,2% (79), 2012 – 13% (85), 2013 – 10,1% (69), 2014 – 7,1% (113), 2015 – 3,3%. (90). В основном за 6 лет преобладала гипердиагностика (17 случаев), неправильная видовая диагностика (7 случаев), а также снят положительный диагноз (2 случая). Причины недостоверной лабораторной диагностики малярии связаны с недостаточностью знаний морфологии малярийных паразитов. Из года в год в 60% случаях не указана полная информация о пациенте в сопроводительных документах (нет эпиданамнеза, стадии развития паразита, уровня паразитемии, расходятся даты взятия крови на малярию с маркировкой на стекле). Помимо этого, в 4-х случаях не присланы препараты «толстая капля», а в 5 – «тонкого мазка». При «макроскопической» оценке встречались одна капля на препарате «толстая капля» (1,6%), перекрашенные (2,7%), без маркировки (10,6%) препараты и без «щеточек» на конце «тонких мазков» (4,5%). «Микроскопическая» оценка показала: в 12% случаев предметные стекла были старыми; техника в заборе крови для приготовления «толстой капли» (потрескавшиеся – 1,8%; аутофиксированные – 2,2%; толстый фон, с нитями фибрина – 3,1%) и «тонкого мазка» была нарушена. Техника окрашивания препаратов крови на малярию в 8,7% была неправильной (не отфильтрован маточный раствор краски Романовского–Гимзы, pH буферного раствора не соответствует, перекрашены или недокрашены препараты). У большей части препаратов имеются сочетанные нарушения, одиночные дефекты встречаются гораздо реже.

Необходимо усилить подготовку среднего персонала, участвующего в приготовлении препаратов на малярию, врачей-лаборантов по диагностике возбудителей малярии, а также создать единую форму направлений для отправки пре-

паратов крови на малярию в Референс-центр по мониторингу за малярией.

Т.В. Морозова, В.А. Кобылянская. Особенности лабораторной диагностики нарушений в системе гемостаза у больных дифтерией. ФГБУ «НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург

В настоящее время установлено, что нарушения в системе гемостаза являются существенным звеном патогенеза дифтерийной инфекции, которая сопровождается активацией системы гемостаза, вплоть до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Однако недостаточно изученной является динамика нарушений системы гемостаза. Остается также открытым вопрос, насколько долго сохраняются нарушения и как они могут приводить к развитию поздних геморрагических осложнений. В связи с вышеизложенным, нами проведено изучение изменений показателей коагуляционного и тромбоцитарного звена гемостаза заболевания у 46 больных дифтерией (32 женщины и 14 мужчин) в динамике.

Из обследованных нами больных токсическая форма дифтерии I–III степени была диагностирована у 26 человек, субтоксическая у 7 и локализованная у 13 пациентов. У всех больных диагноз был подтвержден бактериологически. Геморрагический синдром развивался со 2–4 дня болезни в виде кровоизлияний в слизистую полости рта и носа, экхимозов в местах инъекций, геморрагического пропитывания налетов. Обследование больных проводилось на 1–5, 6–10, 11–15, 21–25-е сутки от начала болезни. Материалом исследования служила кровь, полученная путем венепункции локтевой вены и стабилизированная 3,8% раствором основного цитрата натрия. Для оценки состояния плазменного звена гемостаза использовали скрининговые тесты: протромбиновое время, активированное парциальное тромбопластиновое время, тромбиновое время, концентрация фибриногена. Оценка внутрисосудистой активации тромбоцитов проводилась методом А.С. Шитиковой с использованием фазово-контрастного микроскопа. Определялась сумма активных форм тромбоцитов и число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты. Индуцированная агрегация тромбоцитов исследовалась на оптическом агрегометре АТ-02 в богатой тромбоцитами плазме с использованием в качестве агрегирующих агентов АДФ в двух концентрациях и коллагена.

Изменения коагуляционных параметров характеризовались повышением концентрации фибриногена как белка острой фазы воспаления. С первого дня заболевания его концентрация была достоверно повышена у 95% больных, а к концу наблюдения оставалась высокой у 14% больных. Однако другие показатели скрининговых тестов практически у всех больных были в норме, что подтверждает их малую информативность для оценки гиперкоагуляционного состояния при данном заболевании. В отличие от коагуляционных параметров отмечались существенные изменения со стороны тромбоцитарного звена гемостаза. У больных отмечалось значительное увеличение числа активных форм тромбоцитов во все сроки наблюдения, при этом необходимо отметить, что к 25 дню болезни сумма активных форм значительно превышала норму и составляла $57,5 \pm 5,3\%$ против $12,8 \pm 0,5\%$ ($p < 0,001$). У отдельных больных такие изменения сохранялись вплоть до 49 дня заболевания. Число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, также было увеличено и к 11–15 дню болезни составляло $10,1 \pm 1,96\%$ при норме $6,8 \pm 0,4\%$ ($p < 0,001$). Статистически значимо увеличивалось и число средних и больших агрегатов: к 6–10 дню в сумме оно составляло $1,27 \pm 0,33\%$, а на 11–15 дни достигало $1,4 \pm 0,6\%$ ($p < 0,001$) при норме $0,12 \pm 0,06\%$, что свидетельствовало о значительной повышенной активации тромбоцитов. Исследование индуцированной агрегации подтвердило выраженную активацию тромбоцитов. Об этом свидетельствовало развитие

тромбоцитопатии высвобождения. Во все сроки наблюдения максимальная амплитуда достоверно отличалась от нормы, так, при использовании пороговой дозы АДФ она составляла $12,4 \pm 2,0\%$ против $16,8 \pm 1,1\%$ в контроле. К 25 дню наблюдения этот показатель оказался еще более сниженным и составлял всего $7,4 \pm 1,63\%$, что в 2,2 раза ниже нормы ($p < 0,001$). При исследовании агрегации с оптимальной дозой АДФ максимальная амплитуда первой волны также была снижена во все сроки болезни и составляла $18,0 \pm 2,77\%$ против $32,8 \pm 2,2\%$ ($p < 0,001$), наиболее значительное снижение отмечалось на 11–15 дни. Вторая волна агрегации во все сроки и у всех больных отсутствовала, что характеризует нарушение реакции высвобождения из тромбоцитов и доказывает развитие тромбоцитопатии высвобождения. Агрегация с коллагеном была достоверно снижена уже в первые дни болезни и составляла $26,9 \pm 5,2\%$ против $43,6 \pm 2,1\%$ ($p < 0,001$), оставаясь к 25 дню в пределах $29,8 \pm 10,0\%$, что в 1,4 раза ниже нормы.

Таким образом, проведенное нами исследование свидетельствует о выраженном активирующем действии дифтерийного токсина на все звенья системы гемостаза. Особенно важным является выявленный факт ранней и значительной активации тромбоцитов с первых дней болезни с развитием тромбоцитопатии высвобождения.

А.А. Мохов, А.М. Бенмерабет. Правовые вопросы деятельности микробиологических лабораторий. ФБГОУ ВО «Московский государственный юридический университет им. О.Е. Кутафина», Москва

Настоящие тезисы адресованы профессиональным сообществам и их участникам в области лабораторной медицины и являются свидетельством актуальности ряда волнующих юридических аспектов деятельности микробиологических лабораторий в настоящее время в Российской Федерации, а цель их – обозначить и предложить специалистам в отрасли, юристам и прочим заинтересованным профессионалам развивать качественно новый уровень взаимоотношений для разрешения таких проблем в данной сфере. Некоторые из юридических и связанных вопросов, беспокоящих представителей лабораторных служб, следующие.

1. Текущий правовой статус, вопросы юридического закрепления, внедрения и применения клинических рекомендаций (КР). Специалистов отрасли беспокоит вопрос о правомерности применения КР в своей деятельности. Наличие КР, не имеющих общих принципов по структуре и содержанию, общих методологических принципов формирования, создает дополнительные сложности в их применении даже в настоящих условиях.

2. Вопросы совершенствования государственных механизмов регулирования отрасли. Противоречия в нормативных правовых актах, изданных от им. профильных регуляторных государственных органов (например, Минздрава РФ, Роспотребнадзора РФ), создают сложности для прикладной деятельности специалистов отрасли и соответствующих учреждений. Актуален вопрос о международном обмене информацией и имплементации в России рекомендаций Европейского комитета по определению чувствительности (EUCAST) и их изменений и дополнений (EUCAST, версия 5.0, 2015 от 09.02.2016).

3. Складывающаяся нормотворческая и правоприменительная практика регуляторных органов государственной власти приводит ситуацию с регулирующими нормативными правовыми актами в неразрешимую проблему, отражающуюся на эффективности работы специалистов лабораторной диагностики. Актуальны вопросы, связанные с обновлением либо отменой ряда приказов Минздрава СССР, Минздрава РФ. Отсутствуют четко закрепленные нормы по кадровому составу лабораторий, их административной подчиненности, по объемам исследований и т. п.

4. Отсутствуют признанные и утвержденные стандарты на проводимые лабораторные исследования, что создает невозможность осуществления должного контроля компетентности профессиональной деятельности, что актуально в свете появления множества негосударственных медицинских предприятий. Уместно говорить о реформах по этому вопросу, следуя принципу «производство вслед за потребностью».

5. Нечетко закреплены нормативные механизмы, регулирующие вопросы применения человеческой крови и ее компонентов в лабораторных исследованиях, отсутствует необходимая стандартизация компонента, имеется проблема привлечения к юридической ответственности за ее использование.

6. Проблема контроля качества, ответственности лабораторий за проводимые исследования ощутимо влияет на эффективность работы отрасли и на судьбу тех, в отношении кого проводятся такие исследования. У профессионального сообщества возникают юридические вопросы об экспертизах качества оказания медицинской помощи в соответствии с КР наряду с нормативно закрепленными стандартами.

7. Актуален вопрос правового регулирования обеспечения лабораторий как оборудованием для хранения контрольных (в т. ч. патогенных) штаммов, так и самими штаммами в объеме и качестве, достаточном для выполнения методических указаний по контролю качества питательных сред, для выполнения исследований.

8. В нормативно-правовых актах не имеется четкого определения, какие лабораторные исследования финансируются за счет средств ОМС, что приводит к конфликтам и спорам, в которых страховые организации имеют все необходимые инструменты для наложения санкций, а лаборатории не могут обосновать и доказать свою правоту.

Е.В. Наумкина^{1,2}, О.А. Абросимова², С.Ф. Иванова². Бессимптомная бактериурия и состояние микробиоценоза половых путей у беременных. ¹Омский государственный медицинский университет, Омск; ²БУЗОО «Городской клинический перинатальный центр», Омск

Бессимптомная бактериурия является серьезной проблемой в период беременности в связи с высоким риском развития инфекций верхних отделов мочевыводящих путей, возникновения перинатальных осложнений, возможностью негативного влияния на плод. Источниками инфицирования патогенными микроорганизмами могут являться близлежащие биотопы, населенные микроорганизмами (кишечник, половые пути, кожные покровы).

Цель: выявление взаимосвязи между составом микробиоты вагинального биотопа и спектром возбудителей бессимптомной бактериурии у беременных.

Проанализированы результаты бактериологического исследования мочи и отделяемого половых путей 478 беременных, обследованных в течение первого триместра с профилактической целью. Исследование включало определение качественного и количественного состава микроорганизмов мочи, а также содержимого влагалища и отделяемого цервикального канала.

Высев микроорганизмов из мочи в клинически значимых концентрациях отмечался у 15,6% женщин. Среди возбудителей преобладали *E. coli* (42,5%), *E. faecalis* (37,5%) и коагулазонегативные стафилококки (5,5%), реже встречались другие виды микроорганизмов. Изменения вагинальной микробиоты по типу неспецифического вагинита у этой категории пациенток отмечались в 55,5% случаев. Более чем у половины из них отмечался высеив из половых путей тех же видов микроорганизмов – *E. coli*, *E. faecalis*, коагулазонегативных стафилококков изолированно или в составе ассоциаций. У 10,5 и 12,6% пациенток соответственно были выявлены бактериальный вагиноз и урогенитальный кандидоз; нормоценоз отмечался в 21,4% случаев.

При отсутствии клинически значимой бактериурии доля нарушений вагинального микробиоценоза по типу неспецифического вагинита составила лишь 25,9% случаев; нормоценоз отмечался у 34,6%, дрожжеподобные грибы рода *Candida* высевались у 16,1% обследованных и в 23,4% случаев отмечалась картина бактериального вагиноза.

Таким образом, отмечается явная взаимосвязь между наличием потенциальных уропатогенов в составе вагинальной микробиоты и бессимптомной бактериурией у беременных, что может служить обоснованием необходимости обязательной коррекции вагинального микробиоценоза в составе комплексной терапии инфекций мочевыводящих путей у данной категории пациенток.

Т.Н. Новикова¹, М.А. Ковалева¹, С.М. Лобанова¹, И.А. Ольховский^{2, 3}. **Серопозитивность к HELICOBACTER PYLORI у детей разных возрастных групп.** ¹КГБУЗ Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства, Красноярск; ²Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава РФ, Красноярск; ³ФГБУН Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, Красноярск

Бактерия *Helicobacter pylori* определяет этиологию ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта и может быть вовлечена в патогенез аденокарциномы и МАЛТ-лимфомы желудка. Первичное инфицирование, как правило, происходит в детском и подростковом возрасте. Выявление наиболее уязвимых возрастных периодов в росте уровня пораженности позволяет определить наиболее оптимальные пути профилактики данной инфекции у детей.

Цель работы – оценка частоты выявления антител к *Helicobacter pylori* у пациентов разного возраста в Красноярском краевом клиническом центре охраны материнства и детства.

Проанализирована база данных клинико-диагностической лаборатории учреждения о результатах тестирования на суммарные антитела к *Helicobacter pylori* находящихся на лечении пациентов в период с января 2013 г. по декабрь 2015 г. Тестирование проводилось методом ИФА с использованием наборов «*Helicobacter pylori*-CagA-антитела-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Статистическую значимость отличий частоты встречаемости позитивных образцов в разных возрастных группах оценивали с помощью теста χ^2 .

За исследуемый период в базе данных было зарегистрировано 1713 результатов тестирования. Количество проведенных анализов и доля положительных серологических результатов у детей в разных возрастных группах составила для детей возрастных групп от 1 до 2 лет – 42 (4,8%), от 3 до 6 лет – 136 (10,3%), от 7 до 14 лет – 1034 (27,2%) и от 15 до 17 лет – 429 (32,2%) соответственно. Уровень серопозитивности у обследованных взрослых пациентов составил 26,7%. Характерный подъем инфицированности в 4–5 лет, 7–8 лет и 14–15 лет среди субъективно здоровой детской популяции Санкт-Петербурга ранее отмечали Сварваль А.В. и соавт. (Инфекция и иммунитет; 2012).

Учитывая существенный рост инфицированности детей в период начала посещения дошкольных учреждений и в период школьного обучения, следует обратить особое внимание на организацию питания и санитарного состояния школьных столовых как основной составляющей эпидемического риска инфицирования.

О.А. Орлова. **Роль микробиологических исследований трахеобронхиального аспирата в профилактике внутрибольничных инфекций дыхательных путей.** МБУЗ «Городская клиническая больница № 8», Челябинск

Для определения риска развития внутрибольничных инфекций дыхательных путей в отделении хирургической реанимации нами проанализированы данные микробиологи-

ческого исследования трахеобронхиального аспирата, забираемого при интубации трахеи, за период 2004–2014 г. Микроорганизмы в диагностически значимом титре выделены в 154 пробах (86,5%) уже в первые сутки пребывания пациентов в отделении хирургической реанимации. Всего выделено 313 микроорганизмов. Удельный вес грамположительных микроорганизмов составил 51,4±0,1%, грамотрицательных – 44,4±0,1%, грибов – 4,2±0,3%. Среди грамположительных микроорганизмов преобладали стафилококки – 27,5%. Удельный вес стрептококков составил 11,2%, энтерококков – 9,3%. Среди грамотрицательных микроорганизмов достоверно чаще выделялись *Ps. aeruginosa* – 14,4%, *A. baumannii* – 12,2%, и *Escherichia coli* – 7,7% по сравнению с другими грамотрицательными бактериями ($p < 0,05$). Доля грибов в трахеобронхиальном аспирате составляла 4,2%, представлена одним родом *Candida*. Удельный вес грамположительной микрофлоры в многолетней динамике колебался от 32,4% в 2008 г. до 54,6% в 2014 г. и в целом имеет тенденцию к росту. Удельный вес грамотрицательной микрофлоры в многолетней динамике колебался от 67,6% в 2008 г. до 33,3% в 2014 г. и в целом имеет тенденцию к снижению. Удельный вес выделения грибов в многолетней динамике колебался от 0 в 2008 г. до 12,1% в 2014 г. и в целом имеет тенденцию к росту. Необходимо отметить, что у 70,9% пациентов из трахеобронхиального аспирата выделялись ассоциации микроорганизмов. При этом ассоциации микроорганизмов состояли из двух, трех и даже четырех микроорганизмов, с преимущественным выделением грамотрицательной микрофлоры (*Ps. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli*), а также грамположительных *S. aureus* и *Str. viridans*. Таким образом, по результатам микробиологического мониторинга установлено, что пациенты, поступающие в отделение хирургической реанимации на продленную ИВЛ, колонизируются микроорганизмами и могут являться источником инфекции как для других пациентов, так и для самих себя при реализации эндогенного инфицирования.

Г.А. Осунов. **Возможности, итоги и проблемы масс-спектрометрии микробных маркеров в клиническом и амбулаторном мониторинге инфекций и дисбиозов.** Институт аналитической токсикологии, Москва

Метод масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) эффективен в мониторинге различных клинических и амбулаторных лечебных мероприятий с целью выявления микробной этиологии заболевания, назначения адекватной антибиотикотерапии и восстановления микробиологического статуса пациентов до нормального уровня. Преимуществом метода МСММ по сравнению с культурально-биохимическим, генетическим и другими методами микробиологического анализа состоит в возможности в едином цикле анализа за 2 часа количественно определять состав микробного сообщества в клиническом материале без предварительного культивирования. В одном цикле анализа осуществляется скрининг широкого круга микроорганизмов, включая анаэробы, актинобактерии, грибы и вирусы. Он лишен зависимости от праймеров и фирменных дорогостоящих наборов, культуральных сред и биохимических реактивов.

Метод имеет коммерческую реализацию в микробиологическом анализаторе (МБА) «Маэстро», предлагаемом компанией ООО «Интерлаб». Около двадцати лет он проходил апробацию в медицинских учреждениях г. Москвы. В 2010 г. Росздравнадзором разрешено его применение в качестве новой медицинской технологии «Оценки микробиологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии» на территории Российской Федерации (Разрешение ФС 2010/038 от 24.02.2010). В настоящее время ряд медицинских учреждений и университеты России используют МБА «Маэстро» для рутинных клинических микробиологических анализов инфекции и дисбиозов. Основное достижение ме-

тогда – это обнаружение в прямом эксперименте соответствия концентрации маркеров микроорганизмов в крови и на стенке тощей кишки, что дает возможность неинвазивного наблюдения эффектов влияния различных факторов на реальную, физиологичную микробиоту кишечника. Например, при синдроме раздраженного кишечника, дисбиозе при стрессе, диареях, запорах, болезни Крона. Метод позволяет видеть детальную картину изменения состава микробиоты под влиянием пробиотиков и других средств нормализации микроэкологии, например иммуностимулятора «Гепон», препарата висмута «Де-Нол», а также совокупный эффект применения антибиотиков. Последнее в динамике лечения представляет собой не что иное, как оценку чувствительности к антибиотикам *in vivo*.

Показано эффективное использование метода при сепсисе, гнойно-воспалительных инфекциях, лихорадках неясной этиологии, менингите, бактериурии, при инфекциях поджелудочной железы, почек и печени, ожоговой инфекции, гангрене, перитоните и синовитах. Метод широко применяется в гинекологии для детального анализа инфекции при неспецифическом вагините, цистите, воспалении матки и придатков. По маркерам в моче и секретах половых органов мужчин контролируется инфекция при уретрите, простатите, орхите и гонорее. Выявление некультивируемых микроорганизмов – клостридий, актинобактерий, грибов и вирусов дает клиницистам дополнительные возможности в преодолении бесплодия, связанного с инфекциями половых органов, и понимании причин невынашивания беременности. Врачи получают информацию о некультивируемых агентах инфекции при муковисцидозе, пневмонии, лихорадках неясного генеза и воспалениях ЛОР органов. Метод позволил проявить связь между дисбиозом кишечника и его кожными проявлениями при угревой болезни, атопической экземе, себорее, псориазе, алопеции.

Высокая чувствительность и экспрессность метода делают его уникальным инструментом ранней диагностики инфекции, инструментом предсказательной, предупредительной персонализированной медицины. Проблемы метода заключены в его преимуществах – расширение номенклатуры клинически значимых микроорганизмов, подтверждение реальной полимикробности воспалительных процессов, эндогенности инфекции, что требует от врача дополнительного самообразования и накопления нового опыта в проведении лечебных мероприятий.

Г.В. Пай, А.Н. Грачева, Г.Г. Солопова. Анализ выявляемости вирусов группы Ного-, Rota-, Astro- у детей, находившихся на лечении в ФНКЦ им Дм. Рогачева. ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева», Москва

Особенности распространенности норовирусов, ротавирусов и астровирусов у иммунокомпрометированных больных еще мало изучены. Как известно, данная группа вирусов является этиологическим агентом вирусных диарей. Однако, возможны и другие клинические проявления этих вирусных инфекций у пациентов с нарушением иммунного статуса. Оптимальный подбор наиболее информативного материала, является важной лабораторной задачей для врача ПЦР.

Цель исследования: изучить этиологическую структуру вирусных диарей у пациентов ФНКЦ ДГОИ. Оценить диагностическую ценность материала из разных локусов. Выявить сезонную зависимость и возрастные группы, наиболее подверженные воздействию данных вирусов.

В исследование был включен материал за 2015 год: 511 образцов от 189 больных. Биоматериал включал в себя: фекалии – 246 (48,1%), плазма крови – 71 (13,9%), спинномозговая жидкость – 30 (5,8%), костный мозг – 6 (4,3%), биопсийный материал: из кишечника – 60 (43,2%), из желудка – 57 (41%) и другие локусы – 19 (3,7%). Пробоподготовка и сбор

биоматериала осуществлялись согласно методическим указаниям (МУ 1.3.2569-09). Тестирование собранных образцов выполняли с использованием тест-системы «АмплиСенс® Rotavirus/Norovirus/Astrovirus-FL»

При исследовании фекалий частота обнаружения вирусов составила 17,7% (91 образец от 40 больных) от общего числа анализов (511). Среди расшифрованных диарей преобладала норовирусная инфекция – 65 (71,4%), ротавирусная инфекция была у 24 больных (26,3%), реже всего обнаруживались астровирусы – 2,2% (2). Среди заболевших пациентов преобладали мальчики (64,2%). В возрастном спектре представлены все возраста за исключением детей до года. Наиболее часто вирусы выявлялись у пациентов в возрасте от 1 года до 3 лет: 16 детей (40%), и у подростков старше 12 лет (27%). Анализ расшифровки диарей по сезонам выявил, что норовирусная инфекция преобладает в осенне-весенний период (42% случаев), а ротавирусная и астровирусная инфекция в зимний период (50% случаев). Клиническим значимым материалом для диагностики является кал (64% положительных случаев) для всех видов вирусов, далее плазма крови (23% случаев), а также ликвор (4%). Биопат кишечника и желудка при вирусных диареях был положительным лишь в 7%. Процент диарей смешанного генеза составил всего 5,2% от общего числа случаев. Отличительной особенностью диарей у пациентов нашей клиники является длительная персистенция норовируса в организме. Повторные эпизоды наблюдались у 13 больных (24%). Длительность обнаружения вируса составила 1,5 месяца (от 1 недели до 3,5 месяцев).

Наиболее часто вирусы обнаруживались у детей от года до 3 лет и подростков. Чаще всего в клиническом материале обнаруживался норовирус. Диагностически значимыми для всех вирусов были образцы фекалий. Отмечено повышение уровня заболеваемости норовирусом в осенне-весенний период, а для ротавирусной – в зимний период. Выявлена длительная персистенция вирусов у 24% больных в течение продолжительного периода времени (до 3,5 месяцев).

Н.Б. Патрушева, Н.В. Желвакова, О.П. Усольцева, И.А. Ахрятина, Я.Б. Бейкин. Эффективность определения антигена р24 при тестировании на ВИЧ-инфекцию. МАУ Клинико-диагностический центр, Екатеринбург

Использование иммуноферментных тест-систем (ИФА), выявляющих одновременно антигены и антитела ВИЧ, как стандартного метода лабораторной диагностики закреплено в СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции». Для подтверждения положительных результатов ИФА применяют тесты, выявляющие антитела к отдельным белкам ВИЧ, – иммунный, линейный блот (ИБ). Существует период времени от момента заражения до появления определяемого уровня антител, когда у инфицированного лица может быть выявлен только отрицательный или сомнительный результат ИБ. Использование в этот период только одного ИБ на заключительной стадии лабораторного анализа исключает выявление ВИЧ у лиц, имеющих положительный результат ИФА за счет антигенов, и приводит к тому, что лица с ранней стадией ВИЧ-инфекции не будут выявлены и получат отрицательные результаты лабораторного обследования. Для предотвращения вышеуказанного рекомендуется при получении отрицательного или сомнительного результата ИБ исследовать сыворотку на наличие антигена р24 или ДНК/РНК ВИЧ. При выявлении антигена р24 или ДНК/РНК ВИЧ повторное исследование в ИБ проводят через 2, 4, 6 недель.

Для оценки эффективности включения в алгоритм обследования на ВИЧ-инфекцию ИФА для определения антигена р24 за двухлетний период (с декабря 2013 г. по ноябрь 2015 г.) были проанализированы результаты повторного исследования крови пациентов, у которых при первичном обследовании на ВИЧ при отрицательном или сомнительном

результате ИБ был выявлен антиген р24. В работе использовали коммерческие иммуоферментные тест-системы для одновременного выявления антител к ВИЧ 1 и 2 типов и антигена р24 производства НПО «Диагностические системы», ЗАО «Медико-биологический союз», ЗАО «ЭКОлаб»; наборы для проведения ИБ производства ООО «МПБА диагностика» и «ИННОДЖЕНЕТИКС Н.В.»; и ИФА для выявления антигена р24 ВИЧ-1 «ДС-ИФА-ВИЧ-АГ-скрин» производства НПО «Диагностические системы».

Всего за указанный период в ИБ было обследовано 5489 человек, из них у 1532 был выявлен отрицательный и у 288 сомнительный результат ИБ. Антиген р24 был определен у 284 пациентов с сомнительным и отрицательным ИБ. На повторное исследование поступила кровь от 71 пациента, из них у 60 человек был получен положительный, у 7 – сомнительный и у 4 – отрицательный результат ИБ. Положительный результат ИБ был выявлен у 60 пациентов в сроке от 2 недель до 1,5 лет с момента обнаружения антигена р24 (время обращения пациента для повторного обследования). При первичном обследовании 20 пациентов имели сомнительный и 40 – отрицательный результат ИБ.

Повторно отрицательный результат ИБ (4 пациента) был зарегистрирован в сроке от 1 до 10 недель после выявления антигена р24. Из 4 пациентов 3 были обследованы через 6–10 недель после обнаружения антигена, и у 2 человек ИФА на антиген р24 был снова положительным, что можно расценивать как ложноположительный результат.

Сомнительный результат ИБ при повторном обследовании был получен у 7 пациентов, из которых 2 при первичном обследовании имели отрицательный результат ИБ и 5 – сомнительный. Сроки проведения повторного ИБ колебались от 2 недель до 4 месяцев (время обращения пациентов) после выявления антигена р24. У двух человек из пяти с первичным сомнительным результатом ИБ при повторном обследовании было выявлено нарастание спектра антител к ВИЧ.

Таким образом, определение антигена р24 у лиц с положительными результатами ИФА и отрицательным или сомнительным результатом ИБ является целесообразным и способствует ранней диагностике ВИЧ-инфекции. В большинстве случаев (84,5%) положительный результат ИФА на антиген р24 был выявлен у пациентов, которые находились на ранней стадии ВИЧ-инфекции, и при повторном обследовании у них был зарегистрирован положительный ИБ.

Л.В. Петрова¹, Т.М. Родионова¹, В.А. Пузанов² Выделение нетуберкулезных микобактерий у больных разных категорий. ¹ГБУ РМЭ «Республиканский противотуберкулезный диспансер», Йошкар-Ола; ²ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва

Проблема диагностики и лечения микобактериозов становится все более актуальной как для фтизиатров, так и для врачей первичной медико-санитарной помощи (ПМСП). Клинические проявления микобактериозов маскируются под разные нозологии, включая туберкулез и неспецифические заболевания легких. Микобактериозы вызываются так называемыми нетуберкулезными микобактериями (НТМБ), которые, как считалось до последнего времени, практически не передаются от человека к человеку. Значимой проблемой является сочетание патологии, вызванной туберкулезными и НТМБ, также возможны комменсализм и латентная микобактериальная инфекция.

Обработанный диагностический материал культивировался стандартными методами на плотных и жидкой питательных средах для выделения микобактерий туберкулеза (МБТ). Выделенные культуры, отличные от МБТ, для определения вида НТМБ исследовались методом ПЦР с дальнейшей гибридизацией на стриповых мембранах для идентификации видов НТМБ.

До 2015 г. видовая идентификация НТМБ в бактериологической лаборатории (БЛ) РПТД РМЭ проводилась культуральным методом с помощью биохимических тестов, которые, в силу объективных причин, не позволяли достоверно идентифицировать виды микобактерий, хотя за 1993–2014 гг. было выявлено 60 пациентов (п-ов) с неоднократным выделением штаммов НТМБ с одинаковыми биохимическими свойствами. С 2015 г. с помощью метода ДНК стриповой гибридизации НТМБ были выделены у 38 п-ов, причем у 16 (42,1%) п-ов неоднократно, из них от 3-х (7,9%) п-ов диагностический материал поступил в БЛ РПТД непосредственно из учреждений ПМСП, 28 п-ов были направлены на консультацию фтизиатра для уточнения диагноза, у 7 (18,4%) п-ов НТМБ были выделены в процессе лечения туберкулеза легких (ТБЛ). У 15 (39,5%) п-ов бактериоскопическим методом были обнаружены КУМ, при этом результаты ПЦР и культуральных методов по обнаружению МБТ у всех больных были отрицательными.

Из 7 больных, лечившихся по поводу ТБЛ, у 4-х НТМБ были выделены после прекращения выделения МБТ. Двое больных ТБЛ были прооперированы и, впоследствии, на фоне продолжающейся противотуберкулезной терапии, из образцов мокроты были выделены НТМБ. Одному больному был поставлен диагноз казеозная пневмония, при этом в мокроте бактериоскопически многократно определялись КУМ, при МБТ-отрицательных результатах молекулярно-генетических (ПЦР) и культуральных исследований. При рассмотрении нозологий по поводу которых были проведены бактериологические исследования на МБТ, а в результате были обнаружены НТМБ, установлено, что 23 (60,5%) п-та были обследованы с целью верификации туберкулеза, 15 (39,5%) п-ов были обследованы по поводу неспецифических заболеваний, из них у 4-х (10,5%) больных был диагностирован бронхит, у 3-х (7,9%) – пневмония, 6 (15,8%) больных имели жалобы на длительный кашель неясной этиологии, один (2,6%) п-т контактный по туберкулезу и 1 (2,6%) п-т с заболеванием молочной железы. Из диагностических материалов части п-ов (15 человек, 39,5%) были выделены *Mycobacterium intracellulare*, по 5 (по 13,2%) п-ов выделяли *M. avium* и *M. goodsonae*, у 4-х (10,5%) п-ов был выделен *M. fortuitum*, у 3-х (7,9%) – *M. peregrinum*, по одному (по 2,6%) п-ту выделяли *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. abscessus*, *M. phlei*, *M. celatum*.

Нетуберкулезные микобактерии обнаруживаются как у больных туберкулезом, так и неспецифическими заболеваниями легких. Настороженность должна вызывать диагностика туберкулеза у лиц с КУМ-положительными бактериоскопическими и ПЦР-отрицательными результатами, что определяет необходимость более широкого использования метода ПЦР-РВ не только в противотуберкулезных учреждениях.

И.Н. Петухова, Н.В. Дмитриева, З.В. Григорьевская, Н.С. Багирова, И.В. Терещенко, С.А. Дьякова. Частота выделение MRSA и других резистентных грамположительных микроорганизмов в различных отделениях онкологического стационара. ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования: изучить распространенность MRSA, а также резистентных к ванкомицину и линезолиду грамположительных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные стафилококки [КНС], *Enterococcus spp.*).

Идентификация микроорганизмов проводилась с использованием масс-спектрометра Maldi-TOF («Bruker», Германия), определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам – с помощью микробиологического анализатора MultiScan WalkAway («Siemens», Германия). Всего было исследовано 146 штаммов *S. aureus*, 405 штаммов КНС и 412 штаммов *Enterococcus spp.*, выделенных с января 2014 г.

по июнь 2016 г. (18 месяцев) из различных патологических материалов от онкологических больных, находившихся в 23 клинических подразделениях.

В целом частота выделения MRSA в клинике составила 11,6%. При этом процент выделенных штаммов в значительной степени варьировал в зависимости от подразделения. Так, MRSA были выделены в 12 из 23 подразделений, при этом частота их выделения варьировала от 10 до 50%. Наиболее часто MRSA выделялись в отделении реанимации (50%), отделении опухолей головы и шеи (41%), отделении опухолей печени и поджелудочной железы (33%), отделении проктологии (33%) и отделении комбинированных методов лечения и химиотерапии (33%). За исследованный период времени также были выделены 4 штамма MRSA, которые также были резистентны к ванкомицину (VRSA). Метициллин-резистентные KHC выделялись во всех подразделениях и их частота составляла от 33% до 100%. В отделении реанимации были выделены 2 штамма метициллин-резистентных и ванкомицин-резистентных KHC. Резистентных к линезолиду золотистых и коагулазонегативных стафилококков выделено не было. Ванкомицин-резистентные энтерококки (VRE) были выделены в 13 подразделениях в количестве 1–3 штаммов в каждом подразделении, при этом их общее количество за полтора года составило 23 штамма. При этом 17 штаммов были также резистентны к линезолиду.

Высокая частота выделения MRSA в ряде подразделений стационара свидетельствует не только о тяжести состояния больных, находящихся в этих подразделениях, но и о неблагоприятной эпидемиологической ситуации в них. Количество VRE в стационаре было небольшим, однако обращает на себя внимание, что практически все из них были также резистентны к линезолиду, что свидетельствует о чрезмерно широком использовании последнего у больных клиники. Полученные данные необходимы врачам-клиницистам для выбора эмпирической терапии в каждом подразделении клиники.

Л.П. Пивоварова, О.Б. Арискина, И.В. Осипова, М.Е. Малышев, М.И. Громов. Иммунологическая характеристика тяжелого сепсиса и септического шока у пациентов с острыми хирургическими заболеваниями и травмами. ГБУ СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург

Развитие и клиническое течение тяжелого сепсиса связано с активацией цитокиновой сети. Пусковым моментом ее активации у пациентов с грамотрицательным сепсисом является поступление в кровотоки липополисахарида (ЛПС) грамотрицательной микрофлоры из очагов инфекции и/или желудочно-кишечного тракта. В последнее время в качестве биомаркеров развития тяжелого сепсиса используются как различные медиаторы воспаления – LPS-связывающий белок (LBP), уровень антител к соге – региону LPS, прокальцитонин, про- и противовоспалительные цитокины, так и мембранные рецепторы клеток и их растворимые формы.

Проведено обследование 39 пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком (средний возраст – 34,8 (28,5; 43,5 лет), находившихся на лечении в реанимационных отделениях ГБУ СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе. Развитие тяжелого сепсиса и септического шока определяли по наличию признаков, представленных в рекомендациях Калужской согласительной конференции (2004). Тяжесть полиорганной недостаточности, связанной с сепсисом, оценивали по шкале SOFA. В исследование были включены пострадавшие с постожоговым, посттравматическим и хирургическим тяжелым грамотрицательным сепсисом. Пострадавшие были разделены на 3 группы: 1-я – выжившие с тяжелым сепсисом (> 28 суток) – 16 человек (SOFA, баллы 4 (4; 4); 2-я – умершие с тяжелым сепсисом (до 28 суток) – 8 человек, SOFA 9 (6; 12)

и 3-я – с септическим шоком – 15 человек, SOFA 8 (6; 13). При бактериологическом исследовании биологических сред у всех пациентов была выявлена грамотрицательная микрофлора, у 11 из них – в сочетании с грамположительной.

В первый день тяжелого сепсиса и при развитии септического шока в крови пациентов наблюдали достоверное ($p < 0,05$) повышение концентрации маркеров системного воспаления IL-6, IL-10 и прокальцитонина. Во всех случаях концентрации медиаторов при септическом шоке были достоверно выше, чем при тяжелом сепсисе.

При этом уровень ЛПС в крови, определенный с помощью LAL-теста, не выявил увеличения его уровня у всех пациентов.

В то же время содержание LPS-связывающего белка в сыворотке крови больных всех групп многократно увеличивалось. На 3 день пребывания в реанимации показатель уровня LBP снижался ($p < 0,05$) у выживших пациентов с тяжелым сепсисом, тогда как у умерших больных с тяжелым сепсисом и больных с септическим шоком – оставался высоким. Таким образом, снижение LBP можно считать благоприятным признаком. Также мы выявили достоверное ($p < 0,05$) увеличение количества CD14⁺ мононуклеарных клеток в крови пациентов с септическим шоком.

Анализ клинических и лабораторных данных обследованных пациентов позволил сделать заключение, что для динамической оценки тяжести состояния септических больных и выявления риска развития септического шока целесообразно определять величину SOFA, содержание в крови IL-6, LBP, прокальцитонина и CD14⁺ моноцитов.

Селективная ЛПС-сорбция с использованием сорбционного устройства Alteco LPS adsorber (Швеция) или Десепта С150 (Россия) проводилась у 9 из 15 пациентов с диагнозом септический шок. Применение селективной сорбции при септическом шоке приводило к достоверному ($p < 0,05$) снижению концентрации LBP, IL-6 и прокальцитонина через 48 ч после процедуры. В качестве контроля эффективности селективной сорбции LPS из крови можно использовать показатели содержания в крови LBP, прокальцитонина и количества CD14⁺ моноцитов.

А.В. Поддубиков, Э.Е. Романенко, А.Ю. Леонова, Н.А. Михайлова. Разработка теста для серотиповой идентификации штаммов пневмококка. ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

Streptococcus pneumoniae является типичным представителем условно патогенных бактерий и бессимптомно колонизирует верхние дыхательные пути человека, но в определенных условиях может вызвать заболевания в клинических формах, сравнимых с инфекционным процессом, вызываемым патогенами. Пневмококковые инфекции являются серьезной проблемой здравоохранения. *S. pneumoniae* частый возбудитель острого среднего отита, внебольничной пневмонии, тяжелых инвазивных заболеваний, таких как гнойный менингит, инвазивная пневмония, сепсис. *S. pneumoniae* – инкапсулированный грамположительный, овальной или сферической формы кокк, располагающийся попарно, и/или в виде коротких цепочек. На агаре с содержанием крови образуют мелкие округлые колонии с зеленым окрашиванием среды за счет окисления гемоглобина (α -гемолиз). По существующей классификации выделяют 46 серогрупп возбудителя, объединяющих более 93 серотипов. Серотипирование пневмококков осуществляется по К-антигену.

Целью исследования было получение диагностических сывороток, позволяющих определить серотип К-антигена *S. pneumoniae* в реакции агглютинации на стекле.

В работе использованы эталонные штаммы *S. pneumoniae*, аналогичные по серотипу входящим в состав 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины: K1, K3, K4,

K5, K6B, K6A, K7F, K9V, K14, K18C, K19A, K19F, K23F из коллекции ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Все использованные штаммы обладали типичными культурально-морфологическими и ферментативными свойствами, были чувствительны к оптохину, лизировались желчью, имели чувствительную капсулу, определяемую в мазках, окрашенных по Бури. Лиофилизированные культуры восстанавливали в сердечно-мозговом бульоне и высевали на агар с 5% содержанием лошадиной крови, инкубировали при 37°C в 5% CO₂ среде инкубатора в течение 18–24 ч. Чистоту выросшей культуры определяли визуально и микроскопически в мазках, окрашенных по Граму. При отсутствии контаминации, выросшие на чашках Петри колонии пересевали в сердечно-мозговой бульон во флаконах емкостью 0,5 л. Посевы инкубировали 16–18 ч в аналогичных условиях. Полученную микробную массу инактивировали формалином. После контроля на стерильность микробную взвесь осаждали центрифугированием. Осадок суспендировали в небольшом объеме фосфатного буфера.

Антигены для получения поливалентных (пуловых) сывороток готовили путем соединения равных объемов суспендированных в буферном растворе моно антигенов в соответствии с разработанным составом каждой пуловой сыворотки.

Кроликов весом 2,5 кг иммунизировали 2 млрд-ной взвесью инактивированной формалином бактериальной культуры в возрастающих дозах от 0,5 мл до 3,0 мл с интервалом в 4–5 дней. Иммунизация включала 7 инъекций. Каждым наименованием препаратов К-антигена иммунизировали трех кроликов. После окончания иммунизации на 5–6 день проводили пробное кровопускание для оценки уровня специфической активности полученных сывороток. При наличии уровня специфических антител не менее 1:160–1:320 проводили тотальное кровопускание, соблюдая правила работы с экспериментальными животными. Полученные нативные сыворотки выдерживали в холодильнике при (5±3)°C в течение 2–3 недель, после чего были охарактеризованы по специфической и перекрестной активности.

Приготовлены опытные серии поливалентных сывороток четырех наименований, позволяющие осуществлять типирование 13 серотипов *S. pneumoniae*. Получен патент на изобретение № 2517208 «Способ определения К-антигена *S. pneumoniae* для серологической диагностики циркулирующих штаммов пневмококков на территории Российской Федерации». Разработаны рекомендации по использованию полученных препаратов.

А.А. Порин. Редкие виды кампилобактеров. ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, кафедра медицинской микробиологии, Санкт-Петербург

С момента открытия Т. Эшерихом кампилобактеров в 80-х годах XIX века, эти микроорганизмы «проделали большой путь» от малозначимых до доминирующих в этиологической структуре ОКИ. Многочисленные исследования позволили выделить большое количество видов, каждые два года проводятся международные конгрессы CHRO (Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms), однако, до сих пор для подавляющего большинства кампилобактеры ассоциируются с одним видом – *C. jejuni* (ну, может быть иногда, добавляется еще *C. coli*). По данным eCDC, в странах Евросоюза в 2010–2012 гг. 99,6% случаев кампилобактериоза было вызвано *C. jejuni* (93,1%) и *C. coli* (6,5%), оставляя на долю прочих видов 0,4%.

К «минорным» видам чаще всего относят *C. lari* и *C. upsaliensis*. Используемые в настоящее время коммерческие среды в первую очередь предназначены для выделения *C. jejuni* и *C. coli* и могут подавлять рост других видов. Следовательно, в ряде случаев редкое выделение *C. lari* и *C. upsaliensis* может не соответствовать их реальному распространению.

C. jejuni и *C. coli* вызывают сотни тысяч заболеваний в странах Евросоюза и представляют серьезную экономическую проблему, несмотря на благоприятное течение и смертность, не превышающую 0,03–0,04%. В то же время имеются данные, что *C. lari* и *C. upsaliensis*, для которых также характерен фекально-оральный механизм передачи, чаще вызывают внекишечные формы инфекционного процесса. Наиболее часто регистрируются хронические процессы, связанные с имплантацией кардиостимуляторов, послеоперационные осложнения, связанные с протезированием, мочевые инфекции, плевриты, бактериемия. Они возникают не только на фоне снижения резистентности, но и у иммунонекомпromетированных пациентов. Необходимость своевременной диагностики этих состояний не вызывает сомнений.

Природным резервуаром «редких» кампилобактеров являются различные виды животных и птиц, а, следовательно, необходимо совершенствовать и методы контроля объектов внешней среды. Это тем более необходимо, поскольку существуют регионы с преобладанием рассматриваемых видов. Так, например, исследования, проведенные в Хошимине, выявили два интересных факта: частота обсеменности кур была аномально низкой (15,3%) и доминирующим видом был *C. lari* (73,9%), а на долю *C. jejuni* пришлось лишь 4,3% изолятов. В Антананариву 9,2% кампилобактеров, выделенных из тушек бройлеров, составляли *C. upsaliensis* и *C. lari*.

До сих пор никому не удалось создать универсальную селективную питательную среду, которая одинаково хорошо подходила бы для выделения любых кампилобактеров. Еще в конце 80-х годов прошлого века были разработаны селективные методы выделения кампилобактеров на неселективных средах. Речь идет о дифференциальной фильтрации, которая была незаслуженно забыта в первую очередь потому, что ее использование было менее технологично, чем применение селективных коммерческих сред. Совершенствование технологии изготовления и использования фильтров, создание на их основе систем для диагностики и исследования объектов внешней среды может стать одним из направлений, позволяющих решить проблему «редких» кампилобактеров.

В.А. Лузанов, Э.В. Севастьянова. Оценка реализации мер инфекционного контроля в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений. 1: Организация и размещение бактериологических лабораторий. ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва

По данным С.А. Попова и соавт. (Пробл. туб. и бол. легких. 2008; 5: 29–35), при проведении оценки эффективности деятельности бактериологических лабораторий (БЛ) противотуберкулезных учреждений (ПТУ) было установлено, что в 48% БЛ регионального уровня ПТУ в сроки до 5-ти лет наблюдения было зарегистрировано от одного и более случаев нозокомиального туберкулеза (ТБ). Данный факт заставил оснастить все региональные БЛ РФ комплектом стандартного лабораторного оборудования, включая боксы биологической безопасности (БББ) I и II класса.

Основной задачей настоящего исследования было определение эффективности реализованных в БЛ мероприятий инфекционного контроля (ИК), в том числе и по факту регистрации случаев нозокомиального ТБ среди сотрудников лабораторий. Для выполнения поставленной задачи специалистами ЦНИИТ, в соответствии с планом курации, в 2015 г. были реализованы визиты в Республики: Дагестан, Ингушетию, Калмыкию, Марий Эл, Мордовию, Татарстан, Чеченскую и в области: Астраханскую, Владимирскую, Ивановскую, Нижегородскую, Орловскую, Пензенскую, Саратовскую, Ульяновскую. Была также собрана и проанализирована информация, полученная в ходе анкетирования 15-ти региональных и 19-ти соподчиненных – районных и городских БЛ.

Заведующие 15 БЛ (44,1%) указали, что их БЛ не были

спроектированы с учетом сан.-эпид. норм для работы с *M. tuberculosis*. 14 БЛ размещены в отдельно стоящем здании, 5 БЛ – в основном здании диспансера и 14 БЛ – в отделенном крыле основного здания (1 БЛ не предоставила данные). Удалось выделить условно «чистые» и «заразные» рабочие зоны в 31 БЛ. 26 БЛ (76,5%) имели два входа в лабораторию (в «чистую» и для приема диагностических материалов в «заразную» зоны), при этом из 8 БЛ, имеющих только один вход в лабораторию, удалось зонировать 4 из них. Примечательно, что наличие «гамбург-шлюза» отмечено в 22 БЛ (64,7%), но при этом в 32 БЛ (94,1%) была соблюдена поточность движения материалов. Обращает на себя внимание, что для реализации обязательного комплекса бактериологических и молекулярно-генетических исследований под БЛ регионального уровня были выделены площади от 167 до 483 м кв. (12 из 15 БЛ имели площади от 200 м кв.), а для проведения относительно ограниченного перечня исследований под БЛ районного и городского уровня было выделено от 25 (!) до 580 (!) м кв. (9 из 19 БЛ имели площади до 130 м кв.). При этом по оценке зав. лабораторий только 24 БЛ (70,6%) имели достаточные площади под реализуемые методы и объемы исследований с перспективой внедрения новых методов. Требовали капитального ремонта с перепланировкой 7 БЛ (20,6%) из 34, кап. ремонта без перепланировки – 8 БЛ (23,5%), косметического ремонта – 16 БЛ (47%) и 3 БЛ (8,8%) были построены или отремонтированы относительно недавно. Наличие приточно-вытяжной вентиляции (ПВВ) подтвердили 29 БЛ (85,3%), при этом только 19 из 29 БЛ (65,5%) отметили, что реализованные в их лабораториях проекты ПВВ отвечают современным техническим требованиям, обеспечивающим контролируемые потоки движения воздуха в БЛ. Примечательно, что только в 16 из 29 БЛ (55,2%) проводится регулярное техническое обслуживание и контроль ПВВ, в 4 БЛ (13,8%) проводится нерегулярное обслуживание ПВВ, в 8 БЛ (27,6%) контроль работы ПВВ не проводится в принципе (по мнению одного из зав. региональной БЛ, «нет необходимости в проведении контроля» системы вентилирования воздуха).

Предварительные выводы. В 11-ти из 15-ти территориях РФ на уровне региона централизованы бактериологические исследования. Более 40% БЛ работают на площадях не в полной мере удовлетворяющим документам СанПиН. Серьезные вопросы вызывает наличие, состоятельность и техническое обслуживание приточно-вытяжных систем вентиляции в БЛ.

В.А. Пузанов, Э.В. Севастьянова. Оценка реализации мер инфекционного контроля в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений. 2: Наличие и условия эксплуатации боксов биологической безопасности в бактериологических лабораториях. ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва

Практически все 34 БЛ ПТУ 15-ти регионов РФ использовали в работе инженерные средства локального контроля движения воздушных масс – боксы биологической безопасности (БББ) и вытяжные шкафы (ВШ). Учитывая, что около 10-ти лет назад все 15 региональных БЛ ПТУ из федеральных средств были обеспечены БББ I и II классов защиты, сколь либо острого дефицита настоящего оборудования отмечено не было. В среднем, БЛ регионального уровня имели от 2-х до 16-ти БББ II класса, от 1-го до 5-ти БББ I класса (только одна БЛ не заявила наличие данного типа боксов), от 1-го до 3-х ВШ (5 БЛ не используют в работе ВШ). Несколько иная ситуация по наличию БББ и ВШ в 19-ти районных и городских БЛ. В среднем, данные БЛ используют в работе от 1-го до 3-х БББ II класса (как исключение, только одна городская БЛ имела 8 приборов данной позиции), от 1-го до 2-х БББ I класса, при этом 9 БЛ не оснащены данным оборудованием, и от 1-го до 2-х ВШ (2 БЛ не используют в работе ВШ).

Уровень профессиональной подготовленности персонала БЛ по вопросам инфекционного контроля в части инженерных мер демонстрируется случаями жесткого подсоединения БББ II класса к приточно-вытяжной системе в 2-х региональных (13,3%) и 2-х районных (10,5%) БЛ. При этом в одной из БЛ регионального ПТУ были обнаружены все три типа эксплуатации БББ II класса – жесткое подключение к ПВВ, подключение к ПВВ по типу «наперстка» и автономная работа боксов.

Очевидно, что данный вид лабораторного оборудования, задачей которого является как обеспечение стерильности производимых лабораторных манипуляций, так и гарантирование биологической защиты оператора и окружающего персонала, должен пройти поверку и сертификацию при установке, аналогично, как и в последующем, по мере эксплуатации БББ. На вопрос, проводилась ли сертификация при установке, в частности, БББ II класса, региональные БЛ в 7-ми случаях ответили положительно (46,7%), в 5-ти случаях – «частично» (?) (30%) и в 3-х случаях ответили отрицательно (20%). На тот же вопрос, но о ежегодной поверке и сертификации региональные БЛ в 3-х случаях ответили положительно (20%), в 5-ти случаях «частично» (?) (30%) и в 7-ми случаях ответили отрицательно (46,7%). В районных и городских БЛ ситуация значительно сложнее. Так, утвердительно о поверке и сертификации при установке БББ II класса ответили лишь 4 БЛ (21,1%) и на тот же вопрос о ежегодной поверке – 1 БЛ (5,3%). Примечательно, что только 11 из 34 (32,4%) БЛ смогли подтвердить факт поверки БББ II класса, представив название фирмы, производящей сертификацию, и ее координаты.

Предварительные выводы. Инженерный компонент обеспечения биологической безопасности в части наличия, правильности подключения, поверки и сертификации боксов биологической безопасности I и II классов защиты и вытяжных шкафов в 34-х БЛ ПТУ 15-ти территорий РФ вызывает ряд вопросов об адекватности принятых мер предотвращения нозокомиального туберкулеза, финансирования и доступности программ поверки и сертификации лабораторного оборудования, проф. подготовленности персонала БЛ по вопросам санитарно-эпидемиологического режима.

В.А. Пузанов, Э.В. Севастьянова. Оценка реализации мер инфекционного контроля в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений. 3: Средства индивидуальной защиты персонала бактериологических лабораторий. ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва

Принимая во внимание, что основным путем инфицирования ТБ является воздушно-капельный, из всех средств индивидуальной защиты персонала наибольшее значение в профилактике заражения ТБ имеют средства респираторной защиты. По данным анкетирования, только одна (6,7%) из 15-ти БЛ регионального уровня отметила дефицит наличия в лаборатории респираторов. При этом, сотрудники проходят тестирование с использованием фит-теста на плотность прилегания респиратора в 8-ми (53,3%) из 15-ти региональных БЛ. Последние результаты заочного опроса вызывают сомнения, так как не в полной мере коррелируют с личными наблюдениями при очном посещении лабораторий.

Только 4 (21,1%) из 19-ти районных/городских БЛ подтвердили недостаточность снабжения респираторами, при этом в практику лишь 5-ти лабораторий внедрен фит-тест. Примечательно, что, по данным опроса, в одной из крупных территорий РФ во всех районных БЛ перед заказом респираторов использовался фит-тест, в то время как в самой региональной БЛ таковой тест не проводится, и соответственно опыт его использования не передавался, а сотрудники соподчиненных лабораторий не обучались мерам контроля респираторов с использованием фит-теста на внешних курсах переподготовки.

Относительно недорогие средства индивидуальной защиты персонала – респираторы, активно используются в абсолютном большинстве региональных БЛ и в большинстве районных/городских БЛ. При этом средства контроля респиратора на предмет оптимального прилегания к лицу (фит-тест), все еще недостаточно активно используются сотрудниками не только лабораторий, но по видимому, и ПТУ в целом.

Представленная в 3-х настоящих сообщениях комплексная оценка реализации мер инфекционного контроля в 34 бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений 15-ти административных территорий РФ демонстрирует значимое эпидемиологическое снижение уровня нозокомиального инфицирования и последующего заболевания туберкулезом персонала лабораторий. За период наблюдения с 2011 по 2015 г. только одна региональная БЛ ПТУ с числом персонала лаборатории в 23 человека и годовым объемом нагрузки более 55 тыс. полученных для исследования диагностических образцов заявила о регистрации профессионального заболевания туберкулезом 2-х сотрудников, что составило 8,7% от штата БЛ.

Основными причинами снижения уровня нозокомиального туберкулеза в БЛ ПТУ являются: улучшение мер административного и инженерного контроля за распространением туберкулеза в специализированных учреждениях; улучшение материально-технического оснащения лабораторий современным лабораторным оборудованием и одноразовыми расходными материалами, обеспечивающими лучший контроль за распространением инфекционных аэрозолей; последовательно реализованные программы практических курсов обучения ведущих специалистов региональных и районных БЛ всех территорий зоны курации ЦНИИТ как основам бактериоскопических, культуральных, молекулярно-генетических исследований, так и основам инфекционного контроля в подразделениях ПТУ; более высокая культура проведения лабораторных процедур и методов, отказ от использования малопродуктивных, но наиболее эпидемиологически опасных технологий; объективное улучшение условий труда и повышение привлекательности профессии.

С.В. Ришук¹, С.Н. Дробченко². Современные методы лабораторной диагностики хламидиоза. ¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург; ²ЗАО «БИОГРАД», Санкт-Петербург

Из главы 5 Рекомендаций ВОЗ 2013 года (WHO. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including HIV) следует, что для успешной диагностики хламидийной инфекции необходимо применять одновременно два метода – МАНК и серологический ИФА тест, так как при наличии осложненной хламидийной инфекции МАНК могут давать ложноотрицательные результаты. В последние годы опубликовано достаточно большое количество работ, доказывающих связь хламидийной инфекции с выкидышами и фертильностью пар на основании определения антител к *C. trachomatis*. При этом ДНК патогена в ПЦР у них не определялась. В настоящее время серологический анализ на антитела к *C. trachomatis* рекомендован в рутинное обследование бесплодных пар в Швеции и Нидерландах. Серологический скрининг групп молодых людей рекомендуется также в ряде других стран, включая США, Англию, Канаду и Японию.

Целью данной работы явилось определение информативности прямых и косвенных методов выявления хламидийной инфекции и их сопоставление с клиническими проблемами.

ДНК *C. trachomatis* определяли в соскобе из уретры у мужчин, а также из цервикального канала и уретры у женщин методом real-time ПЦР (АмплиСенс, ФГУН ЦНИИЭ, Москва).

Для выявления видоспецифичных IgA и IgG антител к *C. trachomatis* использовались бесприборные ИФА тесты ИммуноКомб, производства Orgenics Ltd., Израиль. Отличительной особенностью ИФА тестов ИммуноКомб является быстрота получения результата анализа (46 мин), возможность постановки анализа без дополнительного оборудования, проведения индивидуального анализа и визуального учета результатов. На твердую фазу ИммуноКомб (гребень) сорбированы антигены *C. trachomatis* штамма серотипа L2, с последующим удалением липополисахарида (LPS), вызывающего перекрестные взаимодействия с родоспецифичными антителами. Использование фосфатазно-щелочного конъюгата позволяет достичь более высокой чувствительности по сравнению с тестами, основанными на пероксидазной реакции. Обследовано 457 женщин и 752 мужчин, с различными нарушениями в репродуктивной системе. У мужчин совместно или по отдельности специфические IgG к *C. trachomatis* в сыворотке крови были выявлены у 313 (42%), специфические IgA – у 319 (42,4%). У женщин специфические IgG в сыворотке крови были выявлены у 227 (49,7%), специфические IgA – у 201(44,0%). При этом обнаружение возбудителя в real-time PCR у данного контингента больных имело место у мужчин – в 4,4%, у женщин – в 3,7% случаев. Диагноз хронической урогенитальной хламидийной инфекции был поставлен 42% мужчин и 44% женщин на основании положительного серологического IgA-теста независимо от результата по IgG (чаще было сочетание с положительным тестом) и положительной ПЦР. Причем получены достоверные корреляции положительных серологических тестов с тяжестью клинических проявлений и осложнениями у женщин и мужчин. Положительная real-time ПЦР (IgG и IgA отрицательные) не коррелировала ни с одной клинической ситуацией.

В клинической практике часто встречаются осложненные формы хламидийной инфекции в виде бесплодия, ВЗОМТ, эктопической беременности, когда возбудитель находится во внутренних половых органах, не попадает в соскобный материал, не может быть идентифицирован даже такими высокочувствительными методами как ПЦР. В этом случае определение специфических антител к хламидиям ИФА методом с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата и антигенов L2 серотипа, очищенных от родоспецифического липополисахарида, приобретает первостепенное значение.

С.В. Ришук¹, С.Н. Дробченко², О. Марголин³. Новые возможности диагностики пневмоний: быстрые антигенные тесты для этиологической расшифровки возбудителя. ¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург; ²ЗАО Биоград, Санкт-Петербург; ³Alere Inc., США

Экспресс-тесты по выявлению пневмококковой и легионеллезной антигенурии включены в рекомендации ВОЗ, международные, а сегодня – и в российские клинические стандарты, как один из основных методов этиологической диагностики пневмоний. Эти тесты позволяют быстро поставить окончательный этиологический диагноз, и назначить эффективную этиотропную терапию, что важно как для пациента (улучшение исхода лечения, уменьшение риска нежелательных лекарственных реакций), так и для ЛПУ в целом (снижение селекции антибиотикорезистентности, сокращение затрат).

Исследования клинического материала на наличие антигена возбудителя пневмонии проводили в соответствии с методическими рекомендациями Росздравнадзора № 01/14633-8-34 и МР 3.3.1.0027-11 с помощью ИХА экспресс-тестов Бинакс, производства Alere Inc., США. Удобный формат теста Бинакс в виде закрывающейся книги с закрытым прозрачной пластиковой пластиной окном позволяет избежать контакта с потенциально инфицированным образцом. Положительный

и отрицательные контрольные тампоны для контроля качества поставляются в наборе. Тампон на палочке, входящий в состав набора, погружали в образец исследуемой мочи, вынимали и помещали в лунку книжки-кассеты, добавляли реагент из прилагающийся капельницы и закрывали книжку. Результаты учитывали через 15 минут. Результаты теста интерпретировались по наличию или отсутствию визуально различимых окрашенных линий от розового до пурпурного цвета. Положительный результат включал появление двух окрашенных линий: в зоне чтения результата и контрольной линии, отрицательный результат дает только одну окрашенную контрольную линию.

Для оценки быстрого теста для выявления антигена легионелл в моче – Binaх NOW Legionella использовали 300 замороженных архивных образцов мочи пациентов. Сто (100) из этих пациентов были положительны на инфекцию Legionella pneumophila серогруппы 1, что было определено с помощью культурального метода, прямой иммунофлуоресценции, радиоиммуноанализа и/или иммунофлуоресцентного анализа (четырёхкратное увеличение титра). Чувствительность теста BinaхNOW® Legionella составила 95%, специфичность – 95%.

Тест BinaхNOW® Streptococcus pneumoniae Test оценивали на образцах мочи от 35 пациентов, у которых пневмококковая пневмония была подтверждена выявлением пневмококка из крови в культуре, и от 338 предположительно отрицательных на S. pneumoniae пациентов (всего 373 пациента), собранные в трех различных клиниках. Чувствительность и специфичность теста рассчитывалась на основании полученных результатов тестирования с использованием стандартных методов. Чувствительность составила 86%, специфичность – 94%.

В отличие от культурального метода антибиотикотерапия, начатая до проведения теста Бинакс, не влияет на его результат.

Высокая чувствительность, специфичность и быстрый результат тестов Бинакс позволяют использовать антибиотики узкого спектра действия и быть уверенным в результатах лечения. Тест одобрен FDA, США, зарегистрирован Росздравнадзором, в ряде современных руководств по диагностике пневмонии рассматривается как метод этиологической диагностики у пациентов с тяжелым течением заболевания. В настоящее время в более 90% случаев окончательный диагноз пневмококковой инфекции в мире устанавливается данным методом. Тесты Бинакс для экспресс-диагностики гриппа А и В, РС-вируса, стрептококка А также могут помочь в ранней дифференциальной диагностике инфекций дыхательных путей, незамедлительно принять решение о лечении и противоэпидемических мерах в стационарах.

С.М. Розанова^{1, 2}, Е.Ю. Первалова¹, Л.В. Шевелева¹, М.В. Кырф¹, Я.Б. Бейкин^{1, 2}. **Использование технологии время-пролетной масс-спектрометрии для определения видового состава оппортунистической госпитальной флоры.** ¹МАУ «Клинико-диагностический Центр», Екатеринбург; ²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии УрОРАН», Екатеринбург

Цель настоящего исследования – оценить значимость использования технологии времяпролетной масс-спектрометрии для диагностики инфекций, вызванных оппортунистической госпитальной флорой.

Результаты мониторинга госпитальной флоры в отделениях реанимации и интенсивной терапии ЛПУ г. Екатеринбурга (1996–2015 гг.) свидетельствуют о значительной роли оппортунистической маловирулентной флоры, в т.ч. *A. baumanniae*, гемокультур коагулазонегативных стафилококков (КОС); кроме того, примерно в 5% случаев выделяют коринебактерии, бациллы, зеленый стрептококк, дрожжи. Данные микроорганизмы широко распространены в окружа-

ющей среде и могут контаминировать исследуемый клинический материал. Вместе с тем, патогенность отдельных видов или подвидов значительно варьирует. Применение в 2015 г. метода времяпролетной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI TOF, Biotyper, Bruker) позволило проводить более полную идентификацию выделенных микроорганизмов. В качестве преобладающих КОС отмечен *St. haemolyticus*, на втором месте *St. epidermidis* (соответственно 9 и 6 из 17 гемокультур). От одного пациента изолирован штамм *St. lugdunensis*, родственного с *St. haemolyticus*, но являющегося самым вирулентным из всех КОС, выделение которого требует незамедлительного начала лечения (Babu E., Oropello J., 2011).

Среди изолятов *A. baumanniae* 20% отнесены к подгруппе *A. baumanniae/nosocomialis*. Необходимость проведения дифференциальной диагностики заболеваний, вызванных этими микроорганизмами, связана с тем, что сепсис и другие инфекции, вызванные *A. baumanniae* протекают значительно тяжелее, летальность выше и среди данного вида панрезистентные штаммы встречаются чаще (Ya-Sung Yang et al., 2013).

Анализ видового состава коринебактерий выявил случай сепсиса, вызванный *Corynebacterium JK*. В течение 2015 г. из эндотрахеального аспирата 25 пациентов выделены *Corynebacterium striatum* (титр > 10⁵ КОЕ/мл), значение которых при госпитальном инфицировании возрастает (Renom F. et al., 2014).

Проведение спектрального анализа клинического изолята *Saccharomyces cerevisiae*, выделенного из крови, и пробиотической культуры позволило доказать случай сепсиса, вызванного приемом препарата «Энтерол» (Prespharm, Франция).

Таким образом, использование технологии MALDI TOF расширяет представление о циркулирующей в стационарах госпитальной флоре, делает возможным проведение сравнительного спектрального анализа для доказательства этиологического значения маловирулентных микроорганизмов.

Г.В. Савинов¹, О.А. Стуколова^{1, 2}, Н.П. Кирдяшкина^{1, 2}, И.П. Карасева¹, А.Е. Судьина¹, М.Л. Маркелов², Г.А. Шунулин¹. **Апробация иммуночипа для диагностики нейросифилиса и изучения спектра антител к белкам-антигенам *T.pallidum* в образцах сыворотки крови и спинномозговой жидкости.** ¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва; ²ФГБНУ «НИИ медицины труда», Москва

По данным ВОЗ, в течение года в мире регистрируется около 450 млн новых случаев наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Из них примерно 10,6 миллионов случаев приходится на долю сифилиса. Несмотря на снижение в Российской Федерации первичной заболеваемости сифилисом с 2000 по 2014 годы в 6,6 раза (со 165 случаев заболевания с впервые установленным диагнозом на 100 тысяч в 2000 г. до 25,1 в 2014 г.), отмечено увеличение показателей заболеваемости населения поздними формами сифилиса. Особое беспокойство вызывает рост заболеваемости нейросифилисом. За период с 2003 по 2013 г. заболеваемость ранним нейросифилисом в г. Москве выросла в 3,5 раза. Заболеваемость поздним нейросифилисом за тот же период времени выросла в 10,4 раза.

В последнее время появился новый класс наборов реагентов для лабораторной диагностики инфекционных заболеваний – иммуночипы, принцип работы которых основан на непрямом методе выявления антител к спектру антигенов с помощью флуоресцентной детекции.

Для изучения диагностической возможности иммуночипов в целях верификации наличия антител к белкам-антигенам *Treponema pallidum* в образцах сыворотки крови и спинномозговой жидкости использовался биологический ма-

териал 49 пациентов с установленным диагнозом «нейросифилис» и 24 пациентов, не имевших в анамнезе клинических проявлений вызванных *T. pallidum*. Данный биологический материал был охарактеризован с использованием наборов реагентов, основанных на методах РМП, VDRL, РПГА, ИФА, РИФ, РИБТ.

При изучении образцов спинномозговой жидкости, полученных от пациентов с установленным диагнозом «нейросифилис», с использованием иммуночипа специфические антитела как минимум к 1 из использованных рекомбинантных белков-антигенов (Trp17, Trp15, Trp47 и TmpA) *T. pallidum* были выявлены во всех 49 (100%) образцах. При этом антитела к рекомбинантному антигену Trp17 выявлялись во всех 49/49 (100%) образцах СМЖ, к антигенам Trp15 – в 37/49 (75,5%) образцах, к антигену Trp47 – в 38/49 (77,6%) образцах, к антигену TmpA – в 33/49 (67,3%) образцах. Интересно отметить, что в 7 образцах, когда другие трепонемные тесты показывали отрицательный, слаболожительный или дискордантный результат, при проведении исследования с использованием иммуночипа выявлялись только антитела к антигену Trp17 и только в 1 образце были выявлены антитела к антигенам Trp17 и Trp47. Таким образом, можно сказать, что наибольшая чувствительность анализа с использованием иммуночипа достигается при определении антител к белку-антигену Trp17. При исследовании 24 образцов спинномозговой жидкости, полученных от пациентов контрольной группы, были получены отрицательные результаты как РМП, так и ИФА, а также метода исследования в формате иммуночипа.

В результате проведенной работы было установлено, что разработанный иммуночип обладает 100% чувствительностью и специфичностью при определении антител к данному возбудителю, как в образцах сыворотки крови, так и в образцах спинномозговой жидкости.

Технология иммуночипов может быть использована для лабораторной диагностики как манифестных, так и асимптомных форм нейросифилиса, позволяет определить спектр специфических антител, что повышает точность диагностики, увеличивает предсказательную ценность получаемых результатов, позволяет существенно сократить время обследования пациента, а также осуществлять одновременное обследование большого числа больных. Преимуществом диагностического теста в формате иммуночипа при выявлении антител против антигенов *T. pallidum* является возможность его применения как в скрининговых, так и подтверждающих серо- и ликвородиагностических исследованиях, что позволяет значительно снизить стоимость анализов.

Ю.А. Савочкина, О.Ю. Тимошина, Ю.Л. Микулович, А.Е. Гуцин. **Выявление генов ОХА-карбапенемаз ацинетобактеров с помощью мультиплексной ПЦР в реальном времени.** ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Acinetobacter baumannii является одним из наиболее проблемных возбудителей нозокомиальных инфекций ввиду его природной и приобретенной резистентности к большинству современных антибиотиков. В последние годы в России, как и в ряде других стран, наблюдается резкий рост числа выявляемых штаммов этого микроорганизма, резистентных к карбапенемам, главным образом, за счет продукции приобретенных ОХА-карбапенемаз. Для выявления генов приобретенных ОХА-карбапенемаз ацинетобактеров основных групп – ОХА-23-подобных, ОХА-58 и ОХА-24/40-подобных – нами была ранее разработана и апробирована методика на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени с использованием флуоресцентно-меченых зондов.

Для оценки эффективности данной методики были проанализированы образцы положительных гемокультур и культур ликвора ($N = 80$), нативных образцов ликвора ($N = 150$),

полученных от пациентов, перенесших нейрохирургические операции, мочи ($N = 100$) и мазков со слизистой оболочки ротоглотки ($N = 100$). Также были проанализированы модельные образцы гемокультур, ликвора и мочи (по 20 образцов), в которые были добавлены суспензии бактериальных культур *A. baumannii*, несущих те или иные гены выявляемых ОХА-карбапенемаз, в количестве, соответствующем аналитической чувствительности для каждой группы образцов биоматериала. Гены ОХА-40-подобных карбапенемаз были выявлены в 15 образцах гемокультур и культур ликвора, из которых были выделены впоследствии резистентные к меропенему изоляты *A. baumannii*, а также в 7 образцах нативного ликвора (полученных от других пациентов). Положительные результаты ПЦР-РВ были подтверждены с помощью секвенирования. Гены ОХА-карбапенемаз соответствующих групп были выявлены во всех протестированных модельных образцах. При исследовании образцов мочи и мазков, полученных от амбулаторных пациентов, не было выявлено анализируемых генов ОХА-карбапенемаз.

При использовании данной методики в ходе проведения многоцентрового исследования «МАРАФОН» гены карбапенемаз групп ОХА-40-, ОХА-23- и ОХА-58-подобных были выявлены у 94,7% резистентных к меропенему и имипенему изолятов *A. baumannii*, полученных в 2011–12 гг.

А.А. Сайдуллаев¹, Г.Р. Ишмамедова¹, Е.В. Алиева², Ю.В. Первушин². **Профилактика туберкулеза в Чеченской республике.** ¹ГКУ «Республиканский противотуберкулезный диспансер», Уфа; ²ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь

Основным принципом организации работы Республиканского противотуберкулезного диспансера в Чеченской Республике является проведение всего комплекса противотуберкулезных мероприятий: а именно, профилактические осмотры населения на туберкулез, а также обследование, лечение и диспансерное наблюдение больных туберкулезом. Основной объем профилактической работы приходится на профилактические осмотры населения, которые включают в себя флюорографию взрослому населению и подросткам, а также туберкулинодиагностику детского населения. В 2015 г. флюорографическим обследованием охвачено 147 770 человек – 24,4% из числа подлежащего взрослому населению (план 587 513), что на 67% превышает число обследованных за аналогичный период 2014 г. – 88 374 человек. Наиболее высокие, хотя и недостаточные, показатели охвата ФГ в Надтеречном 51,3%, Сунженском – 46,9%, в г. Грозном – 47,6%, Введенском – 45,6% и Шатойском – 45,4% районах. Наиболее низкие показатели в Грозненском – 11%, Курчалоевском – 8,5% и Наурском 11,4% районах. В Шалинском 12,8%, в Урус-Мартановском – 25%. Подростков охвачено флюорографией 13 920, что на 117% превышает охват за 6 мес 2014 г. (6419), однако процент выявленных больных при профосмотрах низкий – 2 подростка из 10, т. е. 20%, при обращении выявлено 8 подростков с туберкулезом легких. При значительном увеличении охвата населения ФГ, абсолютное число выявленных больных (227) не изменилось. Выявляемость на 1000 осматриваемых составляет в 2015 г. – 0,19; в 2014 г. – 0,12 (РФ 0,58). Нулевая выявляемость при профосмотрах в г. Аргун, Введенском, Курчалоевском, Итум-Калинском, Ножай-Юртовском, Сунженском, Шалинском, Шаройском районах, Заводском и Октябрьском районах г. Грозного. Указанное свидетельствует о низком качестве проведения профосмотров ЛПУ указанных районов или об их фальсификации. Сохраняется низким, хотя и увеличился удельный вес больных, выявленных при профосмотрах 12,3% (2014 г. – 4,8%). Туберкулинодиагностика, при условии ежегодной постановки, позволяет выявить момент заражения ребенка туберкулезной инфекцией, так называемый «вираж», то есть

первичное заражение. В этот период наиболее высока вероятность заболевания и требуются профилактические мероприятия. Расчет потребности в туберкулине на следующий год проводится в конце текущего года и оформляется в виде заявки. В Чеченской Республике в 2013 и 2014 годах туберкулинодиагностика не проводилась, поэтому все данные о тубинфицированности и заболеваемости туберкулезом детей весьма приблизительные. Ввиду отсутствия туберкулина не проводилась и ревакцинация БЦЖ (прививки против туберкулеза). В 2015 году число посещений к врачу в поликлинике РПТД составило 34 816 человек, число посещений врачом на дому 926. Средняя нагрузка на час в РПТД – 6 пациентов в час при норме по утвержденным объемам 3,8. Ввиду отсутствия врачебных кадров во фтизиатрической службе, имеющиеся врачи значительно перегружены. Указанное не может не сказываться на качестве выполняемой ими работы. Вопрос привлечения в республику квалифицированных фтизиатрических кадров отчасти можно решить предоставлением им ведомственного жилья. Таким образом, охват населения ФГ в 1 полугодии 2015 г. хотя и увеличился почти вдвое в сравнении с прошлым годом, остается крайне низким. Крайне низкий охват ФГ обследованием неорганизованной части населения (неработающие, не обучающиеся, пенсионеры), являющихся основным резервуаром туберкулезной инфекции. Низкий процент выявляемости больных туберкулезом при профосмотрах, рост числа впервые выявленных больных с запущенными формами туберкулеза легких с ВК+ наиболее опасной в эпидемиологическом отношении, свидетельствует о некачественном их проведении.

Н.В. Сатеркин¹, А.В. Сергеева¹. Особенности экспериментов с самозаражением в историческом аспекте. ¹ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», Нижний Новгород

Наука о человеке вплоть до XVII века часто использовала единственный метод познания – наблюдение, позволявшее аккумулировать факты, относящиеся к социуму или организму конкретного человека. «Повальные» инфекционные заболевания традиционно привлекали особое внимание, со стороны людей, практиковавших медицину. С момента появления экспериментального подхода медицина, как известно, приобретает научный характер. Безусловно, эксперимент стал неотъемлемым компонентом современной науки, в том числе, в диагностике и профилактике инфекционной патологии.

Мы систематизировали информацию об экспериментах исследователей на себе (опыты самозаражения или самозаражения медиков и ученых стали яркой иллюстрацией борьбы с заразными болезнями, т. к. вся многовековая борьба человечества с инфекциями есть история мужества и самопожертвования. Целью нашего исследования явилась историко-эпидемиологическая оценка роли опытов самозаражения в становлении учения об инфекционной патологии и значения для современной медицинской науки и практики.

Эксперименты по самозаражению, проведенные в разных странах, были посвящены широкому спектру вопросов, связанных инфекционными и паразитарными болезнями (свыше 20 нозоформ). Подобные опыты характеризуются, на наш взгляд, следующими особенностями. Неотъемлемой чертой таких работ оставался высокий потенциальный риск здоровью исследователя. Объектом исследования становился сам врач, который выступал и как исполнитель, и как наблюдатель, регистрировавший результаты опыта. Иногда в подобных экспериментах принимали непосредственное участие родственники и члены семей исследователей (например, работы Дж. Солка, Е. Вольмана, А.А. Смородинцева). Важно отметить, что примеры самозаражений имеются не только за рубежом, но и в отечественной науке, о чем в со-

временной медицинской литературе часто умалчивается. В таких работах участвовали как состоявшиеся ученые, так и рядовые врачи, выполнявшие их в рамках своей рутинной деятельности. Подчеркнем, что имена многих постановщиков экспериментов с самозаражением затеряны в узком кругу посвященных, другие же стали известны широкой общественности. С современных позиций, вероятно, подобные опыты могут характеризоваться низкой «доказательной» базой, хотя, в то же время, их большой вклад в изучение инфекционной патологии не вызывает сомнений.

Используя полученные данные, мы попытались дать определение опыту самозаражения как научному термину. Оно может быть сформулировано следующим образом. Самозаражение (самозаэксперимент) представляет собой разновидность экспериментального исследования (иногда в клинических условиях) путем сознательного введения в собственный организм возбудителя инфекции и моделирования патологического процесса, а также воздействия предполагаемого фактором передачи возбудителя инфекции, которые проводятся с целью получения новых научных данных или уточнения имеющихся.

Имеется небольшое количество подробных описаний экспериментов, поставленных во второй половине XVIII века. Подавляющее количество детальных научных описаний экспериментов по самозаражению датируется XIX-XX вв. Кроме того, особенностью некоторых опытов, проведенных в прошлом веке, является их существенное влияние на общепринятые представления о причинах соматической патологии (например, исследования В. Marshall).

Одно и то же инфекционное заболевание нередко находилось в фокусе внимания сразу нескольких исследований, поэтому они могли быть проведены одновременно на разных территориях или в группе (например, изучение москитной лихорадки в 1916 г. Е.И. Марциновским и И.И. Широкоговым).

Рассмотрим эксперименты по самозаражению на примере истории изучения некоторых инфекционных болезней. Важнейшие опыты подобного рода охватили период с 1873 по 1923 г., и часто имели целью доказательство или уточнение этиологического значения холерного вибриона. Несмотря на открытие Р. Кохом возбудителя болезни в 1883 году, подавляющее количество экспериментов были поставлены в более позднее время, что отражало не стихающий в науке пристальный интерес к указанной инфекции (Н.Ф. Гамалея, М.И. von Pettenkofer, R. Emmerich и др.).

В течение нескольких столетий чума, как известно, оставалась одной из важнейших проблем общественного здравоохранения, что требовало от исследователей разных стран значительных усилий в области установления причины и средств борьбы. Анализ событий, связанных с московской чумой XVIII века, позволяет говорить о большом значении опытов самозаражения, поставленных М.А. Дегио и Д.С. Самойловичем (Сушковский). Путем самозаражений талантливый отечественный врач Д.С. Самойлович изучал особенности передачи возбудителя чумы, а также оценивал эффективность различных способов дезинсекции одежды и белья. Среди опытов в XX веке важно отметить работы В.И. Турчиновича-Выжникевича в условиях в специально организованной лаборатории в пригороде Санкт-Петербурга. Оценка эффективности чумной вакцины также была осуществлена с помощью самозаражения В.А. Хавкина в 1896 г., имеющего приоритет в разработке этого препарата.

Обратимся к истории изучения риккетсиозов. Описания подобных экспериментов относятся к 1878–1989 гг. В этой связи большой интерес представляют самозаражения Г.Н. Минха, Н.И. Латышева, А.Я. Алымова и др.

Нижегородская научная эпидемиологическая школа так-

же знает примеры самоотверженного изучения инфекционных болезней, а именно эксперименты по самозаражению орнитоза. Профессор А.М. Минеев в рамках проведения диссертационного исследования в 1963 г. с помощью такого опыта доказал возможность заражения человека *Chlamydia psittaci* пероральным путем.

Таким образом, имеются основания полагать, что научные данные в области эпидемиологии и профилактики многих инфекционных болезней, существенно обогатились информацией, которая была получена по результатам опытов самозаражения. Проведенная историко-эпидемиологическая оценка экспериментов по самозаражению позволяет говорить об их многогранном значении. Прежде всего, бесспорна их роль в научно-медицинском отношении: установление и доказательство этиологии заболевания (М.С. Балаян, В. Marshall и др.), изучение свойств возбудителя (Ф.Ф. Талызин, А.Н. Брудастов), эпидемиологических характеристик заболеваний, классификация инфекционных болезней (Д.А. Sargi6n, С.С. Андреевский), разработка и оценка эффективности мер профилактики (Д.С. Самойлович, R. Desgenettes и др.). Особо следует подчеркнуть педагогическое и социальное значение результатов и последствий опытов самозаражения, поставленных учеными и рядовыми врачами.

Ж.Ю. Сапожкова. Диагностические возможности цитологического исследования инфекционных патогенов в осадке эякулята. ГК Медхолдинг, Москва

Исследование классического биоматериала – уретрального отделяемого, секрета предстательной железы, первой порции мочи – у мужчин с урогенитальными жалобами часто остаются без выявления патологии. Как следствие этого – увеличение числа хронических форм заболеваний со стертой клинической картиной. В начале 2000-х годов цитологическая диагностика осадка эякулята стала приобретать клиническое признание. Но массовое использование в практике КДЛ было лимитировано ввиду отсутствия единого комплексного решения. Современной тенденцией является использование VisionCyto®SpermSediment (VC®SS) – системы макроскопического исследования эякулята и микроскопического анализа его клеток, нехарактерных для нормальной спермы, появление которых связано с патологическим процессом урогенитального тракта. За основу системы взят уникальный алгоритм Vision-SpermSediment (VSS), благодаря которому структурированы все этапы цитологического исследования анализа осадка эякулята. В алгоритме реализована математическая модель описания микроскопической картины с учетом диагностической ценности признаков найденных клеток.

В период 2010–2015 гг. у 787 мужчин двух частных клиник г. Москвы был исследован осадок спермы с помощью VC®SS. Все пациенты имели клинические жалобы, не позволяющие исключить урогенитальные инфекции. Одновременно было проведено тестирование цельного эякулята, секрета предстательной железы, уретрального отделяемого и первой порции мочи микробиологическим методом, световой микроскопией окрашенных по Маю-Грюнвальду–Гимзе образцов и полимеразной цепной реакцией (ПЦР).

У 98% больных осадок спермы был представлен нетипичной для семенной жидкости микробиотой: *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, элементами гриба рода *Candida*, стрептококками, стафилококками. В 25% случаев были обнаружены простейшие: *Entamoeba histolytica*, *Lambliа (Giardia) intestinalis*, различные морфотипы *Trichomonas vaginalis*. В 47% случаев выявлены клетки с признаками папилломавирусной (ВПЧ), цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции, эпителиальные включения, морфологически сходные с хламидийными, многоядерные клетки, пораженные *Herpes simplex*, клетки типа инородных тел, дегенеративно измененный эпителий простатической

части уретры и т. д. Диагностической информации, полученной другими методами и в другом биологическом материале у этой же группы пациентов, было не достаточно для уверенного суждения о характере процесса и назначения таргетной терапии. Точность алгоритма VSS оценивали путем расчета значений индикатора риска у одного и того же пациента, полученных из нескольких принципиально разных микроскопических изображений. Согласно оценке по методу Корнфельда, погрешность определения показателя риска ошибочного заключения о наличии инфекционного процесса, связанного с *T. vaginalis* составила 0,6–1,9%. Это говорит о достаточной для постановки первичного диагноза достоверности результатов исследования.

В настоящее время необходимость применения VC®SS у урологических пациентов доказана благодаря уникальному алгоритму, созданному на богатой междисциплинарной практике. Система VC®SS зарекомендовала себя как мощный диагностический инструмент для снижения хронических форм инфекций у мужчин при условии тесного сотрудничества высокопрофессиональных цитологов и урологов.

Н.С. Саркисян, Д.Г. Пономаренко, Е.Л. Ракутина, О.В. Логвиненко, М.В. Костюченко. Разработка метода количественной оценки степени IgE-опосредованной специфической сенсибилизации при бруцеллезе. ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь

Патогенетическая особенность бруцеллеза – формирование реакций замедленной и немедленной гиперчувствительности. К настоящему времени не предложено информативного методического подхода для оценки интенсивности IgE-опосредованной сенсибилизации при бруцеллезе. Известно, что в развитии гиперчувствительности немедленного типа ведущая роль отводится базофилам. Базофилы обладают способностью проявлять антигенреактивность *ex vivo*, соответственно эту популяцию лейкоцитов можно использовать для клеточных тестов *in vitro*. Наиболее информативные рецепторы активации базофилов – внутриклеточные антигены CD63, после стимуляции аллергеном происходит дегрануляция и CD63 экспрессируются на поверхности клетки.

Цель работы – разработка метода количественной оценки интенсивности IgE-опосредованной специфической сенсибилизации при бруцеллезе.

Исследован клинический материал от 209 человек с диагнозом «Острый бруцеллез» и 19 добровольцев иммунизированных против бруцеллеза (на 30–35 сутки после вакцинации), Вместе с тем обследовано 93 человека, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции: 13 беременных (31–33 неделя беременности), 40 добровольцев в возрасте от 2-х до 67 лет с аллергией в анамнезе, 40 человек, не имевших в анамнезе симптомов аллергии.

Наличие и интенсивность IgE-зависимой сенсибилизации к возбудителю бруцеллеза оценивали с помощью теста активации базофилов, используя наборы Flow CAST® («Buhlmann Laboratories AG», Швейцария), в качестве специфического антигена применяли бруцеллин (ФГУП НПО «Микроген», Россия).

Результаты исследования. Для оптимизации методики постановки реакции эмпирически определено количество бруцеллина необходимое для специфической активации клеток. Испытывали следующие дозировки аллергена: 10, 25, 50, 100 и 200 мкл. Стабильно воспроизводимый результат, у 100% больных бруцеллезом и вакцинированных против бруцеллеза, получен при использовании 50 мкл аллергена. При *in vitro* стимуляции бруцеллином базофилов крови обследуемых контрольной группы, беременных, лиц с аллергиями вне зависимости от количества аллергена полученные результаты не превышали 5%.

Диагностическую чувствительность метода оценивали путем определения количества положительных результатов аллерготестирования *in vitro* с бруцеллином среди лиц с клинически и лабораторно подтвержденным диагнозом «Острый бруцеллез». Из 209 больных острым бруцеллезом со средней степенью тяжести течения, в фазе компенсации, у 202 обследованных получены положительные результаты теста – активировались бруцеллином 5,1% и более базофилов, соответственно чувствительность метода – 96,6%.

Диагностическую специфичность определяли при подсчете положительных результатов аллерготестирования *in vitro* с бруцеллином у лиц не больных, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции. Из 93 обследованных, положительный результат аллерготестирования с бруцеллином *in vitro* получен у 4 лиц (4,3%), имевших в анамнезе аллергию, соответственно специфичность метода – 95,7%.

Предложенный методический подход для количественной оценки интенсивности IgE-зависимой специфической сенсибилизации организма при бруцеллезе, можно использовать для неинвазивной экспресс-аллергодиагностики бруцеллеза.

А.В. Сергеева, А.В. Кочубейник, А.С. Благодирова, О.М. Чеканина. **Молекулярно-генетический метод выявления пародонтопатогенных микроорганизмов в практике врача-стоматолога.** ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», Нижний Новгород

По данным ВОЗ, болезни пародонта наряду с кариесом зубов и его осложнениями являются самыми распространенными стоматологическими заболеваниями. Воспалительные заболевания пародонта регистрируются среди различных возрастных групп населения в более чем 80% случаев. В многочисленных научных исследованиях доказано, что в основе патогенеза заболеваний пародонта лежит взаимодействие факторов иммунологической реактивности человека и пародонтопатогенной микрофлоры ротовой полости. К представителям такой микрофлоры, относят представителей с преимущественно анаэробным типом дыхания, которые отличаются высокими адгезивными, инвазивными и токсическими свойствами по отношению к тканям пародонта. Этиологическими причинами развития заболеваний пародонта являются следующие микроорганизмы: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium species* и *Treponema denticola* (Nonnenmacher, 2004). Кроме того, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Porphyromonas gingivalis* относятся к маркерам развития острого пародонтита (Richard J. Lamon, Robert A. Burne, Marilyn S. Lantz, 2010). Так называемый «красный комплекс», состоящий из *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*, связан с образованием глубоких кровотокающих десневых карманов (Richard J. Lamon, Robert A. Burne, Marilyn S. Lantz, Donald J. LeBlanc, 2010). Являясь анаэробами, данные микроорганизмы плохо поддаются культивированию, что является одной из проблем их диагностики. Необходимость специального оборудования и питательных сред затрудняет применение бактериологических тестов для выявления данных микроорганизмов. Использование молекулярно-генетического метода исследования позволяет не только быстро идентифицировать микроорганизмы, но и назначить адекватный курс лечения с оценкой его эффективности. Целью нашего исследования явилась оценка уровня распространения пародонтопатогенных возбудителей среди пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. На базе проблемной научной лаборатории ПЦР-исследований НИИ профилактической медицины Нижегородской ГМА было обследовано 27 пациентов на наличие пародонтопатогенных микроорганизмов методом ПЦР – RT с помощью набора «Дентоскрин» производства НПФ «Литех», Москва. В качестве материала

для исследования отбиралось содержимое пародонтальных карманов. Установлено, что из 189 исследований положительные результаты на наличие пародонтопатогенных возбудителей в клинически значимой концентрации составили 38,09±11,4%. Из них на группу микроорганизмов, имеющих высокий риск в отношении развития заболеваний пародонта (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*) приходилось 22,75±12,8%, а на группу с умеренным риском (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*) – 15,34%. Результаты ниже пороговых значений или отсутствие выявления микроорганизмов составили 61,91±8,98%. Процентное распределение возбудителей из группы высокого риска было следующим: *Porphyromonas endodontalis* и *Treponema denticola* – соответственно по 27,78%, *Porphyromonas gingivalis* – 20,37%, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – 3,7%. Среди возбудителей с умеренным риском преобладала *Tannerella forsythia* – 42,2±19,0%, а частота выявления *Fusobacterium nucleatum* и *Prevotella intermedia* составляла по 1,5% соответственно. Таким образом, доля клинически значимых возбудителей в развитии заболеваний пародонта регистрировалась в 38,09% с преобладанием среди них *Porphyromonas endodontalis*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forsythia*.

Среди 27 пациентов с воспалительными изменениями пародонта было установлено, что в 7,4% случаев это была моноинфекция с наличием только *Tannerella forsythia*. На долю микст-инфекции приходилось 92,6±10,3%. Микробные ассоциации были представлены преимущественно двумя возбудителями (40,74±29,6%), из которых во всех случаях встречалась *Tannerella forsythia*. На ассоциацию *Porphyromonas endodontalis* + *Tannerella forsythia* приходилось 22,2%, на *Treponema denticola* + *Tannerella forsythia* – 11,1%, на *Porphyromonas gingivalis* + *Tannerella forsythia* – 7,4%. Микст-инфекция с тремя микроорганизмами регистрировалась в 33,3% случаев, из которых в 18,5% она была образована *Porphyromonas endodontalis* + *Treponema denticola* + *Tannerella forsythia*. На ассоциацию с четырьмя возбудителями приходилось 14,8%, а с пятью – 3,7%. Пациенты с «красным комплексом» составили 14,8%. Таким образом, выявление у пациентов стоматологической клиники в более чем 90% случаев микробных ассоциаций доказывает, что в основе патогенеза заболеваний пародонта лежит специфическая инфекционная составляющая со сложными метаболическими, иммунологическими и деструктивными явлениями взаимодействия бактерий и организма человека.

Использование метода ПЦР в практике врача-стоматолога позволяет оценить состояние пациента и дать прогноз течения заболевания, а также проводить контроль за эффективностью лечения.

Сергиев В.П., Продеус Т.В., Продеус А.П., Максимова М.С., Грицюк О.В., Волкова В.В. **Бластоцисты как возбудители оппортунистической инфекции.** ¹ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ; ²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Blastocystis spp. – эукариотный паразитический одноклеточный организм – обитатель просвета толстого кишечника человека и многих животных без предпочтения к какому-либо типу хозяина. Среди наиболее значимых дискутируемых биологических свойств *Blastocystis* spp. следует отметить низкий патогенный потенциал. К настоящему времени бластоцисты рассматриваются как видовой комплекс, состоящий из 13 и более генетически различных субтипов, из которых 9 обнаружены у человека. Известно, что человек одновременно может быть инфицирован различными субтипами паразита (от

2 до 4), многие из которых имеют зоонозный потенциал.

Помимо высокой вариабельности генотипа, *Blastocystis* spp. обладает полиморфизмом, существуя в разных морфоформах. Этот факт существенно осложняет обнаружение и идентификацию паразита, что при широком распространении (от 7 до 70%) приводит к ошибочной интерпретации как лабораторных, так и клинических данных.

В процессе апробации способа идентификации бластоцист на основе сочетанного применения методов протозологической диагностики удалось верифицировать диагноз кишечного и внекишечного бластоцистоза. Из 189 обследованных с наличием и отсутствием расстройств ЖКТ из 7 ЛПУ г. Москвы и двух городов России выявлено 9 больных с морфологически подтвержденной инвазией. Среди них 5 больных с кишечной, 4 с внекишечной формой инфекции, в том числе два случая атипичной локализации процесса. *Blastocystis* spp. идентифицированы в мазках слизистой влагаллища и лимфоидной ткани миндалин. Характер течения процесса – острый (5 случаев); вялотекущий (2 случая); хронический (2 случая).

Клинические проявления инфекции оказались весьма необычны: от традиционных нарушений функции ЖКТ (диарея со слизью и кровью), болей в животе на фоне рецидивов инфекции *Entamoeba histolytica* или гепатита С до острого септического процесса или хронического воспаления при локализации в тканях кишечника, печени, легких, слизистой влагаллища и миндалин. Важно, что все наблюдаемые случаи возникли у иммунокомпрометированных больных (онкопроцесс, врожденное иммунодефицитное состояние, стрессовое состояние). Повреждающими факторами, помимо нарушения иммунитета, были структурные изменения тканей в результате травмы (3 случая), действие антибиотиков (2 случая) и первичной инфекции (2 случая). При проникновении в зону с измененной барьерной функцией органа (ткани) *Blastocystis* spp. демонстрируют высокие адаптационные свойства и формируют местные очаги воспаления (киста миндалин, абсцесс печени). Как возбудитель *Blastocystis* spp. обуславливают возникновение и развитие инфекционного процесса при нарушении механизмов защиты макроорганизма. Согласно условиям развития оппортунистической инфекции, даже не опасный для здоровья человека микроорганизм, включая *Blastocystis* spp., следует считать возбудителем, если возникающий инфекционный процесс происходит при снижении иммунной резистентности организма.

О.Ю. Сильвейстрова¹, Э.Р. Самитова², О.В. Ракчеева¹, О.Ю. Шупулина¹. **Применение молекулярно-биологических методов исследования в лабораторной диагностике острых экзантемных инфекций у детей и подростков.** ¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора», Москва; ²Детская городская клиническая больница им. З.А. Башляевой, Москва

Немало инфекций детского возраста сопровождается развитием макулопапулезной сыпи и лихорадки. Значительная часть этих инфекций имеет вирусную этиологию и может быть вызвана широким спектром возбудителей, включая вирусы кори и краснухи, парвовирус В19, энтеровирус, вирусы герпеса человека шестого и седьмого типов (ВГЧ-6 и 7), вирус Эпштейна-Барр. Несмотря на то что каждое заболевание подробно описано, во многих случаях сходство симптомов создает значительные трудности для диагностики отдельных нозологических форм на основании только клинических данных. В связи с этим дифференциальная диагностика острых экзантемных инфекций в настоящее время основывается на результатах лабораторного обследования пациента.

Целью данной работы являлось определение эффективности применения молекулярно-биологических методов исследования, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР),

в лабораторной диагностике острых экзантемных инфекций у детей и подростков.

В рамках научной работы с декабря 2015 г. по апрель 2016 г. в ДГКБ им. З.А. Башляевой г. Москвы было обследовано 89 пациентов в возрасте от 3 мес до 17 лет с различными первичными направительными диагнозами. Основным критерием включения в исследование было выявление у больного синдрома сыпи и лихорадки. Диагноз «корь» исключался на основании клинико-эпидемиологических данных.

Сбор биологического материала (цельная кровь) для последующего лабораторного исследования проводили у пациентов в первый день госпитализации, либо в день появления первых высыпаний на коже.

Выявление РНК вируса краснухи (*Rubella virus*) и энтеровируса (*Enterovirus*), ДНК парвовируса В19 (*Parvovirus B19*), вируса Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловируса (CMV), вирусов герпеса человека 6 и 7 типов (HHV-6, HHV-7), вируса ветряной оспы (VZV) в образцах цельной крови осуществляли методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Для тестирования использовали наборы реагентов, разработанные в ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора: «АмплиСенс® *Rubella virus*-FL», «АмплиСенс® *Enterovirus*-FL», «АмплиСенс® *Parvovirus B19*-FL», «АмплиСенс® *EBV/CMV/HHV6*-скрин-FL», «АмплиСенс® *HHV7*-скрин/монитор-FL», «АмплиСенс® *VZV*-FL». Постановку ПЦР, ОТ-ПЦР и последующий анализ полученных результатов проводили с использованием прибора «Rotor-Gene 6000» (Австралия).

По результатам лабораторного исследования, у 44 (49,4%) больных была выявлена моноинфекция: ДНК HHV-6 выявлена у 27 (30,3%) пациентов, ДНК EBV – у 9 (10,1%), ДНК HHV-7 – у 4 (4,5%), ДНК CMV – у 1 (1,1%), ДНК VZV – у 1 (1,1%), ДНК *Parvovirus B19* – у 1 (1,1%), РНК *Enterovirus* – у 1 (1,1%). У 28 (31,5%) заболевших была выявлена микстинфекция: ДНК HHV-6 и HHV-7 – у 5 (5,6%), ДНК HHV-6 и EBV – у 6 (6,7%), ДНК HHV-6 и CMV – у 1 (1,1%), ДНК HHV-7 и VZV – у 1 (1,1%), ДНК CMV и VZV – у 1 (1,1%), ДНК HHV-7 и EBV – у 5 (5,6%), ДНК HHV-6, HHV-7 и EBV – у 6 (6,7%), ДНК HHV-6, HHV-7 и РНК *Enterovirus* – у 1 (1,1%), ДНК HHV-6, *Parvovirus B19* и РНК *Enterovirus* – у 1 (1,1%), ДНК HHV-7, EBV и *Parvovirus B19* выявлена у 1 (1,1%). У 17 (19,1%) пациентов при проведении лабораторного тестирования установить этиологический агент экзантемной инфекции не удалось. Таким образом, благодаря применению метода ПЦР удалось выявить этиологический агент у 72 (80,9%) пациентов, что является достаточно высоким показателем в лабораторной диагностике острых экзантемных инфекций.

Т.С. Скачкова¹, О.Ю. Сильвейстрова¹, О.Ю. Шупулина¹, Н.В. Мозгалева^{2, 3}, Ю.Г. Пархоменко^{2, 3}. **Разработка набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса человека 8 типа.** ¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва; ²ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 2» ДЗ, Москва; ³ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва

Вирус герпеса человека 8-го типа (HHV-8) относится к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Rhadinovirus*. Вирус был открыт относительно недавно. В 1994 г. вышла публикация Y. Chang об обнаружении чужеродных последовательностей ДНК в геноме опухолевых клеток, выделенных из биоптатов очагов поражений кожи больных со СПИД-ассоциированной формой саркомы Капоши. Эти последовательности в дальнейшем были охарактеризованы как ДНК HHV-8.

Вскоре после открытия HHV-8 были проведены широкие исследования, направленные на поиск генетической информации этого агента при разных формах саркомы Капоши.

Учитывая высокий процент обнаружения HHV-8 в клетках саркомы Капоши, данные эпидемиологических исследований и трансформирующий потенциал некоторых генов HHV-8, вирус считают этиологическим фактором данного заболевания. В настоящее время показано, что HHV-8 является этиологическим фактором еще двух новообразований человека: первичной выпотной лимфомы (Primary Effusion Lymphoma) или В-клеточной лимфомы полостей тела (Body Cavity B-cell Lymphoma), а также многоочаговой болезни Кастлемана (Multicentric Castleman Disease). Эпидемиологическими исследованиями установлено, что в различных странах мира инфицированность населения HHV-8 существенно варьирует и четко коррелирует с уровнем заболеваемости саркомой Капоши. Что касается России, то статистические данные о заболеваемости саркомой Капоши отсутствуют, поскольку эта форма опухоли учитывается в совокупности со всеми злокачественными новообразованиями кожи.

С целью совершенствования диагностики заболеваний, ассоциированных с вирусом герпеса человека 8 типа (HHV-8), разработан набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК HHV-8 в биологическом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® HHV-8-скрин/монитор-FL». В качестве мишени был выбран наименее вариабельный участок генома HHV-8, имеющий уникальную последовательность, не встречающуюся у других возбудителей. Проверка аналитической специфичности набора реагентов продемонстрировала отсутствие ложноположительных результатов.

С помощью набора реагентов был проанализирован аутопсийный материал от 8 пациентов с патологоанатомическим диагнозом «генерализованная саркома Капоши» и «саркома Капоши кожи». Виды исследуемого материала: аутопаты кожи и внутренних органов из области макроскопических изменений. ДНК HHV-8 была выявлена у всех пациентов. Средняя концентрация возбудителя составила 4,49 Ig копий ДНК/10⁵ клеток человека (медиана 5,12 Ig копий/10⁵ клеток). Прижизненная диагностика у трех других пациентов показала, что в случае генерализованной саркомы Капоши ДНК HHV-8 выявлялась в сыворотке крови в концентрации 5300 и 200 копий/мл, а в одном случае локализованной саркомы Капоши ДНК HHV-8 в крови выявлена не была. Планируется проведение дальнейших исследований для определения возможностей использования набора для прижизненной диагностики заболеваний, ассоциируемых с вирусом герпеса 8 типа.

Применение наборов реагентов для выявления ДНК HHV-8 позволит изучить распространенность HHV-8, повысить эффективность диагностики заболеваний, ассоциированных с данным вирусом. Количественный формат набора позволит проводить мониторинг эффективности терапии.

В.А. Складар, Е.Г. Мухина. **Распространение носительства вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска среди женщин в Калининградской области.** ГБУЗ «Областная клиническая больница Калининградской области», Калининград

Вопрос диагностики заболеваний, обусловленных вирусом папилломы человека (ВПЧ), продолжает привлекать внимание врачей в связи с доказанной высокой онкогенностью определенных типов этого вируса. Внедрение молекулярно-биологических методов в широкую практику решило задачу трудности диагностики ВПЧ. По данным литературы, инфицированность населения России и мира вирусом папилломы человека в целом составляет от 40 до 80%.

В исследование были включены 2068 женщин в возрасте от 18 до 60 лет, обратившихся в гинекологические кабинеты Калининграда и области по поводу различных гинекологических заболеваний. Цель исследования – оценить общую

инфицированность женщин вирусами папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР). Материалом для исследования послужили соскобы, взятые с эпителия цервикального канала и шейки матки. Анализ проводился с помощью молекулярно-биологического метода – полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением технологии Real-time PCR на амплификаторе Corbett Research 6000, (Австралия). Для выявления ДНК использовали тест-систему «АмплиСенс ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», которая позволяет выявить ДНК ВПЧ ВКР трех филогенетических групп – А7 (18, 39,45 и 59 типы ВПЧ), А9 (16, 31, 33, 35, 52 и 58 типы) и А5,6 (51 и 56 типы) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией. Концентрацию ДНК ВПЧ в исследуемых пробах определяли с помощью стандартных кривых, построенных с использованием ВПЧ клонов данных типов. Вирусную нагрузку рассчитывали как количество копий ДНК ВПЧ на 10⁵ геномов человека. Анализ данных полученных методом детекции, осуществлялся автоматически, с использованием программного обеспечения в формате Microsoft Excel.

Положительные результаты на ВПЧ ВКР получены у 647 женщин (31,3%). Лидирующими по частоте встречаемости вирусами среди ВПЧ-позитивных лиц являются ВПЧ ВКР филогенетической группы А9 – у 53,8% женщин, реже встречается группа А7 – 25,7%, а на тип А5/А6 приходится 20,5%. Для определения зависимости частоты выявления ВПЧ от возраста женщины обследуемую группу разделили по возрастным категориям. В группе женщин 21–30 лет – 669 обследованных, из них положительные результаты обследования были получены у 290 (43,3%). Среди женщин до 20 лет ВПЧ обнаружен у 48,1%. В группе 31–40 лет процент положительных находок составил 27,7%. У женщин 41–50 лет выявляемость ВПЧ составляет 21,0%, а в возрасте старше 50 лет встречаемость ВПЧ значительно ниже – 17,7%. Стоит отметить, что у 26,7% лиц были выявлены сразу несколько типов ВПЧ ВКР. Так, например, чаще всего обнаруживается сочетание А7 и А9 типов вируса – в 9,2% исследованных клинических образцов. Одновременное присутствие А9 и А5/А6 – в 6,9% случаев, а сочетание А7 и А5/А6 – в 3,7%. Возбудители сразу трех филогенетических групп: А7, А9, А5/А6 встречаются в 3,4% случаев.

Таким образом, полученные результаты подтверждают высокий уровень инфицированности ВПЧ ВКР у жительниц Калининградской области. Распространенность ВПЧ-инфекции, в том числе инфекции несколькими типами ВПЧ ВКР, достигает максимума у женщин до 20 лет и в группе 21–30 лет и в дальнейшем, с увеличением возраста, снижается. Данные о распределении вирусной нагрузки не противоречат аналогичным, полученным при изучении инфицированности ВПЧ женского населения других регионов России, главным образом европейской части, где лидирующим вирусом также является ВПЧ 16-го типа.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения скрининговых исследований методом ПЦР на ВПЧ ВКР при профилактических осмотрах.

В.С. Смирнова¹, Т.Н. Романюк¹, А.В. Шаргородская², Т.С. Скачкова¹, О.Ю. Шипулина¹. **Сравнение информативности двух видов клинического материала при выявлении ДНК ЦМВ в урогенитальном тракте.** ¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва; ²ФГБУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Цитомегаловирус (ЦМВ), или вирус герпеса 5-го типа, – ДНК-содержащий вирус *Cytomegalovirus hominis* семейства *Herpesviridae*, подсемейства *Betaherpesvirinae*. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) – распространенная хроническая антропонозная болезнь с широким спектром симптомов.

Пути передачи вируса: вертикальный, половой, трансплацентарный, интранатальный и парентеральный. Вирус выделяется с мочой, слюной, мокротой, фекалиями, а также с кровью, спермой, цервикальным и вагинальным секретами.

К ЦМВ особенно восприимчивы реципиенты крови и органы, лица с ослабленным иммунитетом и новорожденные. В случае, когда беременная женщина заражена, плод может приобрести инфекцию трансплацентарно, или ребенок может получить инфекцию во время родов. В первом случае ЦМВ может привести к выкидышу, мертворождению или смерти новорожденного, у выживших новорожденных инфекция может проявляться в виде нарушений зрения, слуха, задержки психического развития, а также интеллектуальной инвалидности и других пороков развития. В случае интранатальной передачи инфекции у недоношенных новорожденных могут быть серьезные пороки, а у доношенных – редкие пневмонии. В целях профилактики инфицирования новорожденных рекомендуется выявление ЦМВ в родовых путях перед родами.

Цель нашего исследования – сравнение информативности двух видов клинического материала при выявлении ДНК ЦМВ в урогенитальном тракте.

Для этого было исследовано 464 образцов (по 232 образца из цервикального и вагинального каналов) от 232 пациенток. Из 464 образцов 440 отрицательных и 31 положительный образец. Среди положительных образцов 21 образец (9%) из цервикального канала (средняя концентрация ЦМВ – 3,3 Ig копий/10⁵ клеток, медиана 3,2 Ig копий/10⁵ клеток) и 10 (4%) – из вагинального (1,4 Ig копий/10⁵ клеток, медиана 1,4 Ig копий/10⁵ клеток). В случае, где ЦМВ присутствует и в цервикальном, и в вагинальном секрете (14 образцов – 6%), средняя концентрация вируса в первом – 3,4 Ig копий/10⁵ клеток, во втором – 1,4 Ig копий/10⁵ клеток.

В ходе исследования мы получили 14 конкордантных образцов и 17 – дисконкордантных. Среди 17 дисконкордантных образцов 3 образца, где результат был отрицательный в цервикальном секрете и положительный в вагинальном, средняя концентрация 1,7 Ig копий / 10⁵ клеток. В оставшихся 14 образцах, где результат был положительный в цервикальном секрете, но отрицательный в вагинальном средняя концентрация составила 3,3 Ig копий/10⁵ клеток. При этом концентрация ЦМВ в 2,5 раза выше в цервикальном секрете. Таким образом, наибольшей информативностью обладает материал из цервикального канала.

Е.В. Степанова, В.П. Сергиев, Е.Н. Жиренкина, А.С. Старостина, В.А. Мнев, Д.В. Солнцев, Е.Н. Морозов. Значимость показателей ИФА и ПЦР для лабораторной диагностики токсоплазмоза. Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Актуальность проблемы токсоплазмоза обусловлена значительной ролью этой паразитарной инфекции в патологии человека. Полиморфизм клинических проявлений и значительная частота бессимптомных форм носительства возбудителя создают определенные трудности в диагностике приобретенного токсоплазмоза. Внимания к себе требуют и широко распространенные латентные формы токсоплазмоза. Данная форма токсоплазмоза в нашей стране до сих пор расценивается как феномен бессимптомного носительства, и практические врачи не рассматривают ее как потенциальную патологию. Так называемый, «бессимптомный» токсоплазмоз может представлять собой серьезную недооцененную проблему не только в области здравоохранения, но и в экономике и общественной жизни нашей страны.

В настоящее время в Российской Федерации выпускаются несколько коммерческих тест-систем для ПЦР-диагностики токсоплазмоза человека. Материалом для диагностики служит венозная кровь. В данном исследовании представлены результаты сравнительного изучения двух

коммерческих тест-систем, основанных на применении различных методов (иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции) для диагностики хронического токсоплазмоза. Показателем хронического токсоплазмоза служило сочетание позитивного результата ИФА на IgG и отрицательного на IgM. Материалом для исследования служила кровь, сыворотка которой предварительно была протестирована на наличие иммуноглобулинов класса G к *Toxoplasma gondii* согласно протоколам производителя «Вектор Токсо-IgG» ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ». В ходе исследования сформированы две группы: опытная и контрольная. В опытную группу входили 100 сывороток от пациентов с наличием иммуноглобулинов класса G к *Toxoplasma gondii*. Контрольную группу составили 100 сывороток от здоровых лиц с отрицательным результатом ИФА на определение иммуноглобулинов класса G к *Toxoplasma gondii*. Выделение ДНК проводили из образцов крови опытной и контрольных групп (ПРОБА-НК, производителя ДНК-технология и «ДНК-экстран-1», производителя Синтол), амплификацию в режиме реального времени (набором реагентов для ПЦР *Toxoplasma gondii* производителя ДНК-технология) согласно протоколам производителей. Все образцы крови как контрольной, так и опытной групп при исследовании методом ПЦР показали отрицательный результат.

Токсоплазмы присутствуют в кровеносной системе в период, только когда паразит находится в стадии быстро размножающихся тахизоитов. Данная стадия обуславливает развитие острого токсоплазмоза. По мере формирования иммунного ответа число тахизоитов токсоплазм, циркулирующих в крови, уменьшается. В дальнейшем они полностью исчезают из крови, проникая внутрь клеток, где тахизоиты трансформируются в медленно размножающиеся брадизоиты, которые локализуются преимущественно в головном мозге и скелетных мышцах в форме цист. Брадизоиты ответственны за хронический токсоплазмоз и являются основной формой существования токсоплазм в организме промежуточных хозяев. Исходя из этого, маловероятно появление паразита в периферической крови во время хронической стадии токсоплазмоза. Поэтому ни у одной из 100 сывороток с серологически верифицированным диагнозом токсоплазмоз обследованных нами не было обнаружена ДНК *T. gondii*. С целью выявления дополнительных критериев надежности показатели ПЦР проведен сравнительный анализ результатов, полученных при одновременном исследовании сывороток обеих групп с помощью двух наборов для выделения ДНК *Toxoplasma gondii*. Результаты были идентичны как в опыте, так и в контроле.

Полученные данные позволяют судить о том, что основным методом диагностики хронического токсоплазмоза остается иммуноферментный анализ, обнаружение же ДНК *Toxoplasma gondii* в крови методом ПЦР маловероятно.

О.А. Стуколова^{1,2}, М.Л. Маркелов², А.Е. Судына¹, А.С. Черкашина¹, А.С. Долгова¹, Н.П. Кирдяшкина^{1,2}, И.П. Карасева¹, Г.А. Шипулин¹. Разработка и апробация биочипа для мультиплексного определения антител классов М и G и avidности IgG к белкам-антигенам возбудителей инфекций, входящих в группу ToRCH. ¹ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; ²ФГБНУ НИИ медицины труда, Москва

Внутриутробные инфекции (*T. gondii*, *Rubella Virus*, *HSV1*, *HSV2*, *CMV*), наиболее часто вызывающие тяжелые патологии развития плода, выкидыши и мертворождение, а также представляющие угрозу здоровью будущего ребенка, были объединены ВОЗ в группу ToRCH-инфекций. Относительно недавно была доказана роль инфекции, вызванной *Parvovirus B19*, в развитии неиммунной водянки плода. Иммунологическим маркером острой фазы инфекционного процесса, вы-

званного патогенным агентом, относящимся к группе ToRCH, является обнаружение в образце сыворотки крови матери антител класса М в присутствии или отсутствии низкоавидных антител класса G. Для проведения скрининговых исследований чаще всего используются наборы реагентов в формате ИФА. При обнаружении в образце сыворотки крови матери антител класса М, специфических к белкам-антигенам одного из патогенных микроорганизмов, входящих в группу ToRCH, проводится подтверждающий тест, например, иммуноблот, принимаются дополнительные меры вплоть до прерывания беременности. Принятый алгоритм надежен, но требует значительных затрат средств и времени. Таким образом, требуется новый диагностический метод, позволяющий получать точные результаты при низких затратах средств и времени.

Для создания биочипа, позволяющего одновременно и раздельно выявлять в образце сыворотки крови антитела классов G и M и определять индекс авидности антител класса G, на основе литературных данных была составлена панель белков-антигенов возбудителей ToRCH-инфекций (всего 18 белков-антигенов). Для всех белков на основе данных, приведенных в GenBank, с использованием специального программного обеспечения (<http://helixweb.nih.gov/dnaworks/>) были разработаны кодооптимизированные кодирующие последовательности ДНК, которые затем были собраны методом ПЦР из предварительно синтезированных олигонуклеотидов. Собранные гены были легированы в вектор pET24a и трансформированы в клетки *E. coli*. Полученные рекомбинантные белки были очищены из лизатов клеток *E. coli* с использованием методов аффинной и ионно-обменной хроматографии.

Методом бесконтактной пьезопечати растворы белков-антигенов были нанесены на дно активированных эрох-группами лунок 96-ти луночных планшетов. Были выбраны и оптимизированы условия проведения пьезопечати, блокирования и проведения анализа. Время анализа для определения в образце сыворотки крови антител классов G и M, а также авидности антител класса G, к 6 патогенным микроорганизмам, входящим в группу ToRCH-инфекций, составило 1,5 часа, а количество требуемого для проведения анализа биоматериала – 20 мкл.

Разработанный биочип был использован для определения иммунологических маркеров к патогенным микроорганизмам ToRCH-комплекса в 200 образцах сыворотки крови, которые ранее были охарактеризованы с помощью готовых наборов реагентов в формате ИФА, ИМХЛА или ИХ-ФА на наличие антител классов G и M (Diagnostic Systems Laboratories, Euroimmun AG – к *Rubella Virus*; Вектор-Бест – к *HSV*; Abbot Architect – к *CMV* и *T. Gondii*). После разрешения дискордантных результатов с использованием наборов реагентов в формате иммуноблота и лайн-блота производства Mikrogen GmbH, диагностическая чувствительность разработанного биочипа при выявлении антител класса G и их авидности составила 100% (*T. gondii*, *Rubella Virus*), 99% (*HSV I*, *HSV II*), 98,5% (*CMV*, *PVB19*), при выявлении антител класса М – 96% (*T. gondii*), 93% (*HSV I*), 95% (*HSV II*), 90% (*CMV*), 94% (*Rubella Virus*), 96% (*PVB19*). Диагностическая специфичность разработанного биочипа при выявлении антител класса G и их авидности составила 96% (*T. gondii*), 100% (*HSV I*, *HSV II*, *CMV*, *Rubella Virus*), 99% (*PVB19*), при выявлении антител класса М – 98% (*T. gondii*, *HSV I*, *HSV II*), 97% (*CMV*), 98% (*Rubella Virus*), 98,5% (*PVB19*).

Таким образом, разработанный метод позволяет за короткий промежуток времени определять наличие антител классов G и M, специфичных к антигенам возбудителей инфекционных заболеваний, входящих в группу ToRCH, в минимальном количестве образца сыворотки крови. Полученные данные дают возможность сделать вывод о высокой

диагностической чувствительности и специфичности разработанного метода.

Л.В. Сужаева, Е.В. Войтенкова, М.А. Макарова, З.Н. Матвеева, Л.А. Кафтырева. **Выявление диареогенных *E. coli* при дисбиозе кишечника у детей.** ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург

Острые кишечные инфекции (ОКИ) относятся к глобально распространенной полиэтиологичной группе заболеваний. Этиологическая диагностика ОКИ основана на применении комплекса методов, направленных на выделение и идентификацию живых возбудителей (бактерий), ДНК/РНК возбудителей вирусно-бактериальной природы. Дети раннего возраста являются наиболее поражаемой группой. От качества лабораторной диагностики зависит эффективность этиотропной терапии, а также целенаправленность профилактических и противэпидемических мероприятий. При проведении ограниченной лабораторной диагностики ОКИ некоторые этиологические формы остаются не расшифрованными и проходят под другими диагнозами, такими как «дисбиоз кишечника».

Цель работы заключалась в оценке распространенности патогенных эшерихий при дисбиозе кишечника у детей раннего возраста. Исследованы пробы фекалий от 393 детей в возрасте 0–2 лет согласно ОСТ 91500.11.0004-2003. Методом ПЦР в реальном времени с использованием отечественных тест-систем были изучены факторы патогенности у 511 штаммов *E. coli*. Выявлено, что в 87% случаев содержание бифидо- и лактобактерий в материале соответствовало норме: (*Bifidobacterium* spp. 10^8 – 10^{10} КОЕ/мл, *Lactobacillus* spp. 10^6 – 10^8 КОЕ/мл). Среди условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) с одинаковой частотой были выделены *Klebsiella* spp. и *S. aureus* (58,6%). Одновременно оба возбудителя присутствовали в материале у 34,6% детей в количестве, превышающем норму (10^7 – 10^8 и 10^4 – 10^6 КОЕ/мл соответственно). Другие УПМ выделялись реже: от 3% (*M. morgani* и *P. aeruginosa*) до 15% (*Citrobacter* spp.). У детей 1–6 месяцев жизни в 18% случаев на фоне нормального содержания бифидо- и лактобактерий полностью отсутствовали *E. coli*. У 77% детей *E. coli* характеризовались типичными свойствами (подвижные, лактозоположительные штаммы). У 40 (10,5%) детей, в геномах штаммов *E. coli* идентифицированы гены вирулентности, характерные для диареогенных эшерихий (энтеропатогенных *E. coli* – 3,3%; энтероаггегативных (EAggEC), – 5,9%; диффузно-адгегентных – 1,3%). 20 из 23 штаммов EAggEC были полирезистентны к антимикробным препаратам: беталактамам (за счет продукции БЛРС генетического семейства СТХ-М и AmpC – цефалоспорины), ко-тримоксазолу, левомицетину, тетрациклину и налидиксовой кислоте, но сохраняли чувствительность к карбапенемам, фторхинолонам и аминогликозидам. Каждый третий штамм *E. coli* (38,7%), соответствующий критериям оценки «Отраслевого стандарта 2003» как представитель нормальной микрофлоры кишечника, содержал гены вирулентности (*pap*-гены), характерные для уропатогенных *E. coli* – возбудителей инфекций мочевыводящих путей. EAggEC, как возбудители длительно протекающей персистирующей диареи у детей раннего возраста, в последние десятилетия признаны новой группой диареогенных эшерихий. Классическими бактериологическими методами невозможна их полная антигенная детекция из-за отсутствия полного набора отечественных сывороток для типирования O- и H-антигенов. В России разработаны тест-системы для ПЦР-диагностики этих возбудителей, но в рутинной практике их идентификацию, как правило, не проводят. По нашим данным у 6% детей раннего возраста при дисбиозах кишечника выделяются EAggEC, устойчивые к АМП. Идентификация этих патогенов в настоящее время невозможна без детекции генов вирулентности. Поэтому такие

дети не попадают в поле зрения инфекционистов, не получают адекватной терапии, а эпидемиологи не могут проводить профилактические мероприятия по ограничению циркуляции данных возбудителей. В России выделение, идентификация и официальная регистрация этих возбудителей, как правило, не проводится. EAggEC необходимо включать в перечень подлежащих выявлению возбудителей ОКИ у детей.

М.А. Сухина, А.Л. Сафин, В.И. Михалевская. Clostridium difficile ассоциированная инфекция. ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава РФ, Москва

С 1989 года как основной возбудитель антибиотикассоциированной диареи рассматривается *Clostridium difficile*, благодаря, по крайней мере, двум обстоятельствам: наличию токсина А и/или В и способности к спорообразованию.

Целью исследования явилось изучение распространенности *C. difficile*, факторов патогенности, оценка резистентности к антибактериальным препаратам изолированных штаммов *C. difficile*, возможности ингибирования роста *C. difficile* бактериоцинами лактобактерий.

В качестве материала исследования были использованы: 143 штамма *C. difficile* из кишечного биотопа, изолированные из 250 образцов фекалий пациентов. Изолирование и изучение патогенных свойств *C. difficile* проводилось в условиях бескислородной атмосферы с использованием анаэробной рабочей станции Bactron (Sheldon Manufacturing Inc., США). Была изучена способность образования биопленок, гемолитическая активность, резистентность к антианаэробным препаратам, продукция токсинов А и/или В. Для изучения антагонистической активности лактобактерий в отношении *C. difficile* было использовано 18 штаммов лактобацилл, выделенных из толстокишечного биотопа, штамм *Lactobacillus plantarum* 38 (из пробиотика «Лактобактерин сухой» ФГУП «НПО «Микроген») г. Нижний Новгород); 20 штаммов *C. difficile*, 14 положительных по токсинам А и/или В и 6 штаммов, не продуцирующих токсины. Все штаммы *C. difficile* изолированы от пациентов с клинической картиной *C. difficile* – ассоциированной инфекцией (CDI).

Из 250 клинических образцов просветных фекалий токсины А и/или В *C. difficile* определялись у 143 пациентов (57,2%). При бактериологическом исследовании выделено 104 культуры *C. difficile*, 92,3% изолировались в титре выше 10^6 КОЕ/г. В 71,7% случаях определялся только токсин В, 16,2% токсины А и В и токсин А были определены у 12,1% образцов. Все изоляты *C. difficile* были резистентны к цефалоспорином, 83,3% к клиндамицину, 66,7% к хлорамфениколу, 20% к метронидазолу и 1,5% к ванкомицину. Образованные биопленки были изучены у 25 штаммов *C. difficile*. 69,2% свежeweделенных культур демонстрировали высокую интенсивность биопленкообразования на стеклянном носителе. Все изолированные культуры обладали продукцией гемолизина, токсинов, повреждающих плазматические мембраны хозяина и формирующие в ней трансмембранные поры, приводящие клетку к лизису. За счет продукции особых веществ бактериоцинов лактобактерии способны ингибировать рост условно-патогенных бактерий. Содержание лактобацилл в 18-ти образцах фекалий варьировало от 10^3 до 10^8 КОЕ/г. При множественности 10^6 – 10^8 КОЕ/г лактобациллы отличались высокой, умеренной и низкой АА (38,9%, 11,1%, 11,1%). Штаммы, лишенные АА (38,9%), значительно различались по множественности (10^3 – 10^8 КОЕ/г). Лактобактерии демонстрировали высокую и умеренную АА против токсинегативных *C. difficile*. Лактобактерии из одного биотопа с *C. difficile* от пациентов с CDI не проявляли или проявляли низкую АА. Лактобактерии из одного биотопа с токсинообразующими *C. difficile* без клиники CDI обладали высокой антагонистической активностью.

Продукция токсинов сильно варьирует у разных токсиген-

ных штаммов. Выделяемые из клинических образцов штаммов *C. difficile* могут различаться по количеству синтезируемых токсинов и их биологической активности. Современная ситуация характеризуется сменой циркулирующих клонов *Clostridium difficile* с широким распространением штаммов, не продуцирующих токсин А. В нашем исследовании преобладали штаммы *Clostridium difficile*, продуцирующие токсин В. Антагонистическая активность лактобацилл открывает перспективы борьбы с токсинообразующими *C. difficile*.

И.С. Тартаковский¹, Т.И. Карпова¹, Г.М. Галстян², С.Б. Яцышина³. Особенности лабораторной диагностики легионеллеза для различных групп пациентов. ¹ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва; ²Научный центр гематологии, Москва; ³ЦНИИ эпидемиологии, Москва

Современные подходы к лабораторной диагностике легионеллеза нуждаются в усовершенствовании и должны строиться на дифференцированном подходе:

- к диагностике внебольничных тяжелых пневмоний;
- легочных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов (как правило, внутрибольничных пневмоний) легионеллезной этиологии; и разработке специальных алгоритмов микробиологических исследований для каждой группы.

В XXI веке был сформирован комплекс методов, обеспечивающих гораздо более эффективную и быструю лабораторную диагностику легионеллеза по сравнению с серологическими методами. Помимо бактериологического выделения легионелл из отделяемого нижней части респираторного тракта («золотой стандарт») к данной группе относится прежде всего метод определения антигена легионелл в моче и метод ПЦР. До начала настоящих исследований метод определения антигена легионелл в моче в России не применялся, а использование ПЦР при скрининговом анализе отделяемого верхней части респираторного тракта больных для дифференциальной диагностики микоплазменной, хламидийной и легионеллезной пневмонии обычно приводило к негативным результатам и не позволяло оценить роль легионелл в этиологии пневмоний в России.

В настоящей работе предложен дифференцированный подход для диагностики внебольничных пневмоний (сочетание иммунохроматографического метода выявления антигена легионелл в моче и бактериологических методов) и легочных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов (внутрибольничных пневмоний) легионеллезной этиологии (ПЦР с последующим применением бактериологических методов).

Бактериологический метод остается базовым в обоих случаях, но с учетом тяжелого течения легионеллезной пневмонии необходимость 3–4 дней роста культуры легионелл из клинического материала часто оказывается критическим фактором, не позволяющим своевременно начать адекватную антибиотикотерапию. Кроме того, в России крайне редко для исследования используют материал из нижней части респираторного тракта пациента (ЖБАЛ, биопсия), что является обязательным условием стандартной процедуры выделения легионелл за рубежом. В качестве основного метода диагностики внебольничных пневмоний легионеллезной этиологии нами был предложен иммунохроматографический метод. Для пациентов групп риска (пациенты отделений интенсивной терапии, гематологии, онкологии) был разработан иной алгоритм лабораторной диагностики, основанный на сочетании бактериологического и ПЦР исследования ЖБАЛ пациентов. Проведенные исследования позволили разработать и внедрить современные методы лабораторной диагностики легионеллеза в практику отечественного здравоохранения. Методы диагностики легионеллеза хорошо стандартизованы и доступны в настоящее время широкому кругу микробиологических лабораторий России. Широкое использование

стандартов лабораторной диагностики легионеллеза практическим здравоохранением является необходимым условием своевременного выявления и эффективной антибиотикотерапии случаев легионеллезной инфекции в нашей стране.

М.В. Таушева¹, Э.А. Имельбаева², Р.В. Мурзабаева¹, Д.А. Тимербаева¹, А.Ж. Гильманов². **Этиологическая значимость микробной флоры при гинекологических заболеваниях.** ¹ГБУЗ РБ ГКБ № 18, Уфа; ²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа

Воспалительные заболевания мочеполовых органов у женщин относятся к числу наиболее распространенных гинекологических болезней; более 80% из них имеют инфекционную природу. В лаборатории ГКБ № 18 (г. Уфа) на амплификаторе CFX-96 (БиоРад, США) в режиме реального времени проводится ПЦР-детекция 12 инфекционных агентов, передаваемых половым путем: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*, *Herpesvirus type 1, 2*, *Cytomegalovirus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Papillomavirus type 16, 18*. Нами была обследована группа из 45 женщин с доброкачественными процессами женской половой сферы в возрасте 30–40 лет, госпитализированных в плановом порядке в гинекологическое отделение. Среди них с миомой матки было 7 человек (15,5%), с кистой яичника – 13 человек (28,9%), с полипозом эндометрия – 25 человек (55,5%). В качестве контроля были обследованы 25 здоровых женщин того же возраста. Материал для исследования (соскоб слизистой из цервикального канала) помещался в транспортную среду. Выделение ДНК проводилось наборами для универсальной пробоподготовки фирмы ЛИТЕХ «ДНК-экспресс», исследование на наличие инфекций – с использованием ПЦР-тест-систем НПО «ДНК-Технология», позволяющих детектировать фрагменты ДНК, специфичные для отдельных возбудителей. Параллельно с ПЦР проводили исследования цитологических препаратов отделяемого с заднего свода влагалища, окрашенных по Романовскому и по Граму.

Случаи выявления *C. trachomatis* и *C. albicans* в клиническом материале методом ПЦР составили по 4% в группе здоровых и больных женщин. Частота обнаружения ДНК *U. urealyticum* в клиническом материале методом ПЦР составила 32% в группе здоровых и 48% в группе больных женщин, ДНК *M. hominis* – 16% в группе здоровых и 32% в группе больных женщин. Частота обнаружения ДНК *G. vaginalis* в клиническом материале составила 64% в группе здоровых и 68% в группе больных женщин; в структуре выделенных микроорганизмов в группе больных женщин преобладали именно *G. vaginalis* (68%).

У 57% больных с миомой матки были выявлены специфические фрагменты ДНК *U. urealyticum* и *G. vaginalis*; у 14% – *M. hominis*. У 43% больных с кистой яичника выявлялись специфические фрагменты ДНК *U. urealyticum* и *M. hominis*; у 71% – *G. vaginalis*. У 28% больных с полипозом эндометрия были обнаружены специфические фрагменты ДНК *U. urealyticum*, у 43% – *G. vaginalis*, у 14% – *M. hominis*.

У больных отмечалась тенденция к учащению обнаружения *M. hominis*, *U. urealyticum* методом ПЦР. Установлена прямая связь частоты обнаружения ДНК *M. genitalium*, *U. urealyticum* со степенью чистоты методом микроскопии, а также между числом лейкоцитов в препаратах гинекологических мазков, степенью чистоты и частотой выявления в ПЦР ДНК *C. albicans*, *G. vaginalis*. Показана прямая корреляционная связь между выявляемостью *G. vaginalis*, количеством ключевых клеток и числом лейкоцитов в гинекологическом мазке, и обратная связь – между обнаружением *G. vaginalis*, *U. urealyticum* и грамположительных палочек. Результаты выявления *C. albicans* методом ПЦР и дрожжеподобных грибов в гинекологическом мазке совпадали.

Таким образом, более высокая в сравнении со здоровыми женщинами частота выявления методом ПЦР *C. trachomatis*, *G. vaginalis*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *C. albicans*, *M. genitalium* у женщин с доброкачественными процессами гениталий (миома матки, киста яичника, полипоз эндометрия) может свидетельствовать об их роли как вероятных этиологических факторов указанных заболеваний. Метод полимеразной цепной реакции при диагностике дисбиотических, воспалительных и доброкачественных опухолевых процессов у женщин наиболее информативен при сочетании с общеклиническими методами исследования.

О.Ю. Тимошина, Ю.А. Савочкина, Ю.Л. Миколович, А.Е. Гуцин. **Разработка и апробация методики выявления генов бета-лактамаз расширенного спектра у энтеробактерий с помощью ПЦР в реальном времени.** ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Продукция бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) является наиболее распространенным и значимым механизмом резистентности энтеробактерий к широко применяемым в клинической практике группам антибиотиков – цефалоспорином и пенициллинам. Энтеробактерии, продуцирующие БЛРС, получили повсеместное распространение в стационарах, а в настоящее время приобретают нарастающее значение при внебольничных инфекциях мочевыводящих путей и интраабдоминальных инфекциях. Для выявления обусловленного БЛРС механизма антибиотикорезистентности нами была разработана методика на основе ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием флуоресцентно-меченых зондов, позволяющая детектировать гены БЛРС наиболее распространенной и значимой группы СТХ-М, включая СТХ-М-1-, СТХ-М-2-, СТХ-М-8/25- и СТХ-М-9-подобные.

Методика была апробирована путем тестирования контрольных штаммов и коллекции ранее охарактеризованных изолятов 8 различных видов энтеробактерий. Было показано полное соответствие результатов с результатами фенотипического теста и секвенирования. При использовании данной методики для исследования образцов мазков со слизистой оболочки прямой кишки у госпитализируемых пациентов гены БЛРС группы СТХ-М были выявлены в 47 образцах (12,2%), включая все 40 образцов, в которых продуцирующие БЛРС энтеробактерии были выявлены бактериологическим методом. Наличие генов БЛРС группы СТХ-М у бактерий в 7 дополнительных положительных образцах было подтверждено с помощью секвенирования. Данные результаты свидетельствуют о более высокой чувствительности методики на основе ПЦР-РВ при скрининге колонизации БЛРС-продуцирующими бактериями.

Разработанную методику использовали для выявления генов БЛРС в образцах мочи пациентов, обследуемых по поводу предполагаемой инфекции мочевыводящих путей ($n = 398$). Гены БЛРС группы СТХ-М были выявлены в 25,7% образцов ($n = 36$), полученных от амбулаторных пациентов, у которых значимая бактериурия была обусловлена энтеробактериями. Положительные результаты ПЦР-РВ были подтверждены с помощью секвенирования.

Разработанная методика на основе ПЦР-РВ позволяет эффективно выявлять гены БЛРС группы СТХ-М в различных образцах биологического материала.

Тимошечева Т.А.¹, Амосова И.В.¹, Бузтская Ж.В.¹, Егорова А.А.¹, Львов Н.И.² **Перспективы использования методов микрокультурального ИФА и иммунофлуоресценции на культуре клеток для диагностики аденовирусной инфекции.** ¹ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава РФ, Санкт-Петербург; ²ФГБОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Респираторные вирусы широко циркулируют и активно передаются среди военнослужащих. Этому способствуют

условия жизнедеятельности и характер профессиональной подготовки личного состава. До 80% призывников переболевает аденовирусными (АВ) инфекциями, около 20% заболевших нуждаются в госпитализации. По литературным данным, большинство из этих заболеваний вызваны АВ 4 и 7 типов, реже – 3, 14 и 21 типов. Высокий уровень заболеваемости, разнообразие клинических проявлений, серьезные осложнения, пневмонии и даже летальные исходы определяют актуальность своевременной разработки простых и быстрых методов специфической диагностики АВ инфекции.

Нами разработаны тест-системы для иммунофлуоресцентного (ИФЛ) и микрокультурального иммуноферментного анализа (мКИФА) для диагностики АВ инфекции. Для оценки эффективности их применения, а также определения генотипов АВ, циркулирующих в г. Санкт-Петербурге, были исследованы 40 клинических образцов (мазки из носа) от пациентов Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова, госпитализированных с диагнозом ОРВИ с апреля по июль 2014 г. Наличие АВ было подтверждено в ПЦР в 20 образцах. Для исследования методами непрямой ИФЛ и мКИФА использовали фиксированную ацетоном культуру клеток А-549, зараженную материалами от больных. Оценка репродукции АВ в инфицированной культуре клеток в обоих методах осуществляли с использованием на стадии детекции моноклональных антител (МКА), направленных к эпитопу в составе гексона АВ. Результаты, сопоставимые с данными ПЦР (для мКИФА чувствительность 85%, специфичность 100%, для ИФЛ 87 и 100% соответственно), были получены в течение 2 суток после заражения культуры клеток. Это позволяет рекомендовать мКИФА в качестве скринингового теста для определения образцов, перспективных для последующего, более трудоемкого метода выделения вирусов. Исследование методом ИФЛ культур клеток, зараженных клиническими материалами от больных, допускает хранение и транспортировку образцов перед исследованием, кроме того, существенно облегчается интерпретация результатов в сравнении с прямым анализом клинических образцов.

Проведено выделение ДНК и секвенирование 10 из исследованных образцов, положительный на наличие АВ по результатам ПЦР. Результаты филогенетического анализа по избранному участку гена показали принадлежность АВ из всех образцов к подгруппе Е, 4 серотипу. Изучение генетического разнообразия циркулирующих среди воинского контингента АВ позволит создавать новые и совершенствовать существующие меры специфической профилактики респираторной инфекции в вооруженных силах.

Таким образом, определены диагностические показатели новых моноклональных иммунологических тестов – мКИФА и непрямой ИФЛ при детекции АВ в культуре клеток, зараженной материалами от больных, чувствительность которых в сравнении с ПЦР составила 85 и 87% соответственно при 100% специфичности.

Филиппов В.С., Лиханская Е.И., Леонтьева Н.И., Янши В.В., Галеев А.В. **Оценка результатов лабораторной диагностики криптоспориоза различными методами.** ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Цель работы: оценить эффективность различных методов диагностики криптоспориоза у больных острыми инфекционными заболеваниями. В условиях инфекционного стационара были обследованы 266 пациентов в возрасте 18–50 лет с острыми респираторными вирусными заболеваниями, протекающими с развитием бактериальных осложнений (лакунарная ангина, пневмония, пиелонефрит). Для идентификации криптоспоридий в кале были выбраны и использованы три вида клинико-лабораторных исследований: выявление ооцист криптоспоридий классическим микроскопическим

методом модифицированной окраски мазков фекалий по Цилю–Нильсену с последующим исследованием в иммерсионной микроскопии; качественное определение антигенов иммунохроматографическим тестом RIDA®Quick Cryptosporidium parvum и иммуноферментным анализом – Cryptosporidium Antigen (Stool) ELISA.

Частота обнаружения криптоспоридий в кале одновременно тремя методами составила 26,19% (67 пациентов); микроскопический метод позволил диагностировать в 16,92% (45 пациентов); иммунохроматографический метод – в 11,65% (31 пациент); иммуноферментный анализ – в 9,8% (26 пациентов). Совпадение положительных результатов обследования одновременно тремя методами составило 20,89%, двух методов – 42,63%, а у 4-х пациентов криптоспоридии диагностировали только методом ИФА. В 81,88% случаев диагностика криптоспориоза осуществлялась микроскопическим методом.

Анализ сравнительного исследования используемых методов показал большую эффективность микроскопического метода диагностики криптоспоридий с использованием модифицированной окраски мазков по Цилю–Нильсену. Однако для повышения частоты выявления криптоспоридий в кале целесообразно использовать дополнительные методы лабораторной диагностики, такие как иммунохроматографический экспресс-метод, который не требует специализированных лабораторных условий, особенно во время массовых вспышек острых инфекционных заболеваний, а также ИФА в зависимости от фазы заболевания и течения болезни.

В.В. Хабибуллина¹, Э.А. Имельбаева², А.Ж. Гильманов², Е.В. Константинова¹. **Оценка показателей противовирусной защиты у доноров при производстве антицитомегаловирусного препарата МегаВир.** ¹Филиал «Иммунопрепарат» ФГУП «НПО Микроген» Минздрава РФ, Уфа; ²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) представляет серьезную проблему для современного здравоохранения, так как является одной из основных причин смертности и осложнений, возникающих при трансплантации органов и тканей. Протекая у взрослых бессимптомно, ЦМВИ становится опасной для плода во время беременности и в постнатальном периоде. У беременных женщин ЦМВИ приводит к преждевременным родам и мертворождениям. Для профилактики и лечения ЦМВИ в качестве этиотропной терапии используются противовирусные препараты (ганцикловир, ацикловир), а при резистентности к ним – фоскарнет в высоких дозировках, что часто приводит к развитию у больных тяжелых токсических осложнений: панцитопении, нарушению почечной фильтрации, токсическому поражению печени и центральной нервной системы. Все это побуждает исследователей к поиску новых, более эффективных и безопасных средств терапии и профилактики ЦМВИ. В последние годы с этой целью было предложено применять безопасные препараты естественного происхождения, в частности, препараты нормального иммуноглобулина человека.

Целью нашего исследования явилась оценка содержания антител к цитомегаловирусу (ЦМВ) в крови у доноров для получения специфического иммуноглобулина человека. Нами было проведено исследование плазмы 1200 доноров на содержание антител (АТ) к ЦМВ методом ИФА, определение их титров в зависимости от возраста, пола, группы крови доноров, а также сезонности и региона проживания.

Согласно полученным нами данным, существенных различий в титрах антител к ЦМВ в плазме доноров, проживающих в разных районах Поволжского региона, не выявлено, что позволяет производить ее отбор для производства препарата иммуноглобулина независимо от места заготовки сырья.

Сравнительный анализ уровня АТ к ЦМВ в крови не выявил различий между мужчинами и женщинами. Из 870 образцов плазмы непривитых доноров в 98 случаях (10,8±1,0%) содержание АТ к ЦМВ составило от 10,0 до 19,9 РЕ/мл, в 45 (5,3±0,5%) – более 20 РЕ/мл, что является достаточным для использования их при производстве препарата Мегавир. Содержание в плазме АТ к ЦМВ более 10 РЕ/мл чаще обнаруживается у доноров в возрасте от 30 до 45 лет, что позволяет рекомендовать использовать их плазму для производства специфического иммуноглобулина.

Нами установлено, что все ЦМВ-серонегативные доноры являются и ПЦР-негативными; доля таких доноров составляет 25–30%. Среди остальных 70–75% доноров (ЦМВ-серопозитивных) при исследовании методом ПЦР в 15% случаев в крови была обнаружена ДНК ЦМВ. Эти данные свидетельствуют о необходимости уделять особое внимание тщательному отбору сырья с применением метода генотестирования минипулов донорской плазмы.

Исследования avidности IgG-антител в донорской плазме со специфической активностью антител к ЦМВ не менее 10 РЕ/мл показали, что из 40 образцов плазмы в 9 случаях (23%) обнаруживался низкий индекс avidности. Поэтому при производстве специфического иммуноглобулина в качестве второго этапа скрининга сырья нами предусмотрено определение индекса avidности в высокотитражных пробах плазмы.

Полученные нами результаты подтверждают имеющиеся данные о сниженной противовирусной резистентности у лиц с 0(I) группой крови: низкое содержание анти-ЦМВ антител у доноров с 0(I) группой крови встречается в 2 раза чаще, чем у лиц с другими группами крови системы АВ0, а из 106 доноров с первой группой крови минимальная активность АТ к ЦМВ (3,5±0,9 РЕ/мл) отмечена у 62 (58%) доноров.

Таким образом, для производства специфического антицитомегаловирусного иммуноглобулина «Мегавир» может использоваться плазма неиммунизированных доноров в возрасте 30–45 лет, с активностью анти-ЦМВ антител в индивидуальных пробах не менее 10 РЕ/мл и индексом avidности не ниже 42%, собранная в различных регионах страны.

Г.А. Хайруллина, Т.И. Махова, А.Е. Гуцин. **Разработка методики на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени для выявления макролид-резистентных штаммов *Mycoplasma genitalium*, в образцах биологического материала.** ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Mycoplasma genitalium является причиной 10–35% случаев негонококковых, нехламидийных уретритов (НГНХУ). У женщин инфекция, вызванная *M. genitalium* ассоциирована с цервицитами и воспалительными заболеваниями органов малого таза. В настоящее время одной из наиболее серьезных проблем является появление и распространение штаммов *M. genitalium*, устойчивых к препаратам выбора – макролидам. В Европейских странах доля таких штаммов *M. genitalium* варьирует от 18 до 80%, что приводит к формированию хронического рецидивирующего процесса и необходимости изменения тактики лечения. Обнаружение устойчивых к макролидам штаммов *M. genitalium* до начала или после окончания лечения требует применения альтернативных схем лечения с использованием фторхинолонов (моксифлоксацина).

Устойчивость *M. genitalium* к действию макролидов обусловлена появлением мутаций в V домене гена 23S рРНК, главным образом в положениях 2058, 2059 и 2062 (нумерация по *Escherichia coli*). Разработанные на сегодняшний день методики выявления мутантных штаммов включают различные варианты пост-амплификационного этапа исследования, что затрудняет их использование в рутинной лабораторной практике особенно при скрининговых исследованиях. Для

этих целей была разработана методика на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени с модифицированными генотип-специфическими гибридизационными зондами, позволяющая одновременно выявлять наличие ДНК *M. genitalium* в количественном формате и дифференцировать мутантный генотип от дикого. С помощью разработанной методики было исследовано 393 образцов биологического материала от пациентов, инфицированных *M. genitalium*. В 21 (5,3%) образце были выявлены мутантные штаммы *M. genitalium*. Последующее секвенирование продуктов амплификации фрагмента гена 23S рРНК подтвердило наличие мутаций устойчивости к макролидам: 13 – А2059G, 5 – А2058G, 1 – А2058T, 1 – А2058С и 1 – А2062G.

Внедрение разработанной методики в лабораторную практику позволит изучать распространенность мутантных генотипов *M. genitalium* и корректировать тактику лечения пациентов при выявлении мутантного штамма.

И.В. Чеботарева, Н.В. Северская. **Оценка напряженности иммунитета к кори у сотрудников медицинского центра.** МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава РФ, Обнинск

Рост заболеваемости корью среди взрослого населения в последние годы поставил вопрос о необходимости вакцинации взрослого населения, в том числе медработников. Для выявления лиц, восприимчивых к вирусу кори, предложено определение антител класса IgG к вирусу кори.

Цель: оценить напряженность иммунитета к вирусу кори у сотрудников клиники по уровню антител класса IgG.

Обследовано 467 сотрудников клиники в возрасте 22–79 лет (медиана 52 года), лиц женского пола – 423, мужского – 44. Уровень антител к вирусу кори в сыворотке крови определяли с помощью тест системы «ВектоКорь-IgG» методом твердофазного иммуноферментного анализа (Вектор-Бест, Россия). Аналитическая чувствительность – 0,07 МЕ/мл. Диапазон измеряемых концентраций 0–5 МЕ/мл. Результат анализа считался отрицательным при концентрации IgG ≤ 0,12 МЕ/мл, неопределенным в диапазоне 0,12–0,18 МЕ/мл, положительным при концентрации ≥ 18 МЕ/мл.

Уровень антител ниже порогового значения (0,18 МЕ/мл) выявлен у 28/467 (6%) обследованных, из них у троих – неопределенный (0,12–0,18 МЕ/мл). Наиболее часто низкий уровень антител IgG встречался в группе лиц моложе 40 лет (20/86; 23%). В группе 41–50 лет – низкий уровень IgG наблюдался у 8/128 (6%) обследованных. Среди лиц старше 50 лет низкий уровень IgG встретился только у одного (1/253; 0,4%).

У 6% обследованных уровень антител IgG к вирусу кори ниже рекомендованного. Наиболее часто отсутствие иммунного ответа зарегистрировано у лиц моложе 40 лет (23%), что указывает на необходимость обследования с целью последующей вакцинации этой возрастной группы.

Н.В. Черемных. **Частота выделения *S. epidermalis* (MRSE) у новорожденных.** ГБУЗ ЯНАО «Новоуренгойская ЦГБ», Новый Уренгой

Проведение микробиологического мониторинга в учреждении родовспоможения является неотъемлемой частью противоэпидемических мероприятий. Разнообразие циркулирующей микрофлоры позволяет прогнозировать развитие тех или иных форм ГСИ среди новорожденных.

Цель исследования: изучение распространения *S. epidermalis* (MRSE) среди новорожденных. Противоэпидемические мероприятия.

За 2014–2015 гг. обследовано бактериологически 63 новорожденных. Отобрано 315 проб. Анализ антибиотикорезистентности проведен с помощью программы WHONET.

Ежемесячно, выборочно, проводится лабораторное обследование 5 новорожденных 1–5 суток жизни. Это ново-

рожденные госпитализированы в палатах «Мать и дитя» и ФОН. Точки отбора: конъюнктивы глаза, зев, анус, кожа, пупочный остаток. Доля коагулазонегативных стафилококков составляет 36,1%-40,0%. Наибольшая колонизация *S. epidermalis* отмечена конъюнктивы и зева. В 2014г *S. epidermalis* составлял 25,5% среди коагулазонегативных стафилококков. Тестирование *S. epidermalis* проводилось к антимикробным препаратам: макролиды, бета-лактамы, линкозамиды, фторхинолоны, аминогликозиды. С помощью программного комплекса WHONET проведена достоверная оценка антибиотикорезистентности. Отмечено, что в 30% *S. epidermalis* не чувствителен к оксациллину (MRSE). В 2015 г. доля *S. epidermalis* составила 2,6% от числа выделенных коагулазонегативных стафилококков. Но при этом увеличилась доля резистентных *S. epidermalis* к оксациллину и составила 66%. Данные результаты указывают на необходимость проведения противозидемических мероприятий. Проведена чувствительность дезинфицирующих средств к выделенному *S. epidermalis* (MRSE), применяемых в послеродовом отделении и отделении новорожденных. 0,2% «Триазин» и 0,015% «Део-хлор» не чувствительны к данному микроорганизму. Соответственно проведена ротация дезинфицирующих средств. Помимо этого проведены мероприятия: изоляция пациентов с MRSE, ранняя выписка новорожденных и родильниц, применение домашних пеленок, четкое обеззараживание постельных принадлежностей в дезкамере, применение диспенсерной системы с одноразовыми полотенцами, пропитанных 1% «Оптимакс» для текущих уборок в палатах, мытье рук и обработка кожными антисептиками персонала, строгое соблюдение принципов асептики и антисептики при работе с пациентами.

Адекватные методы микробиологического мониторинга и регулярный анализ полученных данных позволяют провести четкие противозидемические мероприятия, своевременную изоляцию пациентов с MRSE и не допустить развитие внутрибольничных форм гнойно-септических инфекций среди новорожденных и родильниц.

Л.А. Чернышева¹, Д.Г. Ким², А.Е. Гуцин¹, М.А. Гомберг³.
Исследование потенциальных возбудителей идиопатических уретритов у мужчин с использованием методики количественной ПЦР в реальном времени. ¹ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва; ²Городской Фонд ДНК-исследований, Москва; ³ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава РФ, Москва

Основными возбудителями уретрита у мужчин являются *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, а также *U. urealyticum*, в то же время более 50% случаев уретритов относятся к идиопатическим, т. е. этиологический агент не определяется. Потенциальными агентами, способными вызывать воспалительный процесс в мужской уретре являются микроорганизмы влажного биотопа.

Целью исследования явилось выявление роли бактерий, характерных для бактериального вагиноза (*Gardnerella vaginalis* I–IV генотипов, *Atopobium vaginae*, *Leptotrichia/Sneathia* spp., *Megasphaera* spp., бактерий, принадлежащих порядку *Clostridiales* (BVAB2, BVAB3)), кандидозного вульвовагинита (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis/parapsilosis*) и аэробного вагинита (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.) при идиопатических уретритах и баланопоститах у мужчин.

В период с 01.02.2016 г. по 28.04.2016 г. были обследованы 52 гетеросексуальные пары. Участники исследования были разделены на 2 группы: с наличием симптомов уретрита/баланопостита и/или бактериального вагиноза у одного или обоих половых партнеров, а также контрольную группу с отсутствием жалоб. Мы оценивали роль микроорганизмов,

ассоциированных с бактериальным вагинозом, в развитии патологических процессов нижних отделов урогенитального тракта мужчин. В задачи исследования входило изучение состава микрофлоры дистального отдела уретры, препуция и первой порции мочи у мужчин с клиническими проявлениями уретрита и баланопостита, и вагинального отделяемого их половых партнерш, а также оценка возможности полового пути передачи БВ-ассоциированных микроорганизмов.

Отмечена конгруэнтность состава микрофлоры в биологическом материале, полученном от половых партнеров в группе пациентов с проявлениями уретрита/баланопостита – частота выявления *G. vaginalis* III генотипа в паре составляла 15,3% в группе пациентов с жалобами у одного или обоих половых партнеров по сравнению с контрольной группой, в которой данный микроорганизм определялся только у одного полового партнера, но не в паре; частота обнаружения *G. vaginalis* IV генотипа у обоих партнеров в группе пациентов с жалобами составляла 72% по сравнению с 28,6% в контрольной группе, для *Megasphaera* spp. этот показатель составлял 25% и 0% соответственно, для *Sneathia/Leptotrichia* – 58,3% и 0% соответственно, BVAB2 – 66,6% и 0%, BVAB3 – 33,3% и 0% соответственно, *Atopobium vaginae* обнаруживался у двух партнеров в 25% пар по сравнению с 0% в контрольной группе, *M. hominis* – 40 и 0% соответственно. Степень микробного разнообразия коррелировала со степенью выраженности воспалительного процесса. Полученные данные могут свидетельствовать в пользу роли некоторых микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом в развитии уретрита и баланопостита у мужчин.

И.И. Шильникова, И.Н. Петухова, Н.С. Багирова, З.В. Григорьевская, И.В. Терещенко, Н.В. Дмитриева. **Анаэробные грамположительные кокки: этиология, идентификация и чувствительность к антибиотикам.** ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, Москва

Анаэробные грамположительные кокки (АГПК) составляют 25–30% от всех анаэробных микроорганизмов, выделяемых из образцов биологического материала больных с различными инфекционными осложнениями. Они способны вызывать инфекции кровотока, абсцессы, инфекции кожи и мягких тканей, суставов и костей, ротовой полости, дыхательных путей, ЖКТ и мочеполовых путей.

Систематика этой разнородной группы в последние десятилетия претерпела значительные изменения благодаря использованию молекулярно-генетических методов идентификации.

Новейший метод – времяпролетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционно/ионизационная масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS), позволяет быстро и достоверно проводить видовую идентификацию бактерий. В нашем исследовании был проанализирован 81 штамм АГПК, выделенный от онкологических больных в 2004–2014 гг. С помощью MALDI-TOF MS была проведена идентификация шести видов АГПК, среди которых преобладал *Fingoldia magna* (38 штаммов/47%), далее по убыванию частоты выделения следовали *Peptoniphilus harei* (23/28%), *Parvimonas micra* (8/10%), *Peptostreptococcus anaerobius* (7/9%), *Anaerococcus vaginalis* (4/5%) и один штамм *Peptoniphilus gorbachii*. *F. magna* наиболее часто выделяли из послеоперационных ран (45%), жидкостей (29%) и абсцессов (24%) при инфекциях мягких тканей, брюшной полости и мочеполовой системы. *Pt. harei* чаще выделяли из жидкостей (43%) и хирургических ран (39%) и реже из абсцессов (13%) при инфекциях различной локализации. *Pa. micra* наиболее часто выделяли при инфекциях легких и брюшной полости, тогда как *Pe. anaerobius* – при инфекциях мягких тканей и мочеполовой системы. Чувствительность выделенных штаммов к восьми

антимикробным препаратам определяли с помощью полосок M.I.C.Evaluator (Oxoid, England). Все штаммы были чувствительны к имипенему, ванкомицину и линезолиду. Чувствительность к пенициллину, амоксициллин/клавуланату, метронидазолу и фторхинолонам варьировала у разных штаммов. Для большинства штаммов АГПК МПК метронидазола составляла 0,25–1,0 мкг/мл. Один штамм *F. magna*, выделенный в чистой культуре из распадающейся опухоли средостения, обладал множественной резистентностью. Этот штамм был устойчив к метронидазолу (32 мкг/мл), пенициллину (32 мкг/мл), левофлоксацину (32 мкг/мл) и ципрофлоксацину (32 мкг/мл) и обладал промежуточной чувствительностью к амоксициллин/клавуланату (8 мкг/мл). Два штамма *Pa. micra* были устойчивы к 256 мкг/мл метронидазола, но чувствительны к остальным антибиотикам. К фторхинолонам были устойчивы 70% штаммов *F. magna*, 86% *Pe. anaerobius* и все штаммы *A. vaginalis*, тогда как среди *Pt. harei* и *Pa. micra* процент устойчивых штаммов был значительно ниже: 17 и 12,5% соответственно. Устойчивость к пенициллину наблюдалась у *Pa. micra* и *Pe. anaerobius* (по одному штамму каждого). Таким образом, для назначения адекватной антибактериальной терапии инфекционных осложнений, необходимо проводить достоверную видовую идентификацию возбудителя, поскольку чувствительность к антимикробным агентам может меняться в зависимости от вида выделенного патогена. Мониторинг резистентных штаммов необходим для эффективной эмпирической терапии.

С.Б. Яцьшина¹, Т.В. Спичак², С.С. Ким³, Д.А. Воробьева⁴, А.В. Горелов¹. **Роль респираторных вирусов и атипичных бактерий в этиологии внебольничной пневмонии у детей разного возраста.** ¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва; ²ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва; ³Детская городская поликлиника № 138, Москва; ⁴Российский Национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

По данным Европейского респираторного общества, вирусные внебольничные пневмонии (ВП) составляют около 40% ВП у детей. Респираторно-синцитиальный вирус (hRSv) в большинстве исследований признан значимым возбудителем, часто обнаруживаемым при инфекциях нижних дыхательных путей, включая бронхолит и пневмонию. Роль других респираторных вирусов: риновирус (hRv), вирусы парагриппа (hPiv1–4), коронавирусы (hCov) и бокавируса (hBoV) – неоднозначна. Спектр респираторных патогенов тесно связан с возрастом, а респираторные инфекции имеют сезонность и периодические эпидемические подъемы. Цель нашего исследования – установить этиологическую значимость при ВП у детей разного возраста 16 респираторных вирусов, *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* путем сопоставления частоты их обнаружения методом ПЦР у больных ВП и здоровых детей разного возраста за десяти-

летний период наблюдения. Обследовано 365 детей в возрасте 1 мес – 17 лет (4,95±3,97) больных среднетяжелой рентгенологически подтвержденной ВП и 583 условно-здоровых ребенка, сопоставимых по полу и возрасту. Методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени исследовали мазки из носо- и ротоглотки и у 20% больных – трахеальный аспират или мокроту на наличие нуклеиновых кислот 16 вирусов: гриппа (Inf A, B, C), hRSv, hPiv1–4, метапневмовируса (hMpv), hBoV, аденовирусов (hAdv виды B, C, E), hCov (E229, OC43, NL63, HKU1), hRv и ДНК *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* (использованы наборы реагентов ФБУН ЦНИИЭ, Москва).

Результаты исследования указывают на широкую распространенность вирусов при ВП, обнаруженных у 58,4% больных, особенно в возрасте до 2 лет (80%). У больных с достоверным отличием ($p < 0,0001$) по сравнению с группой контроля преобладали: hRSv (19,9% vs 2,2%), hBoV (6,6% vs 1,2%), hAdv (5,9% vs 0,5%), InfA (5,1% vs 0,5%) и hMpv (4,6% vs 0,2%). hRSv встречался с максимальной частотой в группах больных до 2-х и 2–6 лет, с достоверным отличием от контроля (35,4% vs 7,4%, $p = 0,005$ и 24,1% vs 1,3%, $p < 0,0001$). Средний возраст инфицированных hRSv больных составил 3,2±2,7 лет (медиана 2,6 лет). hBoV чаще обнаружен у больных в возрасте до 2 лет (15,4% при отсутствии в контроле, $p = 0,031$), причем 79,9% случаев в виде моноинфекции. Средний возраст инфицированных hBoV больных составил 2,3±1,1 года (медиана 2,3 года). hMpv выявлен у больных преимущественно в возрасте 2–6 лет (6,2%) и отсутствовал у здоровых детей этого возраста. Средний возраст инфицированных hMpv больных составил 4,3±3,7 лет (медиана 3,1 лет). Частота инфицирования Inf A больных была невысокой, без существенных различий в возрастных группах, средний возраст составил 5,1±4,1 лет (медиана 3,1 лет). hAdv чаще обнаруживался у больных 2–6 лет, и крайне редко в группах контроля (0–1,0%), средний возраст инфицированных составил 3,2±1,6 года (медиана 3,0 года). Риновирусы встречались чаще у здоровых детей, чем при ВП (27,1% vs 15,9%, $p < 0,0001$). Доля вирусных ко-инфекций была наибольшей у больных до 2 лет (16,9%) и уменьшалась с возрастом (1,9% у детей старше 6 лет). ДНК *M. pneumoniae* выявлялась во всех возрастных группах больных с максимальной частотой (28,6%) у школьников, и крайне редко (0,2%) – у здоровых детей.

Таким образом, доказана этиологическая роль при ВП у детей респираторно-синцитиального вируса, метапневмовируса, бокавируса, вируса гриппа А, аденовируса, *M. pneumoniae* и не исключена – для вируса гриппа В и вируса парагриппа 3. Установлена возрастная зависимость распределения возбудителей респираторной инфекции в этиологической структуре ВП. Опровергнута значимость для ВП риновирусов, обнаруженных чаще у здоровых, чем при ВП.