

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

Ю.А. Ахмадуллина, Г.А. Идрисова, А.Р. Мавзютов, А.Ж. Гильманов. Эндотоксины и антиэндотоксиновый иммунитет у пациентов с гнойной хирургической инфекцией

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

Хирургическая инфекция в большинстве случаев представляет собой гнойно-воспалительное заболевание с бурной симптоматикой и клинически выраженной интоксикацией, причем степенью последней, как правило, и определяется тяжесть патологии. Попадание в кровотоки микробного эндотоксина (LPS – липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий, освобождающегося при их распаде) в зависимости от дозы, сопровождается целым рядом реакций макроорганизма – от умеренной активации иммунитета до системного иммунного паралича, некробиоза эндотелия, падения кровяного давления и развития эндотоксического шока и полиорганной недостаточности. Имея в виду индивидуальную реакцию на LPS в зависимости от состояния и ресурсов иммунной системы организма, представляет существенный интерес определение объективных показателей токсикоза и антиэндотоксинового иммунного ответа организма на LPS в условиях ГХИ, тем более, что литературные данные по этому вопросу очень ограничены.

Целью настоящего исследования стало определение степени микробной эндотоксемии (по концентрации липополисахарида грамотрицательных бактерий – LPS) и показателей специфического антиэндотоксинового иммунитета (уровень LPS-связывающего белка – LBP - и IgG-антител к core-региону LPS) у больных с гнойной хирургической инфекцией (ГХИ), вызванной грамотрицательными бактериями и сопровождающейся клинически выраженной интоксикацией. В исследовании участвовало 28 пациентов в возрасте 18–46 лет с ГХИ, находившихся на стационарном лечении в ГКБ № 21 Уфы в 2010–2012 гг. У 77,8% пациентов при поступлении отмечались признаки острогнойного воспалительного процесса: повышенная температура тела, нейтрофильный лейкоцитоз и ускорение СОЭ. Контрольная группа состояла из 68 здоровых доноров. Плазменный уровень LPS у испытуемых определялся в хромогенном LAL-тесте с лизатом амёбозитов *Limulus*, уровень LBP и IgG к core-региону LPS в плазме крови – методом ИФА при помощи наборов фирмы «HyCult biotechnology» (Голландия).

Особенностями иммунного ответа организма на ГХИ являются увеличение выработки антител к core-региону LPS и активация синтеза липополисахаридсвязывающего белка – LBP. Средний уровень LPS в плазме крови пациентов с ГХИ ($1,12 \pm 0,56$ EU/ml) был почти втрое выше, чем у здоровых доноров ($0,38 \pm 0,26$ EU/ml; $p = 0,00001$), что прямо свидетельствует о развитии системной эндотоксемии. Уровень LBP у пациентов ($54,40 \pm 16,81$ мкг/мл) также превысил референтный «коридор» (до 10 мкг/мл) и был значительно выше по сравнению с контрольной группой ($30,80 \pm 13,03$ мкг/мл; $p = 0,00001$). Возрастание уровня LBP у хирургических больных более чем в 5 раз от референтного уровня было ожидаемым с учетом значительного роста концентрации LPS. Уровень антител класса IgG к core-региону LPS ($0,95 \pm 0,64$ MU/ml) в 2,5 раза превысил показатели контроля ($0,37 \pm 0,22$ MU/ml; $p = 0,00001$).

Полученные результаты свидетельствуют о существенной патогенетической роли активации антиэндотоксинового иммунитета в развитии ответа на массивную циркуляцию LPS в крови и позволяют судить о динамике специфических иммунных показателей при ГХИ. Приведенные лабораторные данные могут быть основанием для назначения эндотоксин-нейтрализующей и дезинтоксикационной терапии у пациентов с ГХИ; необходимость проведения «антиэндотоксиновых» мероприятий должна определяться индивидуально, с учетом компенсаторных возможностей иммунной системы организма.

В.Д. Бадиков, Н.Н. Насанович. Современная микробиологическая диагностика: стандарты практики. ЗАО «Ситилаб», Санкт-Петербург

Уровень микробиологической диагностики в России остается одним из самых низких среди экономически развитых стран, что обусловлено слабой автоматизацией проводимых исследований. В противовес сформировавшейся тенденции микробиологические лаборатории ассоциации «Ситилаб» оснащены стандартизированным парком анализаторов последнего поколения, выпущенных мировыми лидерами в области лабораторной диагностики.

Для посева клинических образцов на питательные среды в лабораториях ассоциации используется система Previ Isola («Биомерье», Франция), позволяющая максимально стандартизировать и полностью автоматизировать процедуру посева. Для диагностики сепсиса и бактериемии наши лаборатории оснащены анализаторами гемокультур Bactec («Becton Dickinson», США) и VacT/Alert («Биомерье», Франция). Экспресс-диагностика инфекционных заболеваний обеспечивается за счет микроскопии мазков из нативного материала, приготовленных с помощью цитоцентрифуги AerosprayGram («Дина Интернешнл», США). Для идентификации микроорганизмов используется масс-спектрометр VITEK MS («Биомерье», Франция), а для определения чувствительности к антимикробным препаратам – автоматические анализаторы «VITEK 2 Compact» («Биомерье», Франция) и Walk-Away («Dade Behring-Siemens», США), обеспечивающие высокую стандартизацию исследований и позволяющие определять минимальную ингибирующую концентрацию антибиотика.

Внедрение в практику работы бактериологических лабораторий ассоциации «Ситилаб» комплекса современных автоматических анализаторов позволило нам значительно повысить уровень микробиологической диагностики и получить в декабре 2012 г. статус референсного центра компании «BioMérieux» (Франция) – мирового лидера в области клинической микробиологии и лабораторной диагностики.

В.В. Базарный, Е.А. Ваневская, Л.Г. Полушина, Ю.В. Мандра, С.В. Цвиренко. Характеристика секреторного иммунитета при герпетическом стоматите. ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава России, Екатеринбург

Герпесвирусная инфекция относится к числу достаточно изученных проблем. Однако в клинической практике нередки случаи тяжелого и рецидивирующего течения данного заболевания, что требует новых лечебно-диагностических подходов. Один из них связан с изучением состояния секреторного иммунитета слизистой оболочки полости рта (СОПР), что определило цель исследования – оценить взаимосвязь показателей секреторного иммунитета СОПР и стоматологического статуса пациентов при герпетическом стоматите.

Обследовано 25 здоровых добровольцев и 35 пациентов с диагнозом рецидивирующего герпетического стоматита, который был установлен в соответствии с национальными рекомендациями. Стоматологическое обследование включало определение индекса интенсивности кариеса зубов и упрощенного индекса гигиены. У всех обследованных получали спонтанную ротовую жидкость (РЖ) на 1–3 день с момента появления герпетических высыпаний. В ней определяли содержание белка, лейкоцитов (тест-полоски Multistix Bayer), концентрации лактоферрина (ЛФ), секреторного иммуноглобулина А (сИГ А) и интерферона- α (ИФН- α) методом твердофазного гетерогенного ИФА («Вектор-Бест»).

В РЖ у пациентов уровень лейкоцитов был повышен в 6,7 раза, ЛФ и сИГ А - в 2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой, а концентрация ИФН- α не отличалась от показателей группы сравнения. Установленные изменения секреторного иммунитета у пациентов коррелировали со стоматологическими индексами. Возможно, эти данные следует учитывать в разработке новых лечебно-диагностических технологий при герпетическом поражении СОПР.

А. Л. Байракова, В. М. Лахтин, М. В. Лахтин, С. С. Афана-сьев. Экспресс-оценка статуса биотопа человека по образованию ассоциативных биопленок на примере взаимодействий

между кандидами и лактобациллами. ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Ассоциаты микроорганизмов играют важную роль в поддержании здорового статуса биотопа человека.

Цель – разработать визуальный метод оценки статуса биотопа по способности кандид и лактобацилл к пленкообразованию.

Лактобациллы (в анаэробных условиях) и кандиды выделяли из вагинального биотопа стандартными методами с использованием твердых сред *Lactobacillus* MRS Agar (HiMedia), агара Сабуро, других. Все штаммы с оптической плотностью 1 (по Мак Фарреллу) в физрастворе добавлялись раздельно или в смесях (в равных соотношениях) в лунки панели с повышенной сорбцией (NUNK, NUNCLON) с бульоном MRS и инкубировали 2 сут при 37°C. Образование биопленок определяли визуально после окрашивания кристаллвиолетом, промывки дистиллированной водой и фиксации спиртом. Картины дна панели сканировали на приборе HP Deskjet F21187 и редактировали на компьютере в системе Windows 2007. Результаты подтверждали количественным анализом панели при 600 нм на ридере.

Разработан метод для визуальной экспресс-оценки модулирования пленкообразования в модельной системе вагинального здорового биотопа кандиды–лактобациллы. Панели могут служить для выявления биопленочного мозаичного (уникального) паттерна взаимодействий между условно-патогенной системой штаммов (кандид) и потенциальной пробиотической системой штаммов (лактобацилл). Штаммы ранжированы по способности к пленкообразованию и выраженности гидролитического потенциала. Выявленный гидролитический потенциал лактобацилл снижал у кандид способность к пленкообразованию (лактобациллы как быстродействующие антимикотики). Пленкообразующие лактобациллы образовывали ассоциаты с кандидами (лактобациллы как пролонгирующие деграданты биопленок кандид). Установлены пары «кандиды-лактобациллы» с минимальным и максимальным пленкообразованием.

Метод полезен для мониторинговой оценки состояния биотопа. Он позволяет отбор потенциальных штаммов (их комбинаций) для расширенных и каскадных пробиотических консорциумов. Метод пригоден для любых парных систем с участием грамположительных бактерий.

Ю.И. Бородин, А.В. Кузнецов, А.Н. Машак, С.В. Астраков, О.В. Попкова. Выявление трихомонад в небных миндалинах как профилактики трихомониаза. ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, ГБУЗ НСО ГКБ № 25, Новосибирск

Трихомонады поражают не только мочеполовые органы, но и дыхательные пути и даже лимфатические узлы. В клинической практике исследуют мочеполовые пути на предмет выявления трихомонад, а дыхательные пути, тем более лимфоидные органы, остаются без внимания как у пациентов страдающих, так и прелеченных по поводу трихомониаза.

Цель работы – повысить эффективность профилактики трихомониаза. Достижение поставленной цели достигалось решением задач: 1) разработать тест выявления трихомонад в дыхательных путях и лимфоидных органах; 2) увеличить массовость обследования. Задачи решались с помощью цитологического исследования окрашенных образцов, полученных посредством соскобов с поверхности небных миндалин (НМ) (патент № 2293987 РФ) и включения в тестирование, кроме пациентов, страдающих (и/или пролечившихся) трихомониазом, также здоровых людей, использующих нетрадиционный секс. Пример. Пациент (мужчина, 23 года) обратился к специалисту по поводу образования пальпируемого на шее, под кожей, в области проекции левой пластинки щитовидного хряща. Образование не лоцировалось при УЗИ. Пациент решил исключить в определенной степени онкологическое заболевание с помощью цитологического исследования НМ. В анамнезе: лечился по поводу трихомониаза (9 мес ранее до данного обращения). Атипичные клетки в соскобах НМ не были обнаружены, но среди эпителия находились трихомонады, что и не было учтено при традиционном профилактическом подходе.

Данный тест не имеет противопоказаний, существенно повышает эффективность профилактики трихомониаза, служит как дополнительный к общепринятым методам.

О.А. Васильева, Т.А. Чеканова, М.Л. Маркелов, Е.А. Пудова, Н.П. Кирдяшкина, А.Е. Судьина, А.И. Сажин, Г.А. Шипулин. Перспективы серологической диагностики TORCH-инфекций в новом формате иммуочипа. ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Учитывая особенности иммунопатогенеза инфекций группы TORCH, разработан прототип иммуочипа для детекции антигенов классов G и M к диагностически значимым антигенам возбудителя токсоплазмоза *Toxoplasma gondii*, вируса краснухи, цитомегаловируса, парвовируса B19, вирусов герпеса 1 типа и 2 типа, вируса Эпштейн–Барра. Белки-антигены клонированы, экспрессированы в *E. coli* и получены в очищенном виде, антигенные свойства и специфичность доказаны взаимодействием с охарактеризованными в ИФА сыворотками крови человека, полученными от больных с характерной клинической картиной и условноздоровых доноров.

Использование смеси конъюгатов антител к IgG человека и антител к IgM человека с флуорофорами Cy5 и Cy3 соответственно и учет результатов с помощью многоканального флуоресцентного сканера позволяют проводить дифференциальное выявление антител классов G и M в ходе анализа. Общее время инкубаций с исследуемыми образцами и конъюгатом не превышает 1 ч, для проведения анализа требуется не более 10 мкл сыворотки/плазмы крови.

Выявлена высокая корреляция результатов тестирования в ИФА сывороток крови на наличие антител классов G (> 90% по положительным сывороткам и > 95% по отрицательным) и M (> 90% по положительным сывороткам и > 85% по отрицательным) с данными, полученными с помощью иммуочипа. Сыворотки крови входят в состав представительной коллекции, сформированной с использованием данных, полученных в ЦМД ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора при проведении серологического анализа с помощью коммерческих ИФА тест-систем. Дискордантные образцы требуют дополнительного исследования с помощью коммерческих наборов реагентов в формате иммуоблота, так как в иммуочипе спектр антигенов возбудителя даже к одной отдельно взятой инфекции шире по сравнению с ИФА-форматом.

Ж.П. Васнева¹, Б.Е. Бородулин², Т.Е. Ахмерова². CD4⁺-лимфоциты и продукция γ-интерферона у детей с локальными формами туберкулеза (ЛФТ). ¹ОАО Самарский диагностический центр, ²ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России

Обследовали 39 детей (от 1 года до 15 лет) с ЛФТ (положительная Манту 2 ТЕ – 100%, диаскин-тест (ДСТ) – 92,3% случаев) (группа 1). В периферической крови (ПК) определяли: CD4⁺, CD4⁺CD27⁺, CD4⁺CD27⁻-клетки с использованием меченных ФИТЦ и фикоэритрином МКАТ (LT, Россия) и цитометра Calibur («ВД», США) в режиме «CellQuest». Продукцию γ-интерферона неспецифическую (γ-ИФН(ФГА) и специфическую (γ-ИФН(ДСТ)) определяли после 12-часовой инкубации ПК с ФГА и ДСТ при 37°C с использованием ИФТС (Россия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 5.5. В качестве контрольных использовали результаты обследования 85 детей (без туберкулеза, до 15 лет) Поволжского региона (группа 2). В группе 1 отмечалось снижение количества CD4⁺-лимфоцитов на 9%, продукции γ-ИФН(ФГА) в 1,6 раза, повышение продукции γ-ИФН(ДСТ) в 3 раза относительно группы 2. В 61% случаев (подгруппа 1.1.) отмечалось превалирование ранних эффекторов (CD4⁺CD27⁺) (в группе 2 – 57%), в 39% случаев (подгруппа 1.2.) - более поздних эффекторов (CD4⁺CD27⁻) (в группе 2–43%). В подгруппе 1.1 наблюдалось снижение CD4⁺-клеток (абс.) в 1,8 раза, γ-ИФН(ФГА) на 27,5%, повышение γ-ИФН(ДСТ) – в 6,7 раза относительно показателей соответствующей контрольной подгруппы. В подгруппе 1.2. отмечалось снижение содержания γ-ИФН(ФГА) на 24%, γ-ИФН(ДСТ) в 8 раз относительно подгруппы 1.1. Таким образом, в 39% случаев детей с ЛФТ CD4⁺-лимфоциты ПК находятся на более поздних этапах дифференцировки (CD4⁺27⁻), что сопровождается меньшим выбросом γ-ИФН под действием как неспецифического (ФГА), так и специфического (ДСТ) антигена.

Н.А. Воронина, Я.Н. Фролова, А.Ю. Миронов, Т.Д. Гасретова, Г.Г. Харсеева, О.В. Карнаухова. Характеристика антибиотико-

чувствительности возбудителя дифтерии и *Corynebacterium non diphtheriae*. ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Целью настоящего исследования явилось изучение чувствительности к антибиотикам типовой и биопленочной культур *C. diphtheriae tox⁺* и штаммов *C. non diphtheriae*. Исследовали типовую и биопленочную культуры штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺*, SV-665, полученного из ГИСК им. Л.А. Тарасевича и штаммы *C. non diphtheriae* (41 штук), выделенные при различной патологии. Штаммы коринебактерий идентифицировали классическим методом и секвенированием по 16S рРНК. Определение чувствительности к бензилпенициллину, цефотаксиму, цефазолину, гентамицину, линкомицину, ванкомицину проводили методом серийных разведений.

Результаты показали, что исследуемая типовая культура штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* №665 была чувствительна ко всем антибактериальным препаратам. Наименьшей чувствительностью типовая культура обладала к цефотаксиму, МПК которого составила $2,6 \pm 0,9$ мкг/мл. В составе биопленки чувствительность снижалась к цефазолину, бензилпенициллину, а к ванкомицину, цефотаксиму и гентамицину не изменялась по сравнению с типовой. По данным определения МПК₉₀ наибольшую активность в отношении штаммов *C. non diphtheriae* проявляли гентамицин, ванкомицин и цефотаксим (МПК₉₀ составила 2,5 мкг/мл), менее чувствительны коринебактерии были к бензилпенициллину (МПК₉₀ 6,25 мкг/мл). Наименьшей чувствительностью *C. non diphtheriae* обладали к линкомицину и цефазолину, подавляющим 90% штаммов в концентрации 15 и 10 мкг/мл соответственно. Таким образом, наиболее эффективными в отношении коринебактерий являются ванкомицин, гентамицин и цефотаксим, к которым чувствительность *C. diphtheriae* в составе биопленки не снижается.

М.А. Ким, Э.Н. Симованья. Новые маркеры тяжести инфекционного мононуклеоза Эпштейна–Барр вирусной этиологии у детей. ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону

Цель работы – с учетом состояния цитокинового профиля крови совершенствовать диагностику формы тяжести ОИМ ЭБВ этиологии.

Под наблюдением находилось 50 детей с ОИМ ЭБВ этиологии в возрасте от 3 до 14 лет. Первую группу составили больные со среднетяжелой формой заболевания ($n = 31$), вторую – с тяжелой ($n = 19$). Исследование профиля цитокинов включало определение концентрации ИЛ-1 β и его рецепторного антагониста в сыворотке крови с помощью тест-наборов для иммуноферментного определения концентрации ИЛ-1 β и РА ИЛ-1 β производства ЗАО «Вектор-бест» (Новосибирск) по методу, описанному в инструкции по применению (2009 г.).

При проведении сравнительного анализа цитокинового профиля у детей с разными формами тяжести заболевания отмечено значительное снижение продукции ИЛ-1 β у детей с тяжелой формой ОИМ ЭБВ этиологии по сравнению с пациентами со среднетяжелой формой ($5,4 \pm 3,0$ пг/мл против $31,3 \pm 11,5$ пг/мл; $p < 0,05$). Сравнение концентрации РА ИЛ-1 β у детей в обеих обследуемых группах (1-я группа – $1035 \pm 161,6$ пг/мл и 2-я группа – $1229 \pm 289,5$ пг/мл) достоверных отличий не выявило. Коэффициент соотношения РА ИЛ-1 β /ИЛ-1 β , отражающий выраженность противовоспалительного компонента иммунной защиты, был достоверно выше ($p < 0,05$) у больных с тяжелой формой (227,7), по сравнению с пациентами со среднетяжелой формой (33,1) ОИМ ЭБВ этиологии.

Включение в алгоритм обследования больных ОИМ ЭБВ этиологии определения уровня ИЛ-1 β и РА ИЛ-1 β и коэффициента их соотношения может способствовать оптимизации диагностики форм тяжести заболевания, разработке эффективных методов лечения, направленных на предотвращение неблагоприятных исходов, в том числе хронизации инфекционного процесса.

О.Г. Кимирилова, А.А. Кимирилов. Клинико-лабораторные особенности вирусных менингитов у детей. ГБОУ ВПО Астраханская государственная академия Минздрава РФ

Вирусные менингиты составляют до 70% всех нейроинфекций, являются жизнеугрожающими состояниями, сказываются на дальнейшем развитии ребенка.

Цель – совершенствование диагностики и лечения вирусных менингитов (ВМ) у детей по показателям концентрации лактоферрина (ЛФ) и ферритина (ФР) сыворотки крови.

Исследования ЛФ, ФР в сыворотке крови проведены методом ИФА, у 100 больных до 14 лет, энтеро- и арбовирусными менингитами. Контрольный показатель ЛФ составил $926,5 \pm 76,9$ нг/мл, а ФР – $32,6 \pm 4,7$ нг/мл.

У больных с тяжелым течением ВМ отмечено повышение ФР до $55,5 \pm 5,3$ нг/мл в начале заболевания с ростом к 7–10 дню до $81,6 \pm 8,7$ нг/мл и снижением в периоде реконвалесценции до $72,2 \pm 19,8$ нг/мл; снижение ЛФ с $809,3 \pm 52,6$ нг/мл в первые 3 дня заболевания до $345,7 \pm 52,6$ нг/мл в периоде реконвалесценции. При среднетяжелых формах концентрация ФР в данные сроки составляла соответственно $51,7 \pm 15,1$; $53,4 \pm 7,9$ и $38,8 \pm 8,9$ нг/мл, а ЛФ – от $486,7 \pm 106,9$ нг/мл до $306,1 \pm 57,5$ нг/мл ($p < 0,001$).

При ВМ выявлена достоверная корреляционная связь между цитозом ликвора и концентрацией ФР ($r = 0,14$) у больных с тяжелой формой менингита. Учитывая достоверность показателей ЛФ и ФР у больных с трехзначным нейтрофильно-лимфоцитарным цитозом ликвора, можно считать, что данные показатели могут отражать выраженность воспалительного процесса в оболочках и веществе головного мозга, а отсутствие лейкопении в гемограмме указывать на нарушение синтеза ЛФ нейтрофилами.

Рост концентрации ФР и снижение ЛФ в динамике ВМ соответствуют тяжелым формам и могут использоваться как дополнительные критерии степени тяжести и выраженности системного воспалительного ответа.

А.А. Кушкун. Современные подходы к диагностике и оценке эффективности лечения инфекции *Clostridium difficile*. ФГУ Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

Clostridium difficile – грамположительные спорообразующие строго анаэробные бактерии, впервые выделенные в 1935 г. из образцов кала новорожденных. В 1978 г. *C. difficile* идентифицированы в качестве причины псевдомембранозного колита. В настоящее время установлено, что *C. difficile* вызывают развитие антибиотикоассоциированных диарей и псевдомембранозного энтероколита. Основными поражающими факторами человеческого организма при заболеваниях, вызываемых *C. difficile* являются токсины А (энтеротоксин – TcdA) и В (цитотоксин (TcdB)). Не все штаммы *C. difficile* продуцируют эти токсины. Только патогенные штаммы содержат гены *tcdA*, *tcdB*, ответственные за синтез токсинов, и 3 гена, образующих локус патогенности (PaLoc), и только они способны вызывать развитие заболевания. Некоторые штаммы производят только токсин А, другие – только токсин В, а некоторые – токсин А и В (бинатный токсин).

Клиническими критериями диагностики антибиотикоассоциированных диарей является презентация у пациента 3 или более случаев неоформленного стула в течение 24 ч в течение 2 дней подряд.

В клинической практике важнейшую роль в установлении этиологического диагноза играют следующие лабораторные методы исследования:

1. бактериологическое исследование кала - выделение токсигенных культур *C. difficile*;
2. клеточное культивирование и анализ цитотоксичности;
3. иммуноферментный анализ (ИФА): определение глутаматдегидрогеназы токсинов А и В;
4. полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени (исследование на наличие генов *tcdB* или *tcdA* – детекция токсинов А и В).

Бактериологическое исследование кала – золотой стандарт в диагностике инфекции *C. difficile*. Он состоит из 2-х этапов: 1 этап – посев и выделение чистой культуры; 2 этап – тест на наличие токсинов. Основным недостатком данного метода является медленное получение результата исследования (несколько суток) и его дороговизна.

Метод клеточного культивирования и анализа цитотоксичности позволяет выявить наличие токсина(ов). Отфильтрованный экстракт стула вносят на монослой здоровых клеток в планшете. Цитопатический эффект равен цитотоксичности. Преимущество

метода – высокая специфичность для инфекции. Ограничения связаны с медленным получением результата анализа (1–2 сут), требует технических знаний и постоянного снабжения лабораторий клетками культуры ткани. Чувствительность метода 67–100%, специфичность 85–100%.

Метод ИФА позволяет обнаружить наличие в стуле глутаматдегидрогеназы, токсинов А и/или В. Глутаматдегидрогеназа – фермент, который содержит все формы *C. difficile* (особенно вегетативные). Поэтому метод ИФА можно использовать для 2 этапной диагностики инфекции: 1-й этап – исследование активности глутаматдегидрогеназы (скрининговый тест); отрицательный результат свидетельствует об отсутствии *C. difficile*; 2-й этап – исследование на наличие токсинов А и В. Чувствительность 2-х этапной диагностики инфекции составляет 79,2–98%, время исследования около 2 ч.

Метод ПЦР позволяет обнаружить гены, кодирующие синтез токсина, а не сам токсин. Однако ген, отвечающий за синтез токсина, может присутствовать, но этот ген может не «включаться» и не синтезировать токсин в организме пациента. Поэтому в ряде клинических ситуаций наличие гена токсина не позволяет различать колонизацию и клинические проявления заболевания. Чувствительность метода ПЦР составляет 96%, специфичность – 99%.

Оптимальным с точки зрения доказательной медицины в настоящее время является 3-х этапный метод диагностики инфекции *C. difficile*.

Согласно клиническим рекомендациям международных обществ по лечению антибиотикоассоциированных диарей:

1. лабораторный контроль за лечением инфекций ассоциированных с *C. difficile* не рекомендуется;
2. резистентность к метронидазолу встречается редко;
3. резистентность к ванкомицину не описана;
4. *C. difficile* и токсины могут сохраняться в стуле после разрешения клинических симптомов инфекции, антибиотики не устраняют персистенцию *C. difficile*;
5. Повторное исследование рекомендуется провести через 7 дней, если клинические симптомы сохраняются или рецидивируют.

Специалисты лаборатории должны знать, что *C. difficile* вызывает не только антибиотикоассоциированные диареи. Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) опубликовало 8 февраля 2012 г. сообщение, в котором предупреждает пациентов и врачей о том, что использование ингибиторов протонной помпы (ИПП) препаратов, применяемых для подавления секреции соляной кислоты в желудке, возможно увеличивает риск *C. difficile*-ассоциированных диарей. Для пациентов, принимающих ИПП и страдающих непроходящей диареей, необходимо рассматривать как возможный диагноз *C. difficile*-ассоциированную диарею. *C. difficile* является наиболее частой причиной внутрибольничных инфекций желудочно-кишечного тракта.

А.В. Лабушкина, Г.Г. Харсеева, Е.Н. Воробьева, Ю.М. Зленко, А.В. Петров. Местный противодифтерийный иммунитет у детей с аллергическими заболеваниями. ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Ростов-на-Дону

Несмотря на проводимую вакцинацию, в популяции продолжают циркулировать штаммы *Corinebacterium diphtheriae* с измененной генетической структурой. Поэтому опасность дифтерии не миновала.

Цель исследования – изучение показателей противодифтерийного местного иммунитета у детей с аллергическими заболеваниями, привитых противодифтерийными препаратами. Показатели местного иммунитета изучены у 50 детей (от 1 года до 15 лет с аллергическими заболеваниями (бронхиальная астма, астматический бронхит, поллинозы) и здоровых детей (131 чел.), привитых АКДС- и АДС-М-препаратами. У обследованных в слюне определяли уровень sIgA, противодифтерийных антитоксических и антибактериальных sIgA, IgE, ИЛ-4 и ИФН-γ в ИФА. Местный иммунитет у детей с аллергическими заболеваниями на фоне вакцинации противодифтерийными препаратами характеризуется формирующимся к 10-15 годам превалированием гуморальных иммунных реакций, которые сопровождаются более выраженной, чем у здоровых, продукцией IgE. Наличие в слюне у детей с аллергическими заболеваниями повышенных концен-

траций IgE, конкурирующих с sIgA за антиген, может явиться фактором, предрасполагающим к формированию дифтерийного бактерионосительства и усугублению инфекционного процесса. Настораживающим является и факт обнаружения у данного контингента обследованных пониженного содержания в слюне противодифтерийного антибактериального и антитоксического sIgA. Учитывая важную роль sIgA в колонизационной резистентности, препятствующей проникновению в организм бактериальных антигенов, полученные результаты свидетельствуют о меньшей устойчивости к адгезии *C. diphtheriae* организма детей с аллергическими заболеваниями по сравнению со здоровыми.

В.М. Лахтин, А.Л. Байракова, М.В. Лахтин, А.В. Алешкин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин. Биоупорядочение сосуществующими биотопными антагонистическими микробными консорциумами человека: диагностические паттерны. ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Биоупорядочение микробиоценозами является важным критерием состояния биотопов в организме человека, вовлекающего сложную сеть межклеточных коммуникаций, регулируемых лектинами, адгезинами и другими сигналами.

Цель работы – разработка скринингового визуального и количественного метода отбора штаммов и потенциальных консорциумов нормофлоры человека пробиотической направленности.

Исследовали 20 штаммов дрожжей *Candida* и лактобацилл *Lactobacillus*, выделенных из нормофлоры урогенитального биотопа здоровых доноров. Суспензии штаммов с оптической мутностью 1 ед. по Мак Фаррелу добавляли в возрастающих дозах в лунки полистироловой микропанели с избытком бульона MRS (варианты А, В, С, D и E) и инкубировали 48 ч при 37°C. Биопленки окрашивали генцианвиолетом, дно лунок фотографировали в проходящем свете и сканировали. Оптическую плотность фиксированных этанолом биопленок с красителем в лунках регистрировали на ридере с использованием светофильтра 620 нм. Визуально оценивали влияние рассасывающей биопленки активности и противоположное действие полисахаридных и других адгезинов. Для ранжирования выраженности биопленок в монокультурах нами предложено использование расчетного коэффициента (D+E)/(B+C), отражающего спрямление и снижение крутизны наклона дозовой зависимости оптической плотности в серии разведений микробных суспензий.

Получены статистически достоверные результаты, позволяющие проводить сравнительный визуальный и количественный мониторинг раннего пленкообразования штаммами лактобацилл и кандид нормофлоры человека и их смесями. На основании визуальных паттернов биопленок (для 96 комбинационных пар штаммов лактобацилл и кандид в каждом микропанельном чипе) проведена оценка вклада в биоупорядочение сосуществующих в биотопе родовых консорциумов популяций микроорганизмов, отобраны штаммы лактобацилл, максимально препятствующие образованию биопленок кандидами и являющихся потенциальными кандидатами в качестве ингредиентов про(син)биотиков. Возможны скрининг и отбор консорциумов штаммов про(син)биотической направленности, важных для профилактики и терапии болезней, обусловленных ранними нарушениями здорового статуса биотопов.

Метод перспективен для конструирования биосовместимых с организмом человека системных лекарственных форм направленного действия (антибиопленочного, антипатогенного, альтернативного антибиотикам, поддерживающего вспомогательного и комбинированного) для профилактики и терапии внутриполостных смешанных инфекций.

*М.В. Лахтин, А.Л. Байракова, В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев. Алгоритм упорядочения рядов смешанных микроорганизмов одного и того же биотопа человека в зависимости от пленкообразования для выявления регулирующих смешанные биопленки штаммов *Candida tropicalis* и *Lactobacillus*.* ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Устойчивые микробиоценозы важны для поддержания здорового статуса биотопа организма.

Цель – разработать алгоритм оценки штаммов, способных регулировать биоупорядочение в смешанных популяциях эу- и прокариотических микроорганизмов нормофлоры биотопа человека.

Микроорганизмы выделяли из урогенитального тракта и идентифицировали стандартными методами. Суспензии с оптической плотностью 0,9 единиц Мак Фарланда вносили раздельно или в смеси пар штаммов «Лактобациллы [Л, в рядах] + *S. tropicalis* [СТ, в столбцах]» в бульоне MRS (190 мкл + 30 мкл Л + 30 мкл СТ) в лунки микропанели (Nunc Nunclon, Sigma) и инкубировали 2 сут при 37°C. На ридере измеряли D_{620} в лунках (влияние роста и пленкообразования), образовавшиеся биопленки отмывали, окрашивали генцианвиалетом, обрабатывали 33% уксусной кислотой, растворы переносили в микропанель и измеряли D_{620} . Усредняли значения в рядах (влияние 8 штаммов СТ на каждый штамм Л) и столбцах (влияние 5 штаммов Л на каждый штамм СТ) и ранжировали штаммы по выраженности пленкообразования (опыт). Сравнивали с ранжированием смешанных культур (контроль).

Последовательности пленкообразования штаммов СТ включали (опыт): СТ7 музейный ($0,580 \pm 0,199$) > 151 ($0,489 \pm 0,177$) > 150 ($0,428 \pm 0,189$) > 161 ($0,323 \pm 0,168$) > 301 ($0,282 \pm 0,041$) > 137 ($0,276 \pm 0,121$) > 103 ($0,143 \pm 0,087$) > 135 ($0,114 \pm 0,099$); (контроль): СТ7 музейный ($0,882$) > 150 ($0,638$) > 135 ($0,567$) > 161 ($0,410$) > 301 ($0,288$) > 151 ($0,272$) > 137 ($0,125$) > 103 ($0,040$). Последовательности пленкообразования штаммов Л включали (опыт): 127 ($0,537 \pm 0,248$) > 105 ($0,316 \pm 0,171$) = 108 ($0,316 \pm 0,160$) > 107 ($0,287 \pm 0,151$) > 236 ($0,191 \pm 0,123$); (контроль): 127 (326) > 105 (0,254) > 107 (0,232) > 236 (0,183) > 108 (0,041). Удаление (выпадение) из последовательностей СТ штаммов 135 и 151, а из последовательностей Л штамма 108 приводит к идентичности опытной и контрольной последовательностей.

Результаты указывают на способность штамма 108 Л влиять на пленкообразование популяциями штаммов СТ, а штаммов 135 и 151 – на пленкообразование популяциями штаммов Л. Предложенный простой алгоритм позволяет выявлять ранние (сенсорные) бактериальные и грибковые регуляторы пленкообразования в смешанных микробиоценозах, оптимизировать соотношения микроорганизмов в биотопе в пробиотическом направлении.

В.М. Лахтин, М.В. Лахтин, А.В. Алешкин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин. Электрофоретические паттерны экзополисахаридов в типировании грамположительных бактерий (на примере штаммов пробиотических бифидобактерий). ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Бактериальные экзополисахариды (ЭПС) играют защитную роль, являясь источниками пробиотических и антимикробных агентов, характеризуют штамм.

Цель – разработать электрофоретические методы типирования грамположительных бактерий посредством наборов ЭПС.

Штаммы бактерий – из коллекции нормофлоры при МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Концентраты (с ассоциатами компонентов более 27 кД) получали микро- и затем ультрафильтрацией супернатантов культуральной жидкости бактерий в стационарной фазе роста. Электрофорез ЭПС проводили в пластине полиакриламидного геля в системе Леммли, а изоэлектрофокусирование – в пластине геля с 7–8 М мочевиной и 5% сахарозой в градиенте pH 4–8 с последующим электроблоттингом на иммобилон-Р (Millipore). ЭПС проявляли флюоресцентным красителем SYPRO Ruby protein gel/blot stain («Bio-Rad»), флюоресцентные паттерны регистрировали в BioChemSystem (UVP, Calif.).

1. Оптимизированы условия детекции ЭПС (кругов и эллипсов с эпицентрами и слоевой инфраструктурой [изоэлектрофокусирование]; кругов с расположенными в них наборами белков [электрофорез по Леммли]) бифидобактерий в режиме живого изображения флюоресценции. Метод выявляет видовые и штаммовые качественные (положение изоэлектрических точек и молекулярных масс эпицентров ЭПС) и количественные (выраженность кругов и эллипсов набухания геля) различия ЭПС. В катионной области выявлялись обычно 2 типа ЭПС (I и II) и 2 промежуточных типа (Ia – ближе к I, IIa – ближе к II). I – ближе к pH 7 (4 субтипа у *B. bifidum* № 1, 3 субтипа у *B. infantis*). II – ближе к pH 8 (представлен 2 субтипами у всех видов). Проведение типирования бифидобактерий: *Bifidobacterium longum* MC-42 (II>IIa>>I[нет]) и 2С (II>>I[нет]), *B. bifidum* №1 (I>II) и var. X (I = Ia >II), *B. infantis* 302-87 (II>I>IIa), *B. breve* 23 (II>>I[нет]), *B. gallinarum* ГБ (II>I>Ia). 2. Потребление и/или деградация ЭПС (*B. breve* > *B. longum* > *B. infantis*) были видны в условиях дли-

тельного хранения: в направлении от I (более нестабильных и более штамм/вид-зависимых) к II (продуцируемых в большем количестве, с повышенной стабильностью). Исчезновение ЭПС сопровождалось исчезновением их эпицентров.

Разработанные методы электрофоретического ЭПС-типирования бифидобактерий открывают новые перспективы и в отношении других таксономически близких грамположительных бактерий. Возможен мониторинг накопления ЭПС и их деградации, влияния хранения препаратов. Методы дополняют разработанные нами ранее подходы к типированию бактерий по белковым картам.

С.Г. Марданлы, Н.Н. Шершинева, И.Н. Кленяев. Разработка наборов реагентов для диагностики инфекций группы TORCH с помощью реакции иммунофлюоресценции. ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область

Реакция иммунофлюоресценции по-прежнему считается одним из наиболее эффективных методов лабораторной диагностики инфекционной патологии, являясь в ряде случаев ее «золотым стандартом». Она широко используется в лабораторной диагностике инфекций группы TORCH, однако отечественное здравоохранение не располагает отечественными наборами для реализации этого метода. На базе ЗАО «ЭКОлаб» разработаны наборы реагентов для выявления антител классов М и G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, цитомегаловирусу и *Toxoplasma gondii* в реакции иммунофлюоресценции.

Наборы включают: антиген возбудителя на стекле предметном; козы антитела к IgM или IgG человека, меченные флюоресцеин-5-изотиоцианатом (ФИТЦ) – ФИТЦ-конъюгат-IgM или ФИТЦ-конъюгат-IgG; контрольные образцы – положительный (сыворотка крови человека, содержащая соответствующие антитела в известном титре) и отрицательный (сыворотка крови, не содержащая соответствующие антитела); концентрат буферного промывочного раствора; буферный раствор для разведения образцов (при их титровании), краситель Эванса голубой и монтирующую жидкость.

Наборы реализуют метод непрямого иммунофлюоресцентного анализа. При наличии в исследуемых образцах соответствующих антител они связываются с антигеном, фиксированным на стекле. После введения в реакционную смесь ФИТЦ-конъюгата образуются комплексы /антиген-/антитело к нему-/антитело конъюгата/, наличие которых определяется по флюоресценции – желто-зеленому свечению при просмотре стекол в люминесцентном микроскопе.

Предварительные испытания наборов с использованием стандартизованных панелей сывороток предприятия показали их высокую эффективность, сопоставимую с эффективностью соответствующих импортных продуктов.

С.Г. Марданлы, Н.Н. Шершинева, И.Н. Кленяев. Испытания наборов реагентов для диагностики инфекций группы TORCH с помощью реакции иммунофлюоресценции на клинических материалах. ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область

Наборы реагентов для выявления антител классов М и G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, цитомегаловирусу и *Toxoplasma gondii* в реакции иммунофлюоресценции (РИФ), разработанные на базе ЗАО «ЭКОлаб», испытаны при исследовании образцов сыворотки крови пациентов, которые обследовались на наличие токсоплазмоза (155 образцов), герпетической (98 образцов) и цитомегаловирусной (50 образцов) инфекций.

Все образцы были предварительно исследованы с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствующих иммуноферментных тест-системах (ИФТС) производства ЗАО «ЭКОлаб», зарегистрированных в РФ.

При обследовании на токсоплазмоз, цитомегаловирусную инфекцию и герпетическую инфекцию, вызванную вирусом простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), получено практически полное совпадение качественных оценок образцов в ИФА и РИФ. Сопоставление оценок содержания антител в образцах при использовании несгруппированных данных, полученных в ИФА и РИФ, дало удовлетворительную степень их корреляции (коэффициент корреляции – 0,64) при анализе на токсоплазмоз и высокую степень (коэффициент корреляции – 0,90) при анализе на вирус простого герпеса типа 1. Столь же высокой оказалась связь титров

антител, полученных в РИФ и к ВПГ-1, и к ВПГ-2 (коэффициент корреляции – 0,91), при умеренной степени связи качественных оценок наличия антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 в РИФ (коэффициент корреляции 0,77) и полном отсутствии связи качественных оценок образцов по содержанию указанных антител, полученных в ИФА, а также качественных оценок наличия антител к ВПГ-2, полученных в ИФА и РИФ (коэффициенты корреляции 0,11 и 0,12). Последнее можно объяснить возможностью перекрестных реакций в РИФ между антигенами обоих типов вируса и антителами к ним, что подтверждается более низкими титрами антител к ВПГ-2 (в среднем в 2 раза) сравнительно с титрами антител к ВПГ-1 при их обнаружении в одном и том же образце.

Хотя интенсивность флюоресценции при проведении РИФ принято считать ориентировочной оценкой содержания антител, анализ сгруппированных данных, полученных при обследовании на токсоплазмоз, показал, что минимизация влияния случайных факторов при постановке и учете результатов РИФ может сделать оценку содержания антител с помощью указанного теста значительно более надежной.

С.О. Навольнев, О.А. Дмитренко. **Компьютерная программа для анализа трехмерной структуры белков и применение ее для визуализации и сравнительного анализа энтеротоксина стафилококка.** ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Изучение строения белков – важная часть современной медицины. Белки состоят из десятков тысяч атомов и обладают сложной геометрической структурой, особенности которой еще недостаточно изучены. Особый интерес представляет сравнительный анализ трехмерной структуры белков, выполняющих сходные функции (токсины, поверхностные белки и др.) с целью выявления общих и различающихся участков. Широко используемый метод сравнения по аминокислотным последовательностям, не позволяет выявить особенности пространственной структуры, важные для понимания функционирования белковой молекулы.

Цель работы – разработка компьютерной программы для сравнительного анализа пространственной структуры белков с использованием метода «визуализации», позволяющего отразить исследуемую нуклеотидную последовательность в виде цветного изображения, которое облегчает восприятие трехмерной структуры.

Логика создания программы состояла в следующем. Для сокращения времени анализа применили упрощенную модель белка – «бусины на нитке», в качестве «бусины» использовали альфа-атом углерода аминокислотного остатка. Особенности пространственной структуры выразили не с помощью трех переменных – координат атомов (x, y, z), а через одну – величину отражающую углы между «бусинами», что существенно сокращает время сравнения. Исследовали несколько геометрических параметров, отражающих углы между тремя аминокислотами, и углы между соседними тройками аминокислот. Проведенный анализ позволил разработать параметр, названный G1, отражающий «геометрическую сумму» этих углов. В результате трехмерная структура белка была представлена как последовательность углов (G1).

Определяли частоты встречаемости G1 у разных белков. Оказалось, что на полученных графиках частот встречаемости можно выделить 3 зоны – 1-я, четкая, образованная альфа-спиралями; 2-я – промежуточная; 3-я – образованная бета-листами. Для визуализации результатов проделали следующее. Эти зоны обозначили цветом – синим (1-я), зеленым (2-я) и красным (3-я). Таким образом, программа рисует белок (последовательность аминокислот) в виде разноцветной полосы, в которой разными цветами указана величина параметра G1, отражающего пространственное расположение соседних аминокислот. Программа также выдает результаты в цифровом виде и записывает их в базу данных. Предложено несколько вычислительных алгоритмов для отражения степени сходства пространственной структуры белков, выраженной через параметр G1.

При сравнении группы белков (координаты атомов взяты из www.pdb.org) программа выдает пространственную структуру белков в виде рядов разноцветных полос, расположенных горизонтально. Одновременно программа выдает ряды цветных полос, в которых различными цветами обозначен тип аминокис-

лотного остатка. В результате получается цветная карта, в которой визуально легко можно выявить общие и различающиеся участки, отражающие пространственную структуру белков.

Проанализировали 12 энтеротоксинов *Staphylococcus aureus*, получена цветная карта каждого токсина, позволяющая наглядно демонстрировать сходные и различающиеся области в этих белках. Для сравнения проанализировали несколько десятков других бактериальных белков, обладающих различной пространственной структурой и функциями. Получены разнообразные цветные карты, позволяющие наглядно сравнивать исследуемые белки и выявлять похожие. Полученные данные могут быть использованы для создания новых лечебных и диагностических иммунобиологических препаратов.

В.А. Пузанов, Л.П. Мартынова, О.О. Коваленко. **Проблемы лабораторной диагностики туберкулеза и микобактериозов в неспециализированных медицинских учреждениях.** ФГБУ ЦНИИТ РАМН, Москва

Известна привлекательность ПЦР-диагностики туберкулеза (ТБ), обусловленная как высокой чувствительностью и специфичностью метода для обнаружения микобактерий туберкулезного комплекса, так и доступностью и относительно не высокой стоимостью расходных материалов. В то же время эффективность лабораторной диагностики ТБ и микобактериозов в неспециализированных учреждениях ПМСП и частных медицинских центрах значительно ограничена.

Цель – изучить случаи ПЦР-отрицательных результатов диагностики ТБ при обязательной бактериологической верификации инфекционного заболевания. Ретроспективно (за 2011–I квартал 2013 г.) оценены результаты 544 исследований, из них 115 исследований мокроты, аспиратов, казеозов и др. были проведены 58 пациентам, у которых впоследствии был диагностирован ТБ сочетанный с микобактериозом или же микобактериоз. У 52 из 58 пациентов при отрицательных результатах PCR-диагностики только методом люминесцентной микроскопии были выявлены КУМ в 5 диагностических образцах, только культуральными методами – в 61 образце, обоими бактериологическими методами – в 40 образцах. Кроме того, были обнаружены нетуберкулезные микобактерии: *M. avium* в 17 образцах, *M. kansasii* в 9, *M. goodii* в 6, *M. xenopi* в 5, *M. lentiflavum* в 4, *M. intracellulare* в 3, однократно при диагностированы *M. smegmatis*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. simiae*, *M. fortuitum*, *M. malmoense*, *M. interjectum* и *M. heckeshornense*. Понятно, что данные больных микобактериозами не могли быть выявлены с помощью метода PCR. У остальных 6 больных был диагностирован ТБ сочетанный с микобактериозом, при этом результаты PCR-диагностики были отрицательными в одном и более исследованиях, а рост культуры микобактерий был получен только на питательных средах.

В случаях дифференциальной диагностики ТБ и/или микобактериозов лабораторные исследования следует проводить в специализированных бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений.

А. В. Соколенко, А. Ю. Миронов. **Индикация и идентификация некультивируемых форм *Vibrio cholerae* O1/O139 с помощью моноклональных антител.** НИИ биологии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава РФ, Москва

Некультивируемые формы (НФ) *Vibrio cholerae* O1/O139 серогруппы не растут на питательных средах, что существенно затрудняет их индикацию. Поиск и оптимизация методов, позволяющих выявить и идентифицировать НФ патогена в анализе, – актуальное направление развития современной лабораторной диагностики. Широкое применение в лабораторной практике идентификации микроорганизмов нашли моноклональные антитела (МКА), которые могут быть получены практически к любому антигену (АГ), чаще всего к белку или липополисахариду (ЛПС). Характеристика ЛПС с помощью МКА позволяет не только обнаружить микроорганизм, но, возможно, может служить маркером физиологического состояния и потенциальной биологической активности патогенна в некультивируемом состоянии (НС).

Цель исследования – изучение взаимодействия ЛПС НФ *V. cholerae* разного возраста с иммунофлюоресцентными МКА в анализе, характеристика изменений топологии эпитопов O_{Ag}

(ЛПС) *V. cholerae* O1/O139 в процессе обратимого перехода в НС. Исследование взаимодействия ФИТЦ-МКА с НФ разного возраста в микрокосмах с речной, морской, дистиллированной водой показало сохранность O_{AG} ЛПС в НС токсигенного и атоксигенного штамма, несмотря на существенное изменение морфологии и размеров клеток. Представленность и степень экспонирования эпитопов O_{AG} ЛПС НФ изучали в ИФА. Для НФ штаммов O139 серогруппы использовали МКА к эпитопам 3A9, D11, 3B5, C10, 3E4; штаммов O1 серогруппы – МКА к эпитопам F8G12, D8D6, C3B4, D7, F11E5, 3A9, контроль специфичности МКА - поликлональная холерная О-сыворотка. На разных этапах обратимого перехода в НС *V. cholerae* O1/O139 взаимодействовали со всеми исследованными МКА в реакции дот-ИФА. Наиболее выраженная цветовая реакция обнаружена в вегетативных пробах и НФ не старше одного месяца, в культурах ревертантов, что, вероятно, является следствием стерических структурных и/или конформационных изменений ЛПС. Количественная оценка частоты встречаемости эпитопов O_{AG} ЛПС в реакциях конкурентного твёрдофазного ИФА позволила выявить консервативные и лабильные участки, имеющие диагностическое и прогностическое значение. Определён набор специфических МКА, которые комплементарны стабильным и лабильным эпитопам O_{AG} ЛПС НФ *V. cholerae* O1/O139, подобраны наборы МКА, позволяющие выявить в пробе НФ возбудителя O1 и O139 серогруппы, охарактеризовать физиологический статус и прогнозировать возможность реверсии. В зависимости от концентрации образцов и времени, отведённого на первичный ответ, для выявления НФ вибрионов и прогнозирования их возможной реверсии возможно использование ФИТЦ-МКА или набор МКА к эпитопам O_{AG} O1 или O139 серогруппы в тИФА или дот-ИФА.

Н.А. Селиванец, А.Д. Валева, Э.А. Имельбаева, Р.З. Халикова, А.З. Сатарова, А.Ж. Гильманов. Децентрализация исследования маркеров ВИЧ, гепатитов В и С: причины и последствия складывающейся тенденции. ГАУЗ Республиканский кожно-венерологический диспансер, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

Основной задачей лаборатории клинической иммунологии Республиканского кожно-венерологического диспансера является скрининг населения Уфы на маркеры инфекций, выявляемые методом ИФА. Клинико-иммунологическая лаборатория обслуживает около 30 городских ЛПУ, 4 отделения переливания крови. С 1992 г. лаборатория проводит определение Hbs-антигена и ВИЧ, с 1994 г. – уровня анти-ВГС-антител.

В 2007–2009 гг. количество анализов, выполняемых в лаборатории в рамках первичного скрининга населения на инфекции, увеличивалось: в 2009 г. на маркеры ВИЧ – на 18,6%, HBs-антиген – на 9,5%, анти-ВГС-антитела – на 16,3% по сравнению с 2007 г. Рост числа анализов в эти годы объяснялся отсутствием или недостаточным количеством необходимого оборудования для постановки ИФА в КДЛ ЛПУ города, ростом числа обследуемых иностранных граждан при их медицинском освидетельствовании, хозрасчетного обследования больных по обращаемости. Однако в последующие годы наметилось снижение количества анализов на маркеры указанных инфекций: в 2010 г. по сравнению с 2009 г. на ВИЧ – на 8,5%, на HBs-антиген – на 29,3%, на анти-ВГС-антитела – на 21%. В 2011 г. отмечена та же тенденция: количество исследований на ВИЧ снизилось на 10,5% по сравнению с 2010 г. и почти на 30% по сравнению с 2009 г., на HBsAg – на 41,2%, на гепатит С – на 36% по сравнению с 2010 г. В целом количество указанных анализов в 2010 г. снизилось на 19,5% от уровня 2009 г., в 2011 г. – на 28% по отношению к 2010 г. Среди факторов, вызвавших уменьшение потоков биоматериала - переход на «автономную» систему финансирования ГАУЗ РКВД с изменением структуры затрат и ценообразования, а также появление современного оборудования для ИФА в других лабораториях города.

С учетом сложившихся тенденций необходимо заметить, что скрининговые исследования на маркеры ВИЧ, гепатитов В и С требуют особо внимательного отношения к правилам преаналитического этапа с учетом особенностей этих инфекций, к постановке самого анализа, а также к интерпретации результатов, имея в виду особые взаимоотношения медицинского персонала с пациентами. У врачей общей лечебной сети далеко не всегда

уровень теоретических знаний о лабораторных диагнозах достаточен для формирования адекватной настороженности в отношении указанных инфекций, и поэтому ошибки, возможные на всех этапах лабораторного исследования, чреватые серьезными последствиями, в том числе правовыми. Возможно, необходима отдельная процедура допуска лабораторий к проведению исследований на маркеры анализируемых инфекций с дополнительными требованиями к организации всех этапов анализа.

Н.А. Селиванец, А.Д. Валева, Э.А. Имельбаева, Р.З. Халикова, А.З. Сатарова, А.Ж. Гильманов. Проблемы серологического исследования на маркеры гепатита С (клинический случай). ГАУЗ Республиканский кожно-венерологический диспансер, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

В лаборатории ГАУЗ РКВД была доставлена сыворотка крови пациентки У., которая обследовалась в этой же лаборатории в 2009 г. на anti-HCV в тест-системе НПО «Диагностические системы» (Нижний Новгород). Результаты трех исследований сыворотки в этой тест-системе были отмечены как положительные (ОП образца в лунке хотя бы с одним из антигенов превышало критическое значение ОП ($OP_{крит}$) на 20% и более). В подтверждающем тесте сыворотка была положительной по антителам к NS-белкам вируса гепатита С (ВГС) и отрицательной по антителам к CORE-белкам.

После получения положительного результата пациентка проходила дальнейшее обследование в инфекционной больнице № 4 Уфы, где были проведены анализы на наличие антител к ВГС с применением тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Результаты исследований на anti-HCV были отрицательными. После обращения больной в Минздрав РБ в связи с противоречивыми результатами тестов и создания комиссии по проверке обоснованности жалобы были проведены повторные исследования сыворотки крови на anti-HCV-антитела с применением тест-систем тех же производителей. Результаты исследования в первичном скрининге с тест-системой ЗАО «Вектор-Бест» на anti-HCV были отрицательными, а с тест-системой НПО «Диагностические системы» – положительными ($OP_{крит} = 0,193$, ОП = 1,406; 1,431; 1,620). В подтверждающем тесте «ИФА anti-HCV- спектр GM» НПО «Диагностические системы» результат оказался неоднозначным, но положительным в отношении NS-белков: ОП $core = 0,209$; ОП $core = 0,033$; 0,014; 0,020; ОП $NS = 0,212$; ОП $NS = 2,8$; 2,9; 2,8. Часть пробы сыворотки была направлена в лабораторию Всероссийского центра глазной и пластической хирургии в Уфе и референс-лабораторию Республиканского центра СПИД и ИЗ РБ. В лаборатории ВИГИХ было проведено ИФА-исследование на anti-HCV-антитела в тест-системе Bio-Rad, результаты были положительными. В референс-лаборатории центра СПИД иммунный блоттинг с тест-системой ЗАО «Эколаб» (Москва) показал неопределенный результат (NS4-положительный). Таким образом, к окончательному заключению прийти так и не удалось.

В дальнейшем в лаборатории ГАУЗ РКВД на anti-HCV-антитела были исследованы еще несколько сложных образцов сыворотки крови больных, предоставленные ЗАО «Вектор-Бест», на ИФА-тест-системах «Диагностические системы» и «Вектор-Бест». В некоторых случаях было вновь отмечено несоответствие результатов, возможно, связанное с различием свойств использованных в наборах моно- и поликлональных антител; нельзя исключить и изменение структуры компонентов вируса в связи с его мутированием.

Следовательно, применение разных тест-систем (даже III поколения) в ИФА на anti-HCV-антитела не всегда обеспечивает получение однозначного результата и может вести к затруднениям интерпретации данных. В любом случае, тем более в спорном, диагноз заболевания ставится врачом на основе комплекса клинических и лабораторных исследований, в том числе проводимых в динамике со строгим выполнением всех правил анализа парных сывороток.

Н.А. Терехина, С.Э. Реук, Т.И. Атаманова. Влияние герпетической инфекции на ферментный спектр ротовой жидкости. ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России

Цель работы – поиск новых неинвазивных способов оценки интенсивности воспаления и эффективности лечения герпетического стоматита.

В ротовой жидкости (РЖ) и плазме крови 27 детей больных острым герпетическим стоматитом (ОГС) спектрофотометрически определяли активность 10 ферментов. Контролем служили РЖ и плазма крови 30 здоровых детей.

В РЖ здоровых детей выявлена высокая активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) ($216,0 \pm 25,8$ ед/л), гамма-глутамилтранспептидазы (γ -ГТП) ($23,6 \pm 1,5$ ед/л), пероксидазы ($33,6 \pm 5,2$ мкмоль/мин на л). При ОГС в РЖ детей достоверно увеличивается активность ЛДГ ($868,7 \pm 76,3$ ед/л), пероксидазы ($127,1 \pm 12,1$ мкмоль/мин на л), в 2 раза увеличивается активность β -глокуронидазы, аминотрансфераз (АСТ и АЛТ), γ -ГТП, в 4 раза повышается активность β -глюкозидазы. Активность каталазы в РЖ детей при ОГС увеличивается в 8 раз по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Активность амилазы и лейцинаминопептидазы в РЖ при ОГС не изменяется. Степень изменения активности ферментов в РЖ коррелирует с глубиной и тяжестью поражения тканей пародонта. Наибольшие изменения активности ферментов РЖ установлены при тяжелых формах ОГС. В плазме крови детей, больных ОГС, не установлены изменения активности изученных ферментов. После лечения активность гликозидаз, аминотрансфераз, ЛДГ, γ -ГТП в РЖ нормализуется лишь при легкой степени тяжести ОГС, тогда как при тяжелом ОГС остается повышенной у 60–90% пациентов. Отсутствие нормализации активности ферментов в РЖ при выписке свидетельствует о незавершенности воспалительного процесса и необходимости продолжения лечения.

При герпетической инфекции слизистой оболочки полости рта изменяется ферментный спектр ротовой жидкости. Увеличение активности ферментов в ротовой жидкости детей является прогностически неблагоприятным признаком и свидетельствует о вероятности рецидива герпетического стоматита.

Л.П. Трубочнинова, Г.О. Гудима, Н.Ф. Трефилюева, И.А. Николаева, С.В. Коробова, Н.И. Ильина, И.Г. Сидорович. **Острая стадия герпесвирусных инфекций и *Toxoplasma gondii* у ВИЧ-инфицированных пациентов.** ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА, Москва

Проблема ВИЧ-инфекции в Российской Федерации остается актуальной. Число ВИЧ-инфицированных за последние годы увеличилось до 703 тыс. человек. Среди этой популяции на фоне иммунодефицитного состояния развиваются такие инфекции, как гепатит С, туберкулез, герпесвирусные, паразитарные инфекции и др.

Проведено исследование сывороток крови 59 ВИЧ-инфицированных пациентов и 30 наркоманов, не инфицированных ВИЧ на ранние (IgM) и поздние (IgG) антитела к цитомегаловирусу (ЦМВ), вирусу простого герпеса (ВПГ) и *Toxoplasma gondii*; и IgM (капсидный антиген VCA), IgG (ранний антиген EA), IgG (ядерный антиген EBNA) к вирусу Эпштейна–Барр (ВЭБ).

В работе использовали наборы фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) согласно прилагаемым инструкциям. Подтверждение на ВИЧ-инфекцию проводилось в Российском центре по борьбе и профилактике СПИДа на наборах New Lav Blot 1 фирмы «Bio-Rad».

В результате проведенных исследований получены следующие результаты: IgM к антигенам ВПГ и ЦМВ выявлены у 30% ВИЧ-инфицированных пациентов, острая стадия ВЭБ – у 55% ВИЧ-инфицированных пациентов, IgM к антигенам *Toxoplasma gondii* выявлены в 22% случаев. Среди наркоманов, не инфицированных ВИЧ-острая стадия герпесвирусных инфекций определена у 6,6%.

Кроме того, все ВИЧ-инфицированные, являющиеся наркоманами, имели иммуноглобулины G к герпесвирусам в 90–100% и *Toxoplasma gondii* в 50% случаев.

В связи с этим рекомендуются углубленное изучение инфекционного статуса и новые подходы к иммунотерапии ВИЧ-инфицированных пациентов.

И.Л. Хайдукова, В.С. Михайлова, В.Н. Малахов, В.В. Меньшиков. **Внешняя оценка качества (ВОК) – сравнительная оценка результатов определения чувствительности к антибактериальным препаратам дискодиффузионным методом при использовании различных питательных сред.** НП Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований, ГБОУ ВПО Первый государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

В связи с большой клинической значимостью определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, оценка качества этого исследования является важным элементом национальной программы внешней оценки качества (ВОК) микробиологических исследований при гнойно-септических и внутрибольничных инфекциях в КДЛ и микробиологических лабораториях медицинских учреждений.

В 2012 г. в качестве контрольных образцов для определения чувствительности к антибиотикам участникам раздела ФСВОК «клиническая микробиология» были предложены 2 вида микроорганизмов – *Streptococcus salivarius* (прихотливый микроорганизм) и *Proteus mirabilis*. В первом цикле указанного раздела приняли участие 870 лабораторий, во втором цикле – 849.

По результатам ФСВОК-2012, от 75 до 78% представленных результатов определения чувствительности для предложенных антимикробных препаратов было получено дискодиффузионным методом.

По рекомендациям методических указаний исследование определения чувствительности дискодиффузионным методом проводится в зависимости от вида и рода микроорганизмов на среде АГВ и среде Мюллер–Хинтона. При этом получение точных и воспроизводимых результатов при определении чувствительности бактерий к антибиотикам в очень большой степени зависит от качества и стандартности питательных сред.

При анализе применения сред по годам по данным ФСВОК наблюдается увеличение использования среды Мюллер–Хинтона. Наиболее широко среды АГВ применялись в 1995 г. – 84%, 1997 г. – 74%, 1999 г. – 65%. В последующие годы значительно увеличилось использование среды Мюллер–Хинтона (в 2009 г. 32% – АГВ, 52% – Мюллер–Хинтона; в 2010 г. – 70% сред Мюллера–Хинтона; в 2011 г. – 67% сред Мюллер–Хинтона). При проведении исследования лаборатории пользовались агаром Мюллера–Хинтона, бульоном Мюллера–Хинтона и средой Мюллера–Хинтона с 5% крови барана в 75,9% (2012 г.).

Эту динамику следует расценивать как положительный фактор, так как среда Мюллера–Хинтона является широко применяемой в мире стандартной средой, тогда как среда АГВ (агар Гивенталья–Ведьминой) представляет собой нестандартную простую по составу отечественную среду, в основе которой был мясо-пептонный агар, замененный впоследствии суррогатными источниками белка.

При анализе результатов правильности исследования доля правильных результатов определения чувствительности *S.salivarius* выше при использовании среды Мюллера–Хинтона на 11% к пенициллину, 5% к цефатоксину, 1% к цефтриаксону, 7% к клиндамицину, 10% к эритромицину, 21% к хлорамфениколу, 14% к тетрациклину.

Доля правильных результатов определения чувствительности *Proteus mirabilis* выше при использовании среды Мюллера–Хинтона на 21% к амикацину, 16% к ампициллину, 8% к амоксацилин-клавуланату, 7% к гентамицину, 4% к имипинему, 2% к новофлоксацину.

Лабораториям рекомендуется проведение внутрिलाбораторного контроля каждой новой серии питательных сред, так как возможны использование производителями своих источников белкового питания и даже своих прописей; погрешности при транспортировке сред; неправильные условия хранения в лаборатории.

Внутрिलाбораторный контроль позволит оценить критерии этих сред: способность обеспечить рост микроорганизмов и стабильность основных биологических свойств микроорганизмов.

Г. А. Харченко, О.Г. Кимрилова. **Метод серологической диагностики арбовирусных менингитов у детей.** ГБОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия Минздрава РФ

Цель исследования – разработка и совершенствование методов серологической диагностики арбовирусных инфекций.

Материал – парные сыворотки и пробы крови от больных детей в возрасте до 14 лет с диагнозом серозного менингита. В работе использовали диагностические тест-системы ИФА, сахарозацетоновые антигены, иммунные асцитные жидкости к арбовирусам, циркулирующим в Астраханской области. Парные сыворотки исследовали на наличие антител (АТ) классов М и G к 10 арбовирусам и штамму Астрахань/12 в различных вари-

антах ИФА. При определении иммуноглобулинов класса М и G человека использовали антивидовые иммунопероксидазные конъюгаты производства НПО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Из 30 проб крови от больных в начальном периоде заболевания изолированы два штамма вируса лихорадки Западного Нила и выделен вирусный изолят № 12. Надосадочную жидкость кровяного сгустка использовали для интрацеребрального заражения 2–3-дневных новорожденных белых мышей. К восьмому пассажу был закреплен инкубационный период, определена патогенность для 2–3-дневных мышей, проведено накопление вирусосодержащего материала. При исследовании клинического материала от 56 больных у 14 (25%) выявлены АТ к вирусу Астрахань/12 и диагностическая динамика их титров. Изоляция этиологического фактора заболевания и выявление АТ в сыворотках крови больных с характерными клиническими проявлениями делают возможным выделение новой нозологической формы инфекционной патологии – астраханской арбовирусной инфекции.

В.А. Чесноков, М.Г. Чеснокова, А.С. Крига. Идентификация кариесогенных стрептококков зубной бляшки детей с зубочелюстными аномалиями в процессе ортодонтического лечения. ГБОУ ВПО Омская государственная академия, БУЗОО ДСП №1, Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Омск

Ортодонтическое лечение зубочелюстных аномалий несъемными конструкциями способствует деминерализации поверхностных слоёв эмали и возникновению кариеса.

Цель – оценить содержание кариесогенных стрептококков в зубной бляшке детей с зубочелюстными аномалиями в процессе лечения. Обследовано 47 пациентов, на этапах лечения проводили забор зубной бляшки, осуществляли дисперсию, готовили серию разведений для посева на питательные среды. Определяли количественное содержание кариесогенных стрептококков (*S. mutans* и *S. sanguis*), которое выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (lg КОЕ/мл). Количественное содержание стрептококков возрастало, причём это свойство имело статистически значимый характер. *S. mutans* выявляли в начале исследования в $57,4 \pm 7,21\%$ случаев, при количественном содержании $\bar{X} \pm m$ lg КОЕ/мл $5,3 \pm 0,22$, на заключительном этапе в $68,1 \pm 6,80\%$ случаев, в количестве $8,0 \pm 0,17$ lg КОЕ/мл. *S. sanguis* идентифицировали в начале обследования в $70,2 \pm 6,67\%$ случаев, в количестве $5,61 \pm 0,18$ и на заключительном этапе в $85,1 \pm 5,19\%$ случаев при значении $\bar{X} \pm m$ $8,36 \pm 0,14$ lg КОЕ/мл. Выявленные увеличения количественного содержания кариесогенных стрептококков-ассоциантов зубной бляшки составляют неблагоприятный фон и представляют важный фактор риска возникновения и прогрессирования кариеса.

А.П. Шенелин. Нормативно-правовое регулирование производства и применения питательных сред. ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Московская область, г. Оболensk

Значительные изменения в правовом статусе питательных сред произошли в 2006 г. с выходом приказа Росздравнадзора № 1711-Пр/06 «О порядке государственной регистрации наборов реагентов для диагностики *in vitro* и сред питательных микробиологических» от 28.07.2006. В соответствии с этим документом регистрации подлежат «наборы реагентов отечественного и зарубежного производства, предназначенные для диагностики *in vitro* (включая наборы реагентов для диагностики инфекционных заболеваний), и среды питательные микробиологические», которые относят к изделиям медицинского назначения. Указанный порядок регистрации диагностических препаратов закреплен приказом № 735 «Об утверждении Административного регламента Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (Росздравнадзор) по исполнению государственной функции по регистрации изделий медицинского назначения» Минздравсоцразвития России от 30.10.2006.

Существенный вклад в нормативно-правовое регулирование производства, применения и сферы обращения изделий медицинского назначения внес Федеральный закон № 323 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 01.11.2011. Положения ст.38, 95 и 96 указанного закона устанавливают основные правила допуска к обороту, применению и эксплуатации медицинских изделий. Кроме того, указанным законом вве-

дено понятие мониторинга безопасности медицинских изделий, производимого Росздравнадзором. Вместе с тем первоначальным этапом допуска на рынок медицинских изделий была и остается их государственная регистрация.

Во исполнение Закона Ф3-№ 323 правительством Российской Федерации в 2012 г. выпущено 3 важных постановления:

– «Об утверждении Положения о государственном контроле за обращением медицинских изделий» № 970 от 25.09.2012 г.

– «Об утверждении правил ведения государственного реестра медицинских изделий и организаций, осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий» № 615 от 19.06.2012 г.

– «Об утверждении порядка государственной регистрации медицинских изделий» №1416 от 27.12.2012 г.

Введение нового порядка регистрации медицинских изделий будет способствовать гармонизации обращения медицинских изделий с европейской системой. Также в нем предусмотрен ряд положений, которые обеспечат эффективное противодействие коррупции, установят прозрачную систему допуска на рынок для добросовестных производителей медицинских изделий и позволят максимально защитить пациентов от некачественных, неэффективных и небезопасных медицинских изделий.

О.В. Шнейдер, А.Н.Рукина, В.Л. Разоренов. Микробиологическая диагностика параэндопротезной инфекции методом ультразвуковой обработки удаленных имплантов. ФГБУ РНИИТО им. Р.Р. Вредена Минздрава России

Эффективная терапия параэндопротезной инфекции возможна только при грамотной комбинации хирургического лечения и антибактериальной терапии. До 7% случаев остаются без микробиологического диагноза. Объективные трудности диагностики связаны с особенностями патогенеза, обусловленными формированием микробных биопленок на поверхности импланта.

Цель – сравнить диагностическую информативность метода ультразвуковой обработки (УЗО) удаленных имплантов при ревизионном эндопротезировании крупных суставов с методом взятия множественных биоптатов перипротезных тканей для микробиологической диагностики параэндопротезной инфекции.

Микробиологическое исследование двумя методами выполнено у 72 пациента при ревизионном ЭП коленного и тазобедренного суставов. Критериями диагноза ПЭПИ было наличие как минимум одного: свищевых ходов, гнойного отделяемого, гистологических признаков острого воспаления. Исследование удаленных конструкций проводили как было ранее описано Trampus A(2007).

Результаты исследований двумя методами совпали в 51(71%) случае – выделены идентичные возбудители. Методом УЗО удаленных эндопротезов дополнительно в 21% случаев получен клинически значимый возбудитель. В 12% случаев дополнительно значимый возбудитель получен методом тканевых биоптатов: пациенты с распространенным инфекционным процессом, остеомиелитом, неоднократными ревизиями в анамнезе (полимикробная этиология) (6) либо случаи ранней инфекции (3) (< 3 мес с момента имплантации).

Микробиологическое исследование жидкости после УЗО удаленных эндопротезов более чем в 20% случаев позволяет получить дополнительно диагностически значимую информацию, что существенно влияет на выбор антимикробной терапии. Предлагаемый метод не сложен в исполнении, позволяет дать полуколичественную оценку, что облегчает заключение о клинической значимости выделяемых маловирулентных штаммов. Перечисленные характеристики позволяют рекомендовать его внедрение в рутинную практику бактериологических лабораторий для диагностики имплантассоциированных инфекций.

О.С. Щербатая¹, Т.Д. Гасретова², Г.Г. Харсеева³, Н.И. Димитрова². Антибиотикорезистентность стафилококков, выделенных от больных с гнойно-воспалительными инфекциями кожи и мягких тканей. ¹ГБУ РО Областной консультативно-диагностический центр, ²Ростовский государственный медицинский университет, ³Медико-санитарная часть МВД России по Ростовской области, Ростов-на-Дону

Цель исследования – изучение антибиотикорезистентности штаммов *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков (КНС), выделенных из клинического материала больных, находящихся в отделениях хирургии и интенсивной терапии Ростовской области.

За период 2010–2012 гг. было выделено 494 штамма *S. aureus* и 138 штаммов КНС (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*). Большинство штаммов были выделены в монокультуре. Идентификацию выделенных стафилококков и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам (АБП) проводили на бактериологическом анализаторе Phoenix 100. Антибиотикорезистентность у выделенных культур изучали дискодиффузионным методом, используя диск с цефокситином, и тест на β -лактамазу.

Из 138 КНС штаммов MRSE составили 57 штаммов (41,3%), тогда как MRSA выделено 27 штаммов (5,5%). При этом с 2010 по 2012 г. наблюдали увеличение высеваемости MRSA на 7% и MRSE

на 4,5%. Из всех выделенных метициллинорезистентных штаммов стафилококков 11 имели множественную резистентность к АБП, 9 из которых являлись и продуцентами β -лактамазы.

Большинство из изучаемых штаммов были устойчивы к гентамицину, эритромицину, клиндамицину, левофлоксацину, ципрофлоксацину. При этом у всех MRSA- и MRSE-штаммов сохранилась чувствительность к ванкомицину и линезолиду.

Таким образом, с 2010 по 2012 г. при гнойно-воспалительных инфекциях кожи и мягких тканей выявлена выраженная тенденция увеличения этиологической значимости, как MRSA-, так и MRSE-штаммов.

ПРОБЛЕМЫ КОНТРОЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА

Е.В. Ройтман^{1,2}, *М.Ю. Андрианова*^{2,3}, *И.М. Колесникова*², *Е.А. Спиридонова*², *С.А. Румянцев*². **Фармакопрофилактика венозного тромбоза сегодня. Нужен ли лабораторный контроль?** ¹Научное общество «Клиническая гемостазиология», Москва; ²ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава РФ; ³ФГБУ Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского РАМН, Москва

Рекомендации АССР (*American College of Chest Physicians*) 9-й редакции (2012) четко определяют, что современная тромбозпрофилактика должна строиться на основе сочетания клинической и экономической целесообразности использования современных средств и технологий. В арсенале лечащего врача остались нефракционированный и низкомолекулярные гепарины, антифитаминны К₁, препараты ацетилсалициловой кислоты, фондапаринукс, также в этой редакции Рекомендаций появились новые пероральные препараты (апиксабан, дабигатран и ривароксабан). Одновременно этот документ призывает обратить пристальное внимание на индивидуализацию назначения антитромботических препаратов в госпитальных условиях, предполагающее гарантированное обеспечение антитромботического эффекта и, как минимум, неувеличение риска развития побочных эффектов и осложнений. Добиться последнего без опоры на лабораторные тесты невозможно так же, как и без взаимодействия клиницистов и лабораторных специалистов. Важно, что новые фармакологические подходы требуют специфических изменений в методиках постановки ряда лабораторных тестов.

Изменения характера антитромботической терапии предполагают внесение новых подходов и взглядов на лабораторную диагностику состояния системы гемостаза. Прежде всего понимания того, что используемые гемостазиологические тесты (активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время, определение активности фактора Ха и др.) выполняются на обычных коагулометрах (автоматах и полуавтоматах), т. е. не требуют какого-то специального оборудования. При этом, будучи поставленными на поток, они, становясь рутинными, вносят свой вклад в снижение стоимости лечения отдельного пациента и тем самым уменьшают общие затраты лечебно-профилактического учреждения. Другими словами, адекватным ответом на требования «клиники» сегодня является сочетание лабораторной «рутины» с обязательной оценкой экономической эффективности.

Е.С. Кропачева (от имени участников исследования Варфаген). **Генотипирование чувствительности к варфарину: от научных предпосылок до клинической практики.** ИКК им. А.Л. Мясникова РК НПК Минздрава РФ, Москва

Цель рандомизированного, проспективного исследования Варфаген – сравнить фармакогенетический (ФГ) и стандартный (СТ) подходы к подбору дозы варфарина в отношении быстроты достижения терапевтических значений МНО, стабильности его значений и частоты кровотечений в российской популяции на протяжении шести месяцев лечения.

232 пациента (средний возраст 63,5 ± 11,7 года), имеющие показания к терапии В, были рандомизированы 1:1 в ФГ (подбор дозы В основывался на результатах генотипирования *CYP2C9*, *VKORC1* и *CYP4F2* методом ПЦР) и в СТ группу со стартовой дозой 5 мг в сутки. В период шестимесячного наблюдения фиксировалось ко-

личество дней, потребовавшееся для достижения терапевтического диапазона МНО, процент значений МНО > 4,0, и частота ГО. Количество дней, потребовавшихся до подбора целевого МНО в ФГ, было достоверно меньше, чем в СТ (12,4 ± 3,73 против 20,8 ± 8,51, $p = 0,0047$). Количество больных, у которых целевое МНО было достигнуто к 14 дню, в ФГ было 71%, что достоверно больше, чем в стандартной группе 21% ($p = 0,0001$). В ФГ частота эпизодов МНО > 4,0 при подборе дозы В за 1 мес составила 3,95%, что было достоверно ниже, чем в СТ, – 33,3% ($p = 0,0001$). Частота комбинированной точки (все кровотечения + повышение МНО > 4,0 за 1-й месяц) была достоверно выше в СТ 41,1% против 15,8% ($p = 0,0082$).

Подбор дозы варфарина на основании генотипирования способствует уменьшению количества дней, требующихся для подбора индивидуальной дозы, и способствует уменьшению числа кровотечений и эпизодов повышения МНО > 4,0 за 1-й месяц терапии.

М. А. Столяр, И. А. Ольховский, Е.Е. Ануфриева, Т.Н. Субботина. **Особенности импедансометрии агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с мутацией в гене *Jak2*.** Сибирский федеральный университет; Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России; КНЦ СО РАН, Красноярск

Хронические Ph-негативные миелопролиферативные заболевания объединены единым патогенезом с клональной пролиферацией 2–3 линий миелопоэза. Наличие мутации *Jak2* рассматривается как важный критерий подтверждения диагноза. Патологические сдвиги в системе гемостаза при ХМПЗ включают в себя всю гамму вариантов – от тромбозов вен и артерий, инфарктов и инсультов, до геморрагий и развития ДВС-синдрома. При этом использование антитромбоцитарных препаратов показано при гиперагрегационном состоянии, но абсолютно противопоказано при развитии вторичного синдрома Виллебранда на фоне экстремальных значений тромбоцитоза. С целью исследования функции тромбоцитов у 34 пациентов с мутацией *Jak2* использовали импедансометрическую агрегометрию (Chrono-log 700) в цельной крови при индукции АДФ. Выявлено повышение амплитуды, скорости и уменьшение лаг-фазы агрегатограммы в 1,5–2 раза ($p < 0,05$). При этом параметры агрегатограммы слабо ($r = 0,4$) коррелировали с тромбоцитозом. Наличие мутации *Jak2* нивелирует обнаруженные ранее гендерные отличия женщин по лаг-фазе агрегации. У большинства пациентов наблюдается сниженный дезагрегационный эффект добавленного *in vitro* аспирина, а корреляционная связь между количеством тромбоцитов в диапазоне 27–2836·10³/мл с лаг-фазой и амплитудой после инкубации с АСК отсутствует. В то же время у 4 пациентов с синдромом Виллебранда при уровне тромбоцитов 348–643·10³/мл, в отличие от остальных больных, наблюдался более выраженный дезагрегационный эффект аспирина. Очевидно, мутация *Jak2* изменяет внутриклеточные сигнальные механизмы регуляции функции клеток. Уровень тромбоцитов не должен быть решающим показателем к назначению дезагрегантов, а импедансометрическая агрегометрия может служить полезным критерием контроля адекватности терапии пациентов.

А.А. Кишкун, С.Л. Арсенин. **Терапевтический лекарственный мониторинг лечения непрямыми антикоагулянтами (варфарин). Антитромботические центры и кабинет по контролю МНО.** ФГУ Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва