

нием генотипа эндемичных для РФ штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, таких как Beijing, Beijing B0/W148, Haarlem, LAM, Ural. Диагностические чувствительность и специфичность набора реагентов ТБ-ТЕСТ, определенные на достаточно большой выборке клинических образцов и культур с различными профилями устойчивости, составили: по рифампицину – 97,4% и 96,2%, по изониазиду – 98% и 91,5%; по фторхинолонам – 94,1% и 85,2%; по аминогликозидам и капреомицину – 95,1% и 86,4%; по этамбутолу – 67,4% и 90,5%, соответственно.

Разработан набор реагентов БИОГРИПП для комплексного анализа генома вируса гриппа. Биочип, входящий в состав набора, позволяет определять типы А и В вируса, а также субтипировать вирус гриппа А с идентификацией всех известных молекулярных вариантов гемагглютинина и нейраминидазы (Н1–Н16, N1–N9). Клиническая часть биочипа отвечает за определение генетических маркеров устойчивости к противовирусным препаратам (амантадин, ремантадин, тамифлю) и мутаций в генах, кодирующих вирусные белки PB1-F2 и NS1, которые способны ослаблять иммунный ответ инфицированного организма.

Предложен метод определения нуклеотидной последовательности области NS5B генома вируса гепатита С (ВГС) на основе биочипа, позволяющий идентифицировать 6 генотипов и 36 различных подтипов ВГС. Совпадение с «золотым

стандартом» генотипирования ВГС – секвенированием области NS5B с последующим филогенетическим анализом – при анализе 345 образцов плазмы крови составило 100% при идентификации генотипа и 99,7% в отношении идентификации подтипа ВГС.

В настоящий момент технология биочипов представляется одним из наиболее эффективных инструментов персонализированной медицины, обеспечивая не только идентификацию возбудителя, но и анализ генетических детерминант с целью установления адекватного режима терапии. Так, данные, полученные с использованием набора ТБ-ТЕСТ при анализе клинического материала, поступающего от пациентов, дают возможность своевременно назначать соответствующую терапию по широкому спектру препаратов, корректировать ее в процессе лечения, а также предотвращать распространение особо опасных форм *M. tuberculosis*. Набор реагентов БИОГРИПП может использоваться эпидемиологическими службами для быстрой расшифровки всплеск гриппа, а также лабораториями инфекционных больниц для выбора рациональных противовирусных препаратов при осложненном течении заболевания. Установление генотипа ВГС необходимо для назначения курса терапии рибавирином и интерфероном, в то время как ответ на противовирусное лечение гепатита С новыми препаратами – ингибиторами протеазы и РНК-полимеразы во многом зависит от подтипа ВГС.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМАМ КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Г.И. Алексеева, Е.И. Ермолаева, А.П. Рожина, Т.Б. Павлова. **Аспекты развития лабораторной диагностики туберкулеза в Республике Саха (Якутия).** ГБУ РС (Я) Научно-практический центр «Фтизиатрия», Якутск

В последние годы происходят существенные изменения в методической базе клинических лабораторных исследований для выявления возбудителя туберкулеза. В действующих директивных документах указано, что в комплекс микробиологического исследования для изоляции этиологического агента включаются и микроскопические методы. Бактериоскопическое исследование мазков мокроты с целью обнаружения кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) технически простая, недорогая методика, с небольшими затратами времени, позволяющая оперативно выявлять больных с заразными формами туберкулеза и оценить эффективность проводимой химиотерапии.

Целью работы явился анализ проведения микробиологических исследований в лабораториях Республики Саха (Якутия). Проанализированы результаты положительной микроскопии по данным клинико-диагностических лабораторий муниципальных образований г. Якутска, у 122 пациентов, а также у 750 больных с положительным результатом люминесцентной микроскопии по данным бактериологической лаборатории научно-практического центра «Фтизиатрия», результаты посева и тестов на лекарственную чувствительность к основным противотуберкулезным препаратам.

Установлено, что наиболее часто у 40,2% (49) пациентов обнаруживали умеренное количество КУМ; у 38,5% (47) единичные, реже – у 21,3% (26) пациентов – значительное количество КУМ. Сопоставление данных бактериоскопии с данными посева выявила следующее: чаще положительный посев регистрировался у больных с наличием в мокроте единичных КУМ в 83% (39); с умеренным количеством КУМ в 78,6% (39) и в 73,1% (19) случаев со значительным количеством КУМ. Таким образом, из 122 больных с положительным результатом бактериоскопии в 79,5% (97 больных) случаев выделены культуры микобактерий туберкулеза (МБТ). Для сравнения, по данным микробиологической лаборатории у 750 больных с положительным результатом люминесцентной микроскопии в 97,6% случаев обнаружены МБТ методом посева на плот-

ных яичных средах, что на 17,8% чаще, чем обнаруживается с помощью бактериоскопии по Ziehl-Neelsen. Причина такой разницы в том, что метод люминесцентной микроскопии более чувствительный по сравнению с простой бактериоскопией, кроме того, бактериоскопия по Ziehl-Neelsen и посев проводятся не из одной порции диагностического материала и в разных лабораториях. Но, тем не менее, метод простой бактериоскопии позволяет оперативно выявить эпидемически опасных больных туберкулезом, в том числе, выделяющих лекарственноустойчивые штаммы *M. tuberculosis*. Из 97 больных с бактериоскопически позитивным результатом в 48,5% (49) выделены штаммы МБТ устойчивые к противотуберкулезным препаратам. Чаще резистентные МБТ выявлялись у больных со значительным количеством КУМ в 78,9% (15 из 19), реже у больных с единичными КУМ в 51,3% (20 из 39) и с умеренным количеством КУМ в 38,5% (15 из 39) случаев. Обращает внимание, что МБТ с множественной лекарственной устойчивостью также чаще регистрировались у больных со значительным количеством КУМ в 68,4% (13 из 15); реже у больных с умеренным КУМ в 28,2% (11 из 39) и с единичными КУМ в 33,3% (13 из 15) случаев. Таким образом, микроскопический метод Ziehl-Neelsen сохраняет свою актуальность, но при этом современные реалии требуют использования более чувствительных методов лабораторной диагностики туберкулеза. Этим критериям соответствуют метод люминесцентной микроскопии и молекулярно-генетический метод с использованием системы GeneXpert Dx. Настоящее состояние материально-технической базы и кадровый потенциал клинико-диагностических лабораторий Республики Саха (Якутия) позволяют внедрить эти исследования в практику учреждений первичной медико-санитарной помощи.

И.В. Андриянов, И.А. Каширцева, С.Г. Вахрушев, О.Э. Казакова. **Масс-спектрометрия микробных маркеров в практике врача ЛОР.** Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

В последние годы отмечается стойкая отрицательная динамика распространенности хронического аденоидита, с 2–9% в 1950 гг. до 76% в наши дни. В литературе все чаще обсуждается вопрос об изменении тактики диагностики и лечения инфекционных заболеваний верхних дыхательных

путей, с учетом знаний о бактериальных биопленках. Последние десятилетия ознаменовались формированием новых тенденций в изучении микробиоценоза носоглотки, что связано с открытием этиологической значимости биопленок. Альтернативу рутинным бактериологическим исследованиям составляют химические методы определения микроорганизмов, в частности, газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Метод основан на определении маркеров, появляющихся в результате жизнедеятельности микроорганизмов.

Цель – изучить видовой состав микробиоценоза носоглотки у детей с хроническим аденоидитом в различных возрастных группах и оценить распределение микроорганизмов в различных биологических средах по результатам газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией.

Обследовано 112 пациентов от 3 до 12 лет, проходивших хирургическое лечение в ЛОР-отделении ККБ г. Красноярска. Критерии включения: наличие клинических проявлений хронического аденоидита с показаниями для хирургического лечения и не менее 3-х курсов противовоспалительной терапии в анамнезе. Все пациенты, были разделены на 3 возрастные группы. I группа: 3–5 лет, II – дети 6–7 лет, III: 8–12 лет. Контрольную группу составили 20 детей без проявления хронического аденоидита, находившихся на лечении в отделении травматологии. Всем детям, поступившим в ЛОР-отделение на аденотомию, проводилось исследование трех биологических сред: соскоб с поверхности глоточной миндалины перед ее удалением, соскоб слизистой оболочки полости носа и слюны.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Пирсона.

По результатам ГХ-МС мы определили ведущие патогенетически значимые микроорганизмы в различных возрастных группах. Ими оказались: *Cl. difficile* и микроскопические грибы. Росту этих организмов способствует антибиотикотерапия. В то же время, в первой возрастной группе присутствовала преимущественно аэробная флора. Результаты ГХ-МС соскобов с миндалин пациентов II и III групп показали, что на поверхности слизистой оболочки носоглотки анаэробной флоры и различных видов грибов на порядок больше, чем стрептококков и стафилококков.

Исследование микробиологического статуса слизистой оболочки носоглотки и полости носа у здоровых детей и с диагнозом хронический аденоидит методом ГХ-МС выявило отсутствие достоверных различий в микробном пейзаже.

Результаты исследования микробиоценоза носоглотки у детей с хроническим аденоидитом, по данным ГХ-МС, свидетельствуют о наличии перестроек в количественных показателях видовой состава микрофлоры в зависимости от возраста. Исследование микробиологического статуса слизистой оболочки носоглотки у детей с диагнозом хронический аденоидит методом ГХ-МС позволяет описать свойства микроорганизмов как участников биопленки, что особенно важно в клинической практике.

Н.С. Багирова, Н.В. Дмитриева, И.Н. Петухова. Сравнение двух методов быстрого получения чистой культуры для идентификации микроорганизмов при диагностике бактериемии/фунгемии у онкологических больных с тяжелыми инфекционными осложнениями. Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования – оценка возможности сокращения времени, необходимого для получения чистой культуры микроорганизма, двумя методами; максимально сократить время между началом микробиологического исследования и выдачей окончательного результата.

С сентября 2012 г. по ноябрь 2013 г. получено 336 положительных гемокультур при посеве крови онкологических больных с эпизодами лихорадки при подозрении на сепсис или локальную тяжелую инфекцию. Диагностику бактериемии/фунгемии проводили с использованием гем-анализатора

Bacter FX 400 (BD), идентификацию – с использованием масс-спектрометра MALDI-TOF Microflex LT (Biotyper)(Bruker, Daltonics). Чувствительность к антимикробным препаратам определяли на автоматическом анализаторе «Microscan WalkAway 96+» (Siemens). При получении роста во флаконе, асептическим способом извлекали в необходимом количестве содержимое флакона. Пробоподготовка для получения чистой культуры осуществлялась двумя методами: 1) использовали специальный набор, предназначенный для работы с положительными культурами MALDI Septityper Kit 50 (Septi). Пробоподготовка занимала примерно 20 мин, исследовано 336 штаммов; 2) использовали пробирки с гелем Vacutainer (BD, REF 367954) (пробирка с гелем). В пробирку с гелем помещали 3 мл содержимого флакона с положительной гемокультурой, центрифугировали 15 минут при 3000 об/мин. Далее собирали необходимое количество осадка на поверхности геля и использовали его и для идентификации с помощью MALDI-TOF, и для определения чувствительности к антимикробным препаратам с помощью прибора «Microscan WalkAway 96+». Оба метода пробоподготовки использовали параллельно для одних и тех же культур. Пробоподготовка с использованием только пробирки с гелем была проведена для 44 из 336 положительных гемокультур.

Время, через которое автоматический гем-анализатор фиксировал рост, варьировало от 1 ч и 53 мин до 112 ч и 36 мин. Идентифицировано 99,1% (333/336) всех положительных гемокультур, которые были обработаны первым методом. 3 штамма удалось идентифицировать только после получения чистой культуры через сутки после посева на 5% кровяной агар (*Streptococcus agalactiae* – 1, *Klebsiella pneumoniae* – 3, *Propionibacterium acne* – 1). В 23 случаях из 336 (6,8%) рост микроорганизмов из крови был получен в тот же день, поэтому окончательную идентификацию микроорганизма также проводили в тот же день, а на следующий день была готова антибиотикограмма. При пробоподготовке вторым методом (44 положительные гемокультуры), в 5 (11,4%) случаях идентификация не дала результатов (*Stenotrophomonas maltophilia* – 2, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* – по одному штамму каждый). Для обоих методов предполагаемой причиной неудач при идентификации была недостаточная масса чистой культуры. Кроме того, при втором методе причинами неудач могли быть способность микроорганизмов к капсулообразованию, пигменту, или иные причины. Несмотря на это, использование упрощенного (пробирка с гелем) метода диагностики в экстренных клинических случаях позволяло быстро выдавать ответ. Первый метод (использование готового набора) статистически достоверно чаще позволял получать окончательный ответ по сравнению со вторым (пробирка с гелем) (99,1% против 88,6% штаммов, соответственно, $p < 0,02$).

Использование MALDI Septityper Kit 50 сокращает время, необходимое для получения окончательных результатов лечащему врачу и обеспечивает более надежную пробоподготовку. Но этот метод значительно дороже и занимает несколько больше времени, чем метод пробирки с гелем (Vacutainer BD, 367954). Оба метода могут быть использованы для сокращения времени получения результатов микробиологического исследования крови при диагностике бактериемии/фунгемии в условиях клиники. Сокращение времени, необходимого для микробиологического исследования крови, может влиять на исход угрожающих жизни инфекционных осложнений.

Е.П. Баранцевич, Н.Е. Баранцевич, Л.Б. Иванова, И.В. Чуркина, В.Л. Эмануэль, Е.В. Шляхто. Возбудители инвазивного кандидоза в многопрофильном стационаре в Санкт-Петербурге, ФМИЦ им. В.А. Алмазова, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Целью настоящего исследования было определение видовой принадлежности и чувствительности к системным антимикотикам возбудителей инвазивного кандидоза в многопрофильном стационаре в Санкт-Петербурге в 2010–2012 гг.

Candida spp. выделяли из бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и крови пациентов отделений реанимации и гемато-

логии. Изоляты идентифицировали по последовательности нуклеотидов регионов ITS и D2. Чувствительность к антифунгальным препаратам (амфотерицин В, флуконазол, вориконазол, позаконазол, анидулафунгин, каспофунгин, микафунгин) исследовали методом серийных разведений.

Candida spp. выделили из крови (31 штамм) и БАЛ (62 штамма) 93 пациентов с инвазивным кандидозом. В 70 (75,3%) случаях возбудителем была *C. albicans*, *C. glabrata* – в 8 (8,6%), *C. parapsilosis* – в 8 (8,6%), *C. tropicalis* – в 4 (4,3%), *C. krusei* – в 3 (3,2%) случаях инвазивного кандидоза.

Идентификация клинических изолятов *Candida* spp. с применением секвенирования регионов ITS и D2 показала сходные результаты.

Резистентность к флуконазолу была зафиксирована у 28 (34,1%), вориконазолу – 21 (25,6%), позаконазолу – 21 (25,6%) штаммов.

Резистентность к амфотерицину В наблюдали у 29 (31,2%) изолятов.

Все штаммы *Candida* spp. были чувствительны к эхинокандинам.

Выводы. 1. Среди возбудителей инвазивного кандидоза преобладал вид *C. albicans*.

2. Для рутинной идентификации клинических изолятов *Candida* spp. можно применять секвенирование региона D2.

3. Резистентность *Candida* spp. к амфотерицину В и флуконазолу в нашем исследовании превышала 30%.

4. Среди возбудителей инвазивного кандидоза резистентности к эхинокандинам не было.

Н.Е. Баранцевич, В.Г. Гоик, В.Л. Эмануэль, Е.П. Баранцевич. Резистентность к антибиотикам *Klebsiella pneumoniae* в многопрофильном стационаре. ФМИЦ им. В.А. Алмазова, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Целью настоящего исследования было изучение резистентности к широко используемым антибиотикам госпитальных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из биосубстратов пациентов в 2010–2012 гг.

K. pneumoniae выделяли из биосубстратов пациентов: крови, бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), мокроты, операционных ран, ткани легкого, плеврального экссудата, мочи. Идентификацию штаммов *K. pneumoniae* проводили по последовательности первых 500 нуклеотидов гена *16S* РНК. Резистентность штаммов *K. pneumoniae* к широко используемым антибиотикам изучали с помощью метода серийных разведений. Результаты оценивали с использованием критериев CLSI (M100-S23). Для оценки чувствительности *K. pneumoniae* к тигециклину и колистину использовали стандарты EUCAST, 2013.

576 штаммов *K. pneumoniae* были выделены из биосубстратов пациентов с госпитальными инфекциями в течение 3 лет: 315 штаммов в 2010–2011, 256 – в 2012 г. 100 (17,4%) изолятов были чувствительны ко всем исследуемым антибиотикам, 339 (58,9%) были мультирезистентными (MDR). Чувствительны ко всем исследованным антибиотикам были 70 (22,2%) штаммов в 2010–2011 и 30 (11,5%) штаммов в 2012 г. Мультирезистентны были 169 (53,7%) штаммов в 2010–2011 и 168 (64,4%) в 2012 г. Резистентность к амоксицилину-клавуланату выявили у 54,7%, к цефксиму у 66,8%, к цефотаксиму и цефтриаксону у 60,3%, к цефепиму у 57,5%, к цiproфлоксацину у 48,3%, к моксифлоксацину у 43,2%, к амикацину у 28,5%, к гентамицину у 33,2% изолятов. Все MDR штаммы были чувствительны к колистину и тигециклину. Все штаммы были чувствительны к карбапенемам в 2010–2011 годах. В 2012 году 3,8% изолятов были резистентны к эртапенему, 1,9% – к меропенему, 1,2% – к имипенему.

Выводы. 1. Большинство (82,6%) госпитальных штаммов *K. pneumoniae* были резистентны к антибиотикам.

2. Процент чувствительных ко всем исследованным антибиотикам штаммов *K. pneumoniae* сократился в 2012 г. в два раза по сравнению с периодом 2010–2011 гг.

3. Мультирезистентность была отмечена в более чем половине штаммов *K. pneumoniae*.

4. Все мультирезистентные штаммы *K. pneumoniae* были чувствительны к колистину и тигециклину.

В 2012 г. впервые была зафиксирована резистентность госпитальных штаммов *K. pneumoniae* к карбапенемам.

Л.Ю. Волова, Л.А. Грезина. Прикладное использование лабораторных результатов секвенирования гена *pol* ВИЧ-1 в эпидемиологии. ГБУЗ «Ямало-Ненецкий окружной Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», г. Ноябрьск.

В 2005 г. в целях слежения за возникновением мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ в рутинную лабораторную практику был внедрен метод секвенирования гена *pol* ВИЧ-1. В ходе проведения исследований по секвенированию гена *pol* стало ясно, что получаемые данные о строении этого гена несут информацию не только о мутациях лекарственной резистентности ВИЧ, но и могут помочь врачам-эпидемиологам в идентификации эпидемически связанных вирусов.

Изучали возможность применения результатов секвенирования и сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена *pol* ВИЧ-1 в практике эпидемиологического анализа.

Расшифровку нуклеотидной последовательности гена *pol* проводили методом секвенирования на приборе ABI PRISM 310 («Applied Biosystems») с использованием коммерческого теста ViroSeq™ HIV-1 фирмы «Abbot». Для анализа результатов использовали программы ViroSeq™ HIV-1, REGA HIV-1 Subtyping Tool, MEGA 3.1.

На основе результатов секвенирования гена *pol* ВИЧ-1 расшифровано более 15 эпидемических очагов. Вот несколько наиболее ярких примеров прикладного использования информации, получаемой молекулярно-биологическими методами, для решения задач эпидемиологической практики.

А. Случай медицинской аварии в МУЗ ЦГБ г. А***

В 2009 г. в городской больнице зарегистрирован случай ВИЧ-инфекции у медицинской сестры, которая утверждала, что заразилась от ВИЧ-инфицированного пациента при внутривенном введении рентгеноконтрастного вещества. С целью подтверждения профессионального заражения проведен сравнительный молекулярно-биологический и филогенетический анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей штаммов ВИЧ-1 у предполагаемого источника заражения (№ 447-842) и потерпевшей (№ 659-1455).

Молекулярно-биологический и филогенетический анализ показал, что штаммы принадлежат к подтипу А, общность их генетической последовательности по гену *pol* составляет 99,9%, что свидетельствует в пользу прямой эпидемической связи между ними, и подтверждает факт профессионального заражения ВИЧ-инфекцией.

Б. Выявление источника заражения, передавшего ВИЧ-инфекцию ребенку, родившемуся здоровым от ВИЧ-инфицированной матери

В 2011 г. пациентка № 77-1600 родила ребенка, который при обследовании в течение 10 мес после рождения был признан неинфицированным. Однако в возрасте 10 мес лабораторные тесты показали наличие ВИЧ-инфекции у ребенка. Мать категорически отрицала факт грудного вскармливания или наличие других путей передачи ВИЧ-инфекции, при которых она могла бы явиться источником заражения для своего ребенка. Мать высказывала предположение, что ребенка заразили в медицинских учреждениях. Для расследования этой ситуации был применен филогенетический анализ вирусов, изолированных от матери и ребенка. Установлено, что образцы № 77-1600 и № 102-1800 принадлежат к подтипу А ВИЧ-1, имеют одинаковую длину ветвей, идентичность аминокислотной последовательности – 99,9%. Это доказывает их прямую эпидемическую связь, и указывает на мать как источник заражения.

В. Установление источника заражения врача-травматолога в «N* больнице»**

1 декабря 2011 г. у врача-травматолога были обнаружены антитела к ВИЧ-1. При сборе эпиданамнеза врач-травматолог

указал на профессиональные ситуации, произошедшие в течение истекшего года, в которых он оказывал неотложную медицинскую помощь ВИЧ-инфицированным пациентам № 6-105 и № 186-1656.

Молекулярно-биологический и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1 показал, что штаммы пациентов – предполагаемых источников заражения – образуют общую филогенетическую ветвь со стандартным штаммом подтипа А ВИЧ-1 из Gen Bank. Штамм «потерпевшего» кластеризуется со стандартным штаммом подтипа В ВИЧ-1 из Gen Bank, циркулирующим в резервуаре гомосексуального пути заражения, и не имеет структурной общности с предполагаемыми источниками заражения. Следовательно, указанные пациенты не могли стать источником заражения для врача-травматолога.

Заключение. Из приведенных примеров видно, что без генетической информации эпидемиологическое расследование могло пойти по ложному пути. Это подтверждает возможность применения результатов секвенирования не только в клинической практике, но и в процессе эпидемиологического анализа и доказывает доступность современных методов молекулярно-эпидемиологического мониторинга для практикующих врачей-лаборантов и эпидемиологов.

Выводы. 1. Впервые в России на уровне учреждения практического здравоохранения внедрен метод молекулярно-эпидемиологического мониторинга ВИЧ-инфекции, использующий лабораторные данные о структуре гена *pol* ВИЧ-1.

2. Показана целесообразность и эффективность применения результатов секвенирования гена *pol* ВИЧ-1 с целью объективного установления источника заражения и эпидемиологических связей при проведении эпидемиологических исследований.

Л.Ю. Волова, Л.А. Грезина. Результаты определения фенотипа CXCR4/CCR5-тропных вариантов ВИЧ-1 у жителей Ямало-Ненецкого автономного округа. ГБУЗ «Ямало-Ненецкий окружной Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», г. Ноябрьск.

Целью настоящей работы было выявление CXCR4/CCR5-тропных вариантов ВИЧ-1 в различные сроки наблюдения за пациентами, а также изучение особенностей формирования тропизма ВИЧ-1 в популяции коренных малочисленных народов Крайнего Севера (КМНС).

В исследование включены 106 ВИЧ-инфицированных. Известно, что в зависимости от вида используемого Т-лимфоцитарного корецептора вирусы СПИДа разделяются на CXCR4-тропные (X4-вирусы) и CCR5-тропные (R5-вирусы). По характеру цитопатического действия CCR5-тропные вирусы являются низко реплицирующимися, не способными к образованию синцития, в то время как CXCR4-тропные вирусы обладают высокой скоростью репликации и способны образовывать синцитий. Кроме того, имеются данные о том, что большинство пациентов инфицируются CCR5-тропной формой вируса, которая преобладает в период бессимптомной стадии ВИЧ-инфекции и на ее ранних стадиях. По мере прогрессирования ВИЧ-инфекции, на поздних стадиях болезни, как правило, выявляются X4-тропные у пациентов, 36 из которых принадлежали к этнической группе КМНС (ханты, ненцы, селькупы). У всех пациентов был тщательно изучен эпиданамнез и получено информированное согласие на исследование. Для определения тропизма использовался зарегистрированный IVD в России комплект «АмплиСенс ВИЧ-Resist-Seq». Анализ полученной генетической последовательности был проведен с использованием ресурса «geno2pheno» в соответствии с европейскими директивами.

При изучении эпиданамнеза выявлено, что давность инфицирования у 70-ти пациентов, не относящихся к КМНС, колебалась от 3 мес до 17 лет. У ВИЧ-инфицированных – представителей КМНС (36 человек) – давность инфицирования составляла от 6 мес до 8 лет, что обусловлено более поздним развитием эпидемии ВИЧ в среде КМНС. Все па-

циенты разделены на 3 группы в зависимости от давности инфицирования.

Установлено, что наиболее часто X4-тропные вирусы выявляются среди пациентов на ранних сроках инфицирования. При давности инфицирования до 1 года R4-тропные вирусы выявляются с частотой 20%; при давности инфицирования от 1 года до 5 лет – 10,4%; от 5 до 8 лет – 8,7%. В группе пациентов с давностью инфицирования от 8 до 17 лет (20 человек) X4-тропные вирусы не выявлялись. Дифференцированный анализ тропности вирусов, выявляемых в группе КМНС и не-КМНС показал аналогичные результаты. Однако, в целом, в группе КМНС X4-тропные вирусы регистрировались в 2 раза реже, чем в группе не-КМНС: 5,6% против 11,4%.

Выводы. 1. В проведенном нами исследовании частота выявления CXCR4-тропных вариантов ВИЧ-1 была наибольшей у пациентов на ранних сроках инфицирования (до 1 года) и уменьшалась по мере увеличения давности инфицирования.

2. В группе КМНС CXCR4-тропные варианты ВИЧ-1 выявлялись в 2 раза реже, чем в группе не-КМНС (5,6% против 11,4%).

3. Для установления прогностической значимости и устойчивости CXCR4/CCR5-фенотипа необходимо определение тропности ВИЧ в динамике, в ходе диспансерного наблюдения за пациентами.

Н.А. Воронина, Г.Г. Харсеева, О.М. Бут, О.В. Карнаухова, Т.Д. Гасретова, А.В. Лабушкина. Сравнительная характеристика методов идентификации представителей рода *Corynebacterium*. ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Целью исследования являлась сравнительная характеристика методов идентификации представителей рода *Corynebacterium*: бактериологического, молекулярно-генетического (секвенирование по 16S рРНК) и масс-спектрометрического MALDI TOF. Исследовали штаммы *Corynebacterium non diphtheriae* (51 шт.), выделенные при различной патологии из урогенитального тракта и верхних дыхательных путей. Коринебактерии идентифицировали классическим бактериологическим методом, секвенированием по 16S рРНК (фирма «Синтол», Москва) и масс-спектрометрическим (MALDI TOF) с использованием масс-спектрометра с коммерческой базой данных – Bruker Biotyper (Bruker Daltonics, Германия).

Результаты показали, что классическим методом диагностики было идентифицировано *C. pseudodiphtheriticum* (46 шт.), *C. amycolatum* (2 шт.), *C. pseudotuberculosis* (2 шт.) и *C. parametabolum* (1 шт.); секвенированием по 16S рРНК – *C. pseudodiphtheriticum* (44 шт.), *C. amycolatum* (1 шт.), *C. aurimucosum* (1 шт.), *C. propinquum* (2 шт.), *C. falsenii* (1 шт.) и *C. diphtheriae* (2 шт.); масс-спектрометрическим анализом – *C. pseudodiphtheriticum* (30 шт.), *C. amycolatum* (1 шт.), *C. propinquum* (19 шт.), *C. minutissimum* (1 шт.). В настоящее время метод секвенирования по 16S рРНК признан «золотым стандартом» в идентификации микроорганизмов. Сравняя полученные данные «золотого стандарта» с данными классического метода идентификации расхождение было обнаружено по следующим видам коринебактерий: *C. aurimucosum* (1 шт.), *C. pseudodiphtheriticum* (5 шт.), *C. propinquum* (2 шт.) и *C. falsenii* (1 шт.); с данными масс-спектрометрического анализа – *C. aurimucosum* (1 шт.), *C. pseudodiphtheriticum* (17 шт.), *C. propinquum* (1 шт.), *C. diphtheriae* (2 шт.) и *C. falsenii* (1 шт.).

Процент совпадений результатов всех трех методов идентификации коринебактерий составил – 51%, совпадение результатов по классическому методу и 16S рРНК – 80,4%, по 16S рРНК и MALDI TOF масс-спектрометрии – 57% и классическому методу и MALDI TOF масс-спектрометрии – 57%.

Таким образом, при идентификации коринебактерий наибольший процент совпадений с данными «золотого стандарта» (секвенирование по 16S рРНК) обнаружен при использовании классического бактериологического метода исследования. Масс-спектрометрический (MALDI TOF) метод требует

дальнейшего совершенствования для определения более широкого спектра представителей рода *Corynebacterium*.

Л.Б. Гайкова¹, Т.В. Вавилова^{1,2}, А.И. Ермаков¹, Н.Г. Кобзева¹, Е.И. Безвуляк¹. **Пресепсин, неспецифические маркеры воспаления и фагоцитарная активность нейтрофилов у пациентов с клинико-лабораторными признаками сепсиса.** ¹ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава РФ, Санкт-Петербург; ²ФГБУ ФМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава РФ, Санкт-Петербург

В настоящее время сепсис остается одной из главных причин смерти в отделениях реанимации и интенсивной терапии, при этом летальность его достигает более 50% при септическом шоке (Riedermann N., Murray H., Kellum J., 2003). Лабораторными маркерами сепсиса являются прокальцитонин, липополисахарид связывающий белок, интерлейкины и др., однако в последнее время большое внимание уделяется пресепсину, как высокоэффективному раннему маркеру сепсиса. Учитывая то, что пресепсин связан с фагоцитозом, он может использоваться для дифференциальной диагностики бактериальной инфекции и системного воспаления.

Цель исследования – оценить значимость пресепсина и других маркеров воспаления (С-реактивный белок и прокальцитонин), фагоцитарной активности нейтрофилов в крови у пациентов с клинико-лабораторными признаками сепсиса.

В исследование было включено 24 пациента, в возрасте от 26 до 84 лет. На момент забора крови на исследуемые маркеры у всех пациентов наблюдались положительные клинико-лабораторные показатели сепсиса по R. Bone. С-реактивный белок (Integra 400 Plus, Roche), прокальцитонин (Elecys 2010, Roche), пресепсин (PANHFAST, Mitsubishi Chemical Medience Corporation) и фагоцитарную активность нейтрофилов (CYTOMICS FC-500, Beckman Coulter) оценивали с помощью соответствующих наборов реагентов в динамике на 3-е и 12-е сутки после включения больного в исследование.

В зависимости от уровня пресепсина при первом измерении пациенты были разделены на 2 группы. У 13 пациентов 1-й группы (уровень пресепсина от 258 до 495 пг/мл при референтном значении 300–499 пг/мл) определяли высокий уровень С-реактивного белка (от 33 до 139 г/л), однако уровень прокальцитонина и показатели фагоцитоза были в пределах референтных значений, что возможно связано с локальной бактериальной инфекцией или неспецифическим повреждением тканей. При уровне пресепсина (от 514 до 9348 пг/мл) (11 человек) наблюдались более высокие значения уровня С-реактивного белка (от 90 до 348 г/л), прокальцитонина (от 2,2 до 55,6 нг/мл). При этом фагоцитарная активность нейтрофилов была в пределах референтных значений, но был отмечен сниженный (в 1,3 раз) индекс стимуляции фагоцитоза. Следовательно, при генерализации бактериальной инфекции повышались уровни маркеров неспецифического воспаления, и снижались резервные возможности фагоцитоза, что подтверждается снижением индекса стимуляции. У 8 пациентов с концентрацией пресепсина в крови выше 1000 пг/мл при бактериологическом исследовании крови наблюдался обильный рост *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae*; дальнейшее динамическое наблюдение, проводимое на 3-и и 12-и сутки, выявило снижение концентрации пресепсина в крови до уровня 350 пг/мл и ниже на фоне проведения антибактериальной терапии, чувствительной к данным возбудителям. У остальных исследуемых пациентов при отсутствии бактериального роста при микробиологическом исследовании гемокультуры концентрация пресепсина в динамике снижалась с последующей нормализацией. Возможно, повышение уровня пресепсина в крови у этих больных было обусловлено развитием локального воспалительного процесса и патогенезом основного заболевания.

Таким образом, определение уровня пресепсина при наличии клинико-лабораторных признаков сепсиса является дополнительным критерием выявления бактериальной инфекции. Повышение уровня пресепсина в крови более 1000 пг/мл,

может рассматриваться как ранний и специфический диагностический критерий генерализации бактериального процесса, что подтверждается и снижением резервных возможностей фагоцитоза нейтрофилов. Кроме того, определение уровня пресепсина в динамике позволяет оценивать эффективность антибактериальной терапии.

Е.В. Гучетль, Н.В. Колесникова, Н.В. Гожуленко, Л.А. Сокол. **Инновации в диагностике и определении степени активности мочевого туберкулеза.** ГБУЗ «Клинический противотуберкулезный диспансер», Краснодар

В последние годы дифференциально-диагностическую значимость приобретают показатели иммунологических дисфункций, в частности, весьма информативно изучение функциональной активности моноцитарно-макрофагальных клеток периферической крови, которые обладают уникальной способностью к генерации мощных оксидазных ферментных систем, необходимых для киллинга объектов фагоцитоза и внеклеточных клеток-мишеней. Исследование кислород-зависимой биоцидности макрофагов при туберкулезе различной локализации актуально в связи с тем, что при дефекте этой способности возникают плохо заживающие очаги гнойного и гранулематозного воспаления с возможными рецидивами.

Исходя из изложенного, целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка оксидазной биоцидности макрофагов при активном и неактивном мочеполовом туберкулезе.

В работе использованы данные обследования 50 пациентов с разными формами мочеполового туберкулеза. Пациенты были распределены на подгруппы в зависимости от активности туберкулезного процесса (активный и неактивный туберкулез). Контролем служила группа из 16 условно здоровых лиц обоего пола без жалоб и клинических проявлений заболеваний. Всего обследовано 66 человек.

Исследование кислород-зависимой биоцидности МФ проводили с помощью классического спонтанного NBT-теста, а также в условиях антигенной стимуляции *in vitro* антигеном микобактерий туберкулеза (туберкулином). При этом оценивался процент формазан-позитивных клеток (% ФПК) в спонтанном и стимулированном NBT-тесте, а также коэффициент мобилизации (КМ), рассчитываемый по отношению %ФПКстим. к %ФПКспонт.

Было исследован характер функционирования микробицидной оксидазной системы макрофагов (Мф) крови при активном и неактивном мочеполовом туберкулезе. Рассмотрев полученные результаты у больных с туберкулезом различной степени активности, установлено, что при активном и неактивном туберкулезе мочеполовой системы увеличен % формазан-позитивных клеток в спонтанном NBT-тесте по отношению к группе сравнения и контролю ($4,1 \pm 0,5$ и $3,5 \pm 0,5$ против $2,4 \pm 0,2$ и $2,52 \pm 0,5$).

Известно, что дополнительная антигенная нагрузка в условиях *in vitro* позволяет выявить резервные возможности клеток или их скрытые дефекты. Учитывая специфику изучаемой патологии, в стимулированном NBT-тесте для антигенной нагрузки был избран туберкулин. В условиях антигенной нагрузки в контрольной группе оказалось, что % ФПК возрастает от $2,52 \pm 0,5$ до $10,45 \pm 0,5$.

Между тем, при активном туберкулезе почек имело место адекватное реагирование оксидазной биоцидности макрофагов на нагрузку туберкулином, выражающееся в достоверной стимуляции % ФПК в стимулированном тесте и в величине КМ, имеющего отчетливую тенденцию к нормализации. Это указывает на то, что при данном варианте течения туберкулезного процесса внелегочной локализации в фагоцитирующих клетках развивается адекватная острофазная защитная реакция, обеспечивающая мобилизацию систем клеточной защиты.

В то же время в стимулированном NBT-тесте у больных неактивным туберкулезом мочеполовой системы наблюдается тенденция к снижению доли формазан-позитивных клеток ($3,6 \pm 0,6$ против $10,45 \pm 0,5$ в контроле), депрессия коэф-

фициента мобилизации (КМ) НМПТ ($1,1 \pm 0,02$ против $3,0 \pm 0,05$ в контроле), обусловленная недостаточностью ответа оксидантной микробицидной системы макрофагов на антигенную нагрузку *in vitro*.

Н.В. Дмитриева, Н.С. Багирова, И.Н. Петухова. Таксономическая структура и антибиотикорезистентность микроорганизмов in vitro, выделенных из крови онкологических больных отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования – анализ таксономической структуры возбудителей, выделенных при диагностике бактериемии/фунгемии у онкологических больных ОРИТ с использованием современных приборов во взаимосвязи с эффективностью терапии тяжелых инфекций.

Микробиологическое исследование образцов крови, полученных при 182 эпизодах лихорадки (повторные исследования исключены) у больных ОРИТ при подозрении на сепсис в течение 2011–2013 гг. Диагностику проводили с использованием гем-анализатора BacterFX400 (BD), идентификацию – с использованием масс-спектрометра MALDI-TOF Microflex LT (Biotyper) (Bruker, Daltonics). Чувствительность к антимикробным препаратам определяли на автоматическом анализаторе Microscan WalkAway96+ (Siemens).

Всего проанализировано 158 штаммов бактерий. Грамотрицательные палочки составили 53,8%, грамположительные кокки – 35,4% ($p < 0,02$), грибов – 10,8%. *Klebsiella pneumonia* (28,5%) и *Acinetobacter baumannii* (13,9%) преобладали среди грамотрицательных палочек вследствие двух последовательных эпидемиологических всплеск внутрибольничной инфекции в ОРИТ. Эти штаммы отличались множественной лекарственной устойчивостью, в том числе и к карбапенемам. Штаммы *Klebsiella pneumonia* были чувствительны только к амикацину и тигециклину, но лечение этими препаратами было неэффективным с летальностью 66%. Штаммы *Acinetobacter baumannii* были чувствительны только к колистину. МИС *Acinetobacter baumannii* для сульбактама не превышала 32 мкг/мкл, что допускает использование высоких доз ампициллин/сульбактама (24 г/день) с хорошим клиническим эффектом. Другие энтеробактерии составили 5,1%. *Pseudomonas aeruginosa* – 3,2%, *Stenotrophomonas maltophilia* – 3,2%, коагулазонегативные стафилококки – 25,3%, и *Staphylococcus aureus* – 0,6%. Энтерококки были представлены двумя видами: *E. faecium* (5,1%) и RE. *Faecalis* (4,4%). При фунгемии получен рост грибов только рода *Candida* с преобладанием *C. parapsilosis* (7,0%), *C. guilliermandii* составили 2,5% и *C. albicans* только 1,3%.

Таким образом, использование современных микробиологических анализаторов позволяет проводить быструю диагностику бактериемии с немедленной идентификацией микроорганизма (в течение 1 мин) и прицельным определением чувствительности возбудителя. Стандартизация всех этапов работы микробиологической лаборатории путем внедрения современной аппаратуры в условиях клиники значительно сокращает время проведения микробиологического исследования на всех этапах и связана с эффективностью своевременной и адекватной антимикробной терапии, снижением внутрибольничной летальности от инфекций.

С.Ф. Карпенко, Х.М. Галимзянов. Патогенетическое и прогностическое значение средне- и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов при коксиделлезе. ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия»

Цель – изучить патогенетическое и прогностическое значение средне- и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) при коксиделлезе.

Под наблюдением находилось 100 больных со среднетяжелым течением коксиделлеза в возрасте от 17 до 50 лет (1–4 нед болезни). Контроль – 80 доноров. Уровень средне- и низкомолекулярных ЦИК в сыворотке крови определяли методом В. Гашковой по разнице концентраций, полученных

соответственно в 3,75% и 3% растворах полиэтиленгликоля-6000 (1977). Содержание ЦИК у доноров было равно $8,1 \pm 1,5$ усл. ед.

Как показали наши исследования, больные коксиделлезом поступали в стационар в среднем на $6,6 \pm 0,5$ день болезни. У 63 пациентов длительность болезни была около двух недель. Большинство больных выписались из стационара на 2–3 нед болезни. Длительность коксиделлеза до четырех недель отмечалась у 12 пациентов. Все больные предъявляли жалобы на слабость и лихорадку.

Оказалось, что уровни ЦИК за весь период болезни превышали норму в 5,1 раза ($p < 0,001$). На 1, 2, 3 и 4 нед болезни количество ЦИК превышало норму соответственно в 2,5 ($p < 0,05$), 5,6 ($p < 0,001$), 8,9 ($p < 0,001$) и 3,1 ($p < 0,05$) раза. На 2 и 3 недели болезни уровни ЦИК в 2,3 ($p < 0,01$) и 3,6 ($p < 0,001$) раза превышали таковые на 1 неделе. На 4 нед болезни отмечалось уменьшение количества ЦИК в 1,9 ($p < 0,01$) и 2,9 ($p < 0,001$) раза по сравнению с показателями на 2 и 3 нед болезни.

Представляло определенный интерес изучение частоты выявления повышенных уровней изучаемых показателей в динамике болезни. Частота выявления повышенного содержания ЦИК увеличивалась в динамике болезни и на 1, 2 и 3 нед болезни достигала 47,1%, 60,4% и 100%. Однако на 4 неделе она уменьшалась до 59%.

С целью выявления прогностического значения ЦИК у больных коксиделлезом был проведен коррелятивный анализ между показателями ЦИК и длительностью болезни и лихорадки. Оказалось, что уже на 1-й неделе болезни выявлялась прямая коррелятивная связь между содержанием ЦИК и длительностью болезни ($r = 0,564$; $p < 0,05$) и лихорадки ($r = 0,555$; $p < 0,05$). На 2 нед болезни наблюдалась прямая коррелятивная связь между уровнем ЦИК и длительностью болезни ($r = 0,619$; $p < 0,001$) и лихорадки ($r = 0,489$; $p < 0,05$).

Таким образом, у больных коксиделлезом наблюдалась активация процесса образования средне- и низкомолекулярных ЦИК, которая зависела от периода болезни. Уровень ЦИК является одним из индикаторов состояния иммунного статуса организма и аутоиммунных процессов. Важной характеристикой ЦИК является их размер. Иммунные комплексы небольших размеров плохо удаляются из кровотока, способны вызывать серьезные воспалительные процессы в тканях и стенках сосудов. На 3-й неделе болезни уровни ЦИК были наиболее высокими, что свидетельствует о выраженной реакции иммунной системы. Наличие коррелятивных связей между содержанием ЦИК и длительностью болезни и лихорадки у больных коксиделлезом на 1–2 нед болезни доказывает прогностическое значение определения данного показателя. Определение ЦИК может быть рекомендовано как дополнительный метод обследования больных коксиделлезом для прогнозирования длительности болезни и своевременной коррекции терапии.

О.В. Кондратенко, А.В. Лямин, О.А. Гусякова, А.И. Габрильчак. Современная номенклатура микроорганизмов, определяемых в лабораториях – проблемы в практике клинициста (на примере муковисцидоза). ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Цель – провести сравнительный анализ используемых для идентификации неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов (НФГОБ) тест-систем.

Задачи исследования – определить спектр значимой для пациентов с муковисцидозом микрофлоры в соответствии с современной номенклатурой микроорганизмов и возможностями ее современной идентификации. Выявить проблемы интерпретации результатов микробиологического исследования с использованием различных методов идентификации.

Проанализированы результаты микробиологического исследования 82 проб мокроты, полученных от пациентов с муковисцидозом в 2008 и 2013 гг. В 2008 г. идентификация микроорганизмов проводилась с использованием систем ин-

дикаторных бумажных для неферментирующих грамотрицательных бактерий (набор из 18 тестов). В 2013 г. идентификация микроорганизмов проводилась с использованием системы идентификации API® 20 NB (стрип из 20 тестов). Проведен сравнительный анализ использования указанных тест систем. Видовая идентификация проводилась в соответствии с современной номенклатурой микроорганизмов.

В результате исследования было выделено 170 штаммов микроорганизмов: 81 штамм был выделен в 2008 г. и 89 штаммов – в 2013 г. В структуре клинически значимой микрофлоры доминирующее положение занимали НФГОБ. Среди штаммов, выделенных в 2008 г., лидирующее место занимала *Pseudomonas aeruginosa* (14 штаммов (51,9%)). Из них 10 штаммов (71,4%) были в немуюкоидной и 4 (28,6) в мукоидной форме. На втором месте по частоте выделения среди всех НФГОБ были представители рода *Acinetobacter* (4 штамма (14,8%)). На третьем месте была *Stenotrophomonas maltophilia* (3 штамма (11,1%)). В равной степени часто встречались *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas diminuta* – по 2 штамма (7,4%), соответственно. Среди штаммов НФГОБ, выделенных в 2013 г., наиболее часто встречалась *B. Cerasia* (8 штаммов (47,1%)), на втором месте была *P. Aeruginosa* (5 штаммов (29,4%)). Из них 3 штамма (60,0%) были в немуюкоидной и 2 (40%) в мукоидной форме. В равной степени часто встречались *S. Maltophilia* и *Acinetobacter* spp. по 1 штамму (5,8%), соответственно. Впервые у пациентов с муковисцидозом в Самарской области были выделены представители рода *Brevundimonas* в монокультуре, в клинически значимом количестве (2 штамма (11,8%)). При идентификации НФГОБ с использованием API® 20 NE были определены. В результате проведенного исследования было выявлено, что использование биохимических тестов для идентификации НФГОБ не позволяет проводить точную идентификацию бактерий данной группы без использования современной системы интерпретации результатов. Система АРО® 20 NE за счет обширной базы данных позволяет идентифицировать ранее не определяемые у пациентов с муковисцидозом виды и роды микроорганизмов. Однако этот факт значительно затрудняет выбор тактики клинициста и оценку значения данной флоры у пациентов при выделении ее в норме из нестерильных локусов, а как следствие выбор антимикробных химиопрепаратов.

Современные возможности идентификации микроорганизмов, как основанные на стандартных методах исследования (биохимическая идентификация), так и внедрение новых методов исследования (MALDI-TOF) значительно расширяют видовое разнообразие микроорганизмов, выделяемых в лабораториях в рутинной практике. При этом перед клиницистом встает практически неразрешимая задача интерпретации полученных результатов, особенно с учетом отсутствия отечественных критериев оценки микробиологических методов исследования с учетом новых технологий.

Н.А. Кузнецова¹, С.Н. Шатохина². Анизоморфны спинномозговой жидкости у больных разными формами нейросифилиса. ¹ГБУЗ МО «Московский областной клинический кожно-венерологический диспансер», ²ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва

Диагностика нейросифилиса в настоящее время представляет собой актуальную проблему в связи с увеличением числа скрытых и поздних его форм. Вместе с тем, использование традиционного общеклинического анализа спинномозговой жидкости и серологических тестов в ряде случаев не позволяет поставить диагноз нейросифилиса. В связи с этим целью исследования явилось определение диагностических возможностей морфологического анализа анизотропных структур спинномозговой жидкости у больных разными формами нейросифилиса.

Обследовано 72 больных с разными формами сифилиса, включая нейросифилис. Исследовались: а) сыворотка крови – РПР (быстрый тест плазменных реагинов), РПГА (реакция пассивной гемагглютинации), РИФ (реакция иммунофлюо-

ресценции), ИФА (иммуноферментный анализ с определением разных классов иммуноглобулинов М, G, IgM + IgG); б) спинномозговая жидкость – VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), РПГА, РИФЦ (РИФ с цельным ликвором), ИФА-IgG, реакция Панди, определение концентрации общего белка, количество клеток и цитограмма. В качестве инновационного исследования был использован метод краевой дегидратации спинномозговой жидкости, входящий в состав диагностической технологии «Литос-система».

По результатам серологических тестов и данным клинического обследования, пациенты были распределены на 3 группы: первая группа включала 42 больных, которым было назначено лечение по схеме нейросифилиса. Из них: 12 – с ранним асимптомным нейросифилисом (подгруппа 1А), 17 – с поздним менингovasкулярным нейросифилисом (подгруппа 1Б) и 13 больных, диагноз нейросифилиса у которых по результатам лабораторных исследований был сомнителен (подгруппа 1В); вторая группа включала 9 больных с ранним скрытым сифилисом при слабоположительных результатах серологических тестов СМЖ и клинических показателях в пределах нормы; третья группа включала 21 больного сифилисом с разным сроком от начала заражения, у которых отсутствовали данные за нейросифилис при клиническом и лабораторном исследовании.

Исследования спинномозговой жидкости позволили выявить следующие виды анизоморфонов: сферолиты с импрегнацией аморфных овалов, отдельно лежащие аморфные овалы, сферолиты с импрегнацией гранулированных шаров, отдельно лежащие гранулированные шары. У всех больных ранним асимптомным нейросифилисом (подгруппа 1А) общее количество сферолитов было небольшим, но все они в своей структуре содержали аморфные овалы, которые в норме отсутствуют. У всех 17 больных поздним менингovasкулярным нейросифилисом (подгруппа 1Б) определялось большое количество структур в виде отдельно лежащих аморфных овалов, сферолитов с импрегнацией гранулированными шарами и множества отдельно лежащих гранулированных шаров. У 5 больных второй группы с ранним скрытым сифилисом результаты морфологического исследования ликвора показали наличие вышеописанных признаков нейросифилиса. У больных третьей группы состав анизоморфонов спинномозговой жидкости характеризовался наличием компактных по структуре сферолитов с признаками вторичного роста дендритов по периферии, что являлось вариантами нормы. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что применение метода краевой дегидратации спинномозговой жидкости по технологии «Литос-система» у пациентов с сифилисом в анамнезе при сомнительных результатах серологических и общеклинических исследований ликвора является важным дополнительным тестом, позволяющим диагностировать нейросифилис и проводить дифференциальную диагностику ранних и поздних его форм.

М.В. Лахтин. В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, М.С. Афанасьев. Сцепленность лектинов и ЭПС в культурах пробиотических бактерий человека. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора РФ, Москва; Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Бактериальные экзополимерные соединения (ЭПС: экзополисахариды, биосурфактанты, другие) являются источниками и/или носителями антимикробных агентов. Цель – исследовать ассоциаты лектинов (гликоконъюгаты-распознающих белков и их комплексов) и ЭПС пробиотических бактерий.

Пробиотические штаммы бифидобактерий и лактобацилл – из коллекции микроорганизмов при ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского». Использовали хранящиеся при -20 °С концентраты высокомолекулярных компонентов (свыше 27 кД) супернатантов лактобацилл и бифидобактерий, выращенных в жидких средах. Молекулярные массы и заряды ЭПС определяли электрофоретически в пластинах полиа-

криламидного геля в присутствии хаотропного агента и/или сурфактанта. Гели и блоты обрабатывали флюоресцентным красителем (www.probes.com/syprodyes). Картины флюоресценции регистрировали в режимах, оптимизированных для белков или ЭПС, с использованием BioChem System (UVP).

Слабокаатионные белки в ассоциатах с ЭПС были организованы, как сцепленные. На это указывали: а) более выраженные контурные ЭПС с белками в эпицентрах контуров; б) исчезновение контурных ЭПС при деградации ассоциатов, сопровождаемое снижением выраженности белков. Серии картин сцепленности ЭПС и белковых центров и наличия совмещенных контуров указывали на последовательность сборки ЭПС вокруг белка (больше белковый эпицентр – более выраженный ЭПС, больше совмещенных контуров). Наблюдаемая зависимость от метаболизма бифидобактерий разборка/деградация (снижение числа контуров, уменьшение размеров ЭПС, исчезновение белковых центров в последнюю очередь) указывала на алгоритм разборки, противоположный алгоритму сборки. По выраженности белкового (маркерного, индикаторного) центра в катионной области можно было судить о первоначальной (до деградации) исходной продукции ЭПС и ЭПС – белковых ассоциатов, что важно для сравнительного фенотипирования штаммов.

Выводы. 1. Результаты демонстрируют сходство эпицентральных белков ассоциатов с лектиновыми системами – инициаторами обратимой направленной твердофазной градиентной сборки ЭПС. 2. Такие процессы аффинной сборки и разборки являются обоснованием дальнейшего функционирования ЭПС-лектиновых ассоциатов в культуральных жидкостях и биотопах человека в качестве системных метаболомбиотиков. 3. Доставка таких метаболомбиотиков в качестве вспомогательных кофакторов в системных антимикробных препаратах в составе пористых биосовместимых гидрофильных сорбентов в биотопы может найти применение в профилактике и терапии болезней, развитии диагностических и прогностических анализов и алгоритмов, медицинской биотехнологии. 4. Результаты имеют теоретическое значение для сборочной эволюции и инволюции ассоциатов «лектиновые системы–ЭПС» в условиях их кофункционирования *in vitro* и *in vivo*.

М.В. Лахтин, В.М. Лахтин, А.Л. Байракова, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин. Мультиузловая концепция микробиоценоза биотопа человека: сеть взаимоотношений в процессах биопленкообразования, вовлекающих лактобациллы и кандиды. ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Взаимоотношения в системе «*Lactobacillus-Candida*» являются высокочувствительными для мониторинга и способны дифференцировать здоровые и патологические состояния биотопа человека. Биопленкообразование (БПО) смешанными культурами (рост пар «штамм *Lactobacillus* + штамм *Candida*») в среде, в оптимизированных соотношениях, 2 сут при 37°C) штаммов, выделенных из урогенитального биотопа (УБ) человека, количественно контролируется в микропанели путем измерения экстрактов БП, ранжируется в рядах по выраженности БПО и может быть сопоставлено с БПО монокультуральными ингредиентами смешанных культур. Ранее нами были получены результаты по составяющим мультиузловой концепции биотопа: а) предложен прогностический принцип ранжирования признаков штаммов в пробиотическом консорциуме; б) предложено рассмотрение биотопа как сбалансированного противостояния расширенных пулов потенциально антагонистических микробных компарментов; в) предложен алгоритм выявления в ранжированных по БПО рядах лидерных штаммов *Lactobacillus* и *Candida*, отражающих метаболическую сцепленность рядов лактобацилл и кандид; г) выявлены закономерности взаимоотношений между видами лактобацилл и кандид в реакциях БПО; д) исследованы резистентность и чувствительность кандид к антимикотикам и способность антимикотиков «переключать» виды кандид функционально близкой группы; е)

исследована чувствительность лактобацилл к антибиотикам, позволяющая планировать использование микробов пробиотической направленности в терапии; ж) выявлены штаммовые, (над)видовые и подвидовые различия штаммов кандид, ранжированных по БПО, по способности утилизировать 6 типов сахаридов длиной 1–3 звеньев; з) установлены видовые, групповые и подвидовые взаимосвязи ранжирований БПО в направлениях Лактобациллы–Кандиды и Кандиды–Лактобациллы.

Цель исследования – предложить концепцию мультиузловой сцепленной сети микробиоценоза биотопа человека на примере взаимоотношений между лактобациллами и кандидами УБ в процессах БПО.

Динамический сцепленный узел биотопа – один из сетевых стыков, где решаются локальные противоречия микробного баланса благодаря прямым и обратным связям сцепленного метаболизма микробов, происходит восстановление локального дисбаланса (раннего, обратимого, экзо- и эндогенного, в том числе вызванного условным патогеном). Узловая здоровая сеть противостоит островкам патогенности в биотопе.

Примеры сцепленности видов, регулирующих микробный баланс в биотопе. Мы обнаружили, что пулы штаммов *L. Acidophilus* (1), *brevis* (2) и/или *L. Casei* (3) влияют на ранжирование БПО *C. albicans* (4), *C. krusei* (5) and/or *C. tropicalis* (6) (в скобках – межвидовые связи): а) наблюдается усиление упорядоченности в рядах ранжирования БПО штаммов видов *Candida* (появление видзависимых блоков длиной до 5 штаммов) в смешанных культурах (1+2+3–4+6±5); б) выявляются блоки подвидовых популяций 4а и 4б в рядах ранжирования БПО в пределах функциональной группы кандид 4 и 6 (1+2+3–4+5). В обратном направлении установлено, что пулы штаммов лактобацилл видов 4, 6 и/или 5 влияют на ранжирование БПО штаммов кандид видов 1, 2 и/или 3: имеет место максимальное проявление числа видовых блоков (блоков видов 1–3, блок 3 – синергистический) в рядах ранжирования БПО под влиянием 4 на фоне отсутствия блока вида 3 при раздельном влиянии популяции 4а или 4б (4а+4б–1+2+3; 4а–1; 4б–2).

Предложена прогностико-диагностическая концепция биотопа. Выбор узла, пулов, направлений сравнения; расчет признаков и их ранжирование, установление ключевых штаммов и блоков позволяют алгоритмизировать оценку биотопа. Концепция универсальна – применима к любому смешанному микробиоценозу любого биотопа.

*М.В. Лахтин¹, В.М. Лахтин¹, С.С. Афанасьев¹, А.Л. Байракова¹, Е.В. Беликова¹, В.А. Алешкин¹, М.С. Афанасьев². Взаимодействие пулов лактобацилл и кандид из одного и того же биотопа приводит к видзависимому упорядочиванию биопленкообразования в смешанных культурах: выявление трех микроэкосистем функционально близкой группы кандид (*C. albicans* и *C. tropicalis*).¹ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва; ²Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва*

Разработанный нами метод сравнительного ранжирования штаммов был применен нами для скрининга лидерных штаммов взаимодействующих пулов микробов биотопа.

Цель исследования – применить метод сравнительного ранжирования для установления видзависимого упорядочивания штаммов кандид в смешанных биопленках (БП).

Материалом служили штаммы, изолированные из урогенитального биотопа пациентов. Пул лактобацилл включал *L. Acidophilus* 106, 124, 183а; *L. casei* 124б, 183; *L. Brevis* 104, 109, 143. Пул кандид (в скобках резистентность к антимикотикам: А – амфотерицину-В, Ке – кетоконазолу, Кл – клотримазолу, И – итраконазолу, Ф – флюконазолу): *C. albicans* 3(А), 23(И, Ф), 26(А), 45(А), 116, 147, 161, 320(А); *C. krusei* 5(А, И), 60(А, И), 125(А, И), 135(А), 185(А, И, Кл), 309(А, И, Ке, Ф); *C. tropicalis* 97, 112, 144, 162, 417(А, Кл, Ф), 433, 438, 897(А, Кл, Ф). Суспензии микробов в физрастворе с мутностью 1 ед (по шкале МакФарланда) смешивали попарно

(штамм лактобацилл–штамм кандид) в среде MRS в лунках микропанели в оптимизированном соотношении и инкубировали 2 суток при 37°C. БП обрабатывали красителем, фотографировали, краситель экстрагировали и измеряли D@620. Способность к БП ранжировали для моно- и смешанных культур кандид.

БП-образование монокультурами кандид снижалось в рядах (в скобках – для группы: *C. albicans* [выделены жирным] и *C. tropicalis* [выделены курсивом]):

438>23>144>116>135>5>897>97>147>309>3>162>26>320 (438>23>144>116>897>97>147>3>162>26>320). Видны случайный характер внутривидового распределения штаммов в рядах. БП-образование смешанными культурами кандид под влиянием пула 8 штаммов лактобацилл снижалось в рядах (в скобках – для группы *C. albicans* и *C. tropicalis*): 23>309>320>147>144>135>97>5>438>897>162, 116>3,26 (23>320>147>144>97>438>897>162, 116>3,26). Видно возрастание сблоченности внутривидовых штаммов (появление трехштаммовых блоков). При сравнении рядов только видов группы выявлялась полная внутривидовая сблоченность (все штаммы *C. albicans* в одном блоке) – в максимальной степени (пятиштаммовый блок *C. tropicalis*). В случае *C. albicans* выявлялись две полярные в ряду подвидовые популяции. Они не различались по чувствительности к антимикотикам, проявляли взаимодополняющие (в том числе к *C. tropicalis*) по метаболизму свойства (рост и БП-образование в присутствии одного и того же пула лактобацилл). Результаты указывают на присутствие в биотопе, по крайней мере, трех сосуществующих и взаимодействующих с лактобациллярным пулом микроекосистем группы *C. albicans* и *C. tropicalis*. Взаимодействие пулов носило адаптивный характер, когда все три микроекосистемы кандид выстраивают отношения с окружающими микробами как взаимодополняющие друг друга и с целью усиления однородности видовой представительности в смешанных БП. Пул лактобацилл участвует в упорядочивании взаимоотношений микробов в микробиоценозе, поддерживает сформировавшуюся метаболическую сеть биотопа, способствует оптимальному распределению микроекосистем.

Метод ранжирования эффективен для установления видзависимой и видопределяющей сблоченности штаммов взаимодействующих пулов микробов. Выявление внутривидовых блоков, содержащих 3–5 и более штаммов, является признаком видовой ответа кандид на присутствие в биотопе сцепленных с кандидами пулов микробов. Установлен еще один микробиологический адаптивный признак вида кандид, отличимо сосуществующего с другими видами кандид и бактериями пробиотической направленности. Метод способен не только ранжировать виды кандид по приоритету БП-образования, но и выявлять внутривидовые популяции кандид (на примере *C. albicans*), что может иметь диагностическое значение. Результаты поддерживают мультиузловую концепцию биотопа.

М.В. Лахтин¹, В.М. Лахтин¹, С.С. Афанасьев¹, А.Л. Байракова¹, Е.В. Беликова¹, М.С. Афанасьев². **Прогнозирование влияния пулов кандид на биоопленкообразование видами лактобацилл из одного и того же биотопа.** ¹ФБУН МНИИ-ЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва; ²Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва

Ранее нами было установлено, что в смешанных культурах штаммов кандид в присутствии пулов лактобацилл происходит видзависимое повышение степени упорядоченности рядов биоопленкообразования (БПО) кандидами [Клин. лаб. диагн. 2013; 9].

Цель исследования – применить метод ранжирования для оценки БПО лактобациллами под влиянием пулов кандид из одного и того же биотопа, исследовать видовое упорядочивание БПО лактобациллами в смешанных культурах.

Материалом служили штаммы, изолированные из урогенитального биотопа пациентов: *L. Acidophilus* 106, 124, 183a; *L. casei* 124b, 183; *L. brevis* 104, 109, 143; *C. albicans* 3, 23, 26,

45, 116, 147, 161, 320; *C. krusei* 5, 60, 125, 135, 185, 309; *C. tropicalis* 97, 112, 144, 162, 417, 433, 438, 897. Суспензии микробов с D₅₄₀ 0,9–1.1 ед. в физрастворе смешивали попарно (шт. лактобацилл + шт. кандид) в среде MRS в лунках полистироловой микропанели в оптимизированном соотношении и инкубировали 2 суток при 37°C. БП обрабатывали красителем, который экстрагировали раствором уксусной кислоты. Экстракты переносили в другую микропанель и измеряли D₆₂₀. Способность к БПО лактобациллами рассчитывали и ранжировали отдельно для моно- и смешанных культур.

БПО монокультурами лактобацилл снижалось в ряду:

1. 183>143>183a>106, 109>104>124b>124. БПО культурыми лактобацилл под влиянием мультиштаммовых пулов кандид (варианты – в скобках) снижалось в рядах:

2. 124, 124b>183>143>106>104, 109>183a (8 штаммов *C. albicans*);

3. 124>124b>183>143>183a>106>104, 109 (штаммы 3, 23, 26, 116, 147, 320 *C. albicans*);

4. 124b>124>143>183>183a>104>109>106 (штаммы 23, 147, 320 *C. albicans*);

5. 183>143>106>183a>124b>109>124>104 (штаммы 3, 26, 116 *C. albicans*);

6. 124b>183>124>143>183a, 109>106>104 (8 штаммов *C. tropicalis*);

7. 124b>124>183>143>104, 183a>109, 106 (6 штаммов *C. krusei*).

При сравнении рядов видно: а) максимальное возрастание упорядоченности внутривидовых штаммов (присутствие видовой сблоченности у всех видов лактобацилл) наблюдалось под влиянием двух популяций [но не каждой в отдельности] *C. Albicans* (ряды 3–5); б) совместное действие обеих популяций *C. albicans* характеризовалось синергизмом – взаимодополняемостью сцепленности популяций шт. 23, 147, 320 или шт. 3, 26, 116 в отношении блоков *L. acidophilus* или *L. brevis*, соответственно (ряды 4, 5), появлением сцепленности пула *C. albicans* с блоком *K. casei* (ряды 3–5); в) влияние популяции шт. 23, 147, 320 *C. albicans* было сходным с таковым пула *C. krusei* – по сцепленности с видом *L. brevis* (ряды 4, 7); г) влияние пула *C. tropicalis* проявляло сходство с совместным действием двух популяций *C. albicans* – по сцепленности метаболизма с блоком *L. casei* (ряды 3, 6), что являлось дополнительным признаком объединения *C. albicans* и *C. tropicalis* в функционально близкую группу; д) выявлялась общая закономерность видзависимого снижения БПО лактобациллами в рядах 3, 1, 2, 4–6 (*L. casei* > *L. acidophilus* > *L. brevis*); е) влияние пула *C. krusei* на ряды БПО лактобациллами характеризовалось минимальной выраженностью сцепленности с метаболизмом исследованных видов лактобацилл (ряд 7) по сравнению с действием группы видов *C. albicans* и *C. tropicalis*.

Результаты демонстрируют видзависимость ранжированных распределений БПО штаммами лактобацилл под влиянием пулов кандид из того же биотопа, что и лактобациллы. Результаты указывают на присутствие в биотопе различных по приоритетности и выраженности межродовых (между лактобациллами и кандидами) «узловых» сцеплений метаболизма (рост + БПО в смешанных культурах) в направлениях «Кандиды–Лактобациллы» и «Лактобациллы–Кандиды». Результаты дают диагностико-прогностический алгоритм оценки межвидовых связей микробов в биотопе.

С.О. Навольнев, Н.И. Колкова, Е.Н. Федина, Н.А. Зигангирова. **Усовершенствование компьютерной программы для выделения и анализа изображения микроорганизмов на цифровом изображении, полученном в микроиммунофлюоресцентном методе.** ФГБУ «НИИ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

Разработана программа для выделения и анализа изображения окрашенных микроорганизмов (хламидий) в микроиммунофлюоресцентном методе, фотографии получали от цифрового фотоаппарата, установленного на флюоресцентный микроскоп. Применение методов компьютерного зрения

в микроскопии способствует повышению объективности исследований. Визуально сложно количественно определить такой параметр, как площадь исследуемых объектов, их яркость, форма и размер контуров и некоторые другие параметры. Точный количественный анализ необходим при изучении воздействия на микроорганизмы разных веществ с целью выбора вещества, максимально подавляющего их рост.

Хламидий выращивали в культуре клеток, затем проводили микроиммунофлюоресцентный анализ с использованием меченных ФИТЦ моноклональных антител, рассматривали и фотографировали под флюоресцентным микроскопом Nikon. Хламидии в этом методе видны как маленькие зеленые пятнышки. В препаратах хламидий также находятся эукариотические клетки, которые по оптическим свойствам очень неоднородны, что делает фон неоднородным и затрудняет выделение микробов.

Для выделения хламидий из окружающего неоднородного фона делали следующее. Использовали в анализе цветовое пространство RGB, в котором имеется 16 777 215 оттенков цвета. В части опытов использовали цветовое пространство, аналогичное RGB, но содержащее меньшее количество оттенков цвета. Вначале исследовали цвета и частоты их встречаемости в контрольном препарате, не содержащем хламидий, и записывали их в базу данных. При анализе фотографии с зараженным материалом, программа для каждого пикселя изображения, определяет – новый это цвет или нет – через сравнение данного цвета с имеющимися в базе данных. Если этот цвет есть в базе данных, то программа «срезает» его с исследуемого изображения. Таким образом, на обработанной фотографии остаются только изображения хламидий. Программа убирает шумовые «единичные» пиксели и подсчитывает общие показатели: количество зеленых пятен, общую площадь зеленых пятен, среднюю площадь пятен и разброс, суммарную яркость; а также по отдельным пятнам: площадь, среднюю площадь пятен и разброс, среднюю яркость цвета и разброс. Можно автоматически построить графики частот встречаемости величин некоторых параметров, что дает возможность выделить группы.

Компьютерная программа была использована для количественного анализа воздействия некоторых лекарственных веществ на рост хламидий в культуре клеток.

Т.Н. Николаева, Е.А. Дуванова, Е.Ю. Смирнова. Этиологические особенности воспалений верхних дыхательных путей. ООО «Центр лабораторной диагностики», Вологда

Цель исследования – оценить структуру бактериальных возбудителей при воспалительных процессах верхних дыхательных путей.

Проанализированы 1360 исследований отделяемого слизистой зева, носа и мокроты амбулаторных пациентов с клиническими симптомами воспалений верхних дыхательных путей (ВДП), среди которых отделяемое зева составило 56,3%, носа – 42,3%. Посев указанных проб клинического материала производили на 3 вида питательных сред: кровяной агар (КА) на основе БРУЦЕЛАГАРА с добавлением 5% лошадиной сыворотки, шоколадный и желточно-солевой агары, приготовленные по стандартным рецептам. По клиническим показаниям проводился также посев на среду Сабуро. Все посевы выращивали при 37°C в обычной атмосфере 44–48 ч с обязательным просмотром КА в первые сутки. Дальнейшую идентификацию проводили преимущественно с изолированных колоний, а при густом или смешанном росте отсеивали культуры на сектора КА. Идентификацию энтеробактерий вели с использованием селективного агара для обнаружения уропатогенных бактерий (HIMEDIA, Индия) и СИБ для дифференциации энтеробактерий (НПО МИКРОГЕН). Для определения вида стафилококков использовали набор реагентов СТАФ-ТЕСТ (НПО АКВАПАСТ) и дифференциально-диагностические среды по прописям приказа Минздрава СССР № 535. При работе со стрептококками применяли наборы СТРЕП-ТЕСТ А и В (пр-ва НПО АКВАПАСТ) для реакции коагуляции, или ограничивались за-

ключением о выделении м/о «рода Streptococcus» после установления типичной морфологии клеток. Для идентификации пневмококка использовали диски с оптохином. Энтерококки дифференцировали на энтерококкагаре производства ФБУН ГНЦМБ (г. Оболонск). Нейссерии выявляли на КА после 40-часовой инкубации, колонии микроскопировали, определяли оксидазную и каталазную активность и идентифицировали с помощью набора NEISSERIAtest (Lachema). Гемофилы выращивали на шоколадном агаре 20–44 часа, характерные колонии микроскопировали, определяли оксидазу, х и v факторы с помощью дисков с сапонином и видовые тесты: уреазу и в-галактозидазу. Для идентификации коринебактерий применяли набор «ДС-ДИФ-КОРИНЕ» (НПО Диагностические системы). Вид грибов *Candida* определяли на хромогенном агаре производства «HIMEDIA» Индия.

Различные патогены обнаружены в 57,8% проб. Преобладали исследования с выделением монокультуры возбудителя, ассоциации микроорганизмов (2 и более) составляли не более 18%. Ведущим возбудителем являлся *S. aureus*: его содержали 69% мазков из зева и 49% мазков из носа. Высокий удельный вес также занимали *H. influenzae* (24% в носу и 14,7% в зеве). *S. pneumoniae* обнаруживался значительно чаще в носу (причем, в чистой культуре), чем в зеве. Его доля среди всех патогенов составила 24% и 6,8% соответственно. К числу существенных возбудителей воспалительных процессов отнесли нейссерии (9,7% в зеве и 8,7% в носу), среди которых преобладала *Moraxella (Branchamella) catarrhalis* (44%). В мазках из носа *B. catarrhalis* обнаруживалась в 3 раза чаще и, преимущественно, в чистой культуре. Следует отметить, что более 80% культур *Moraxella* и *Haemophilus* получены на вторые сутки выращивания посевов. Стрептококки групп И и Ф встречались не часто (5%), преимущественно в зеве. Энтеробактерии выделялись значительно реже и были представлены в основном *E. coli* (2,2%) и *Kl. pneumoniae* (2%). Такие же доли всей микрофлоры приходились на НГОБ (псевдомонады, ацинетобактер, моракселлы) и грибы *Candida*. Ассоциации микроорганизмов чаще были представлены *S. aureus* + *H. influenzae*, *S. pneumoniae* + *H. influenzae*.

Ведущими возбудителями воспалительных процессов ВДП у амбулаторных больных являются: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *M. (Branchamella) catarrhalis*. Кровяной агар на основе БРУЦЕЛАГАРА является оптимальной питательной средой для выращивания прихотливых микроорганизмов, а удлинение сроков термостатирования значительно увеличивает выделение культур *Moraxella* и *Haemophilus*.

Л.А. Новикова, Л.Н. Борзунова, А.М. Китанина, А.А. Бахметьев. Анализ результатов исследований ИППП методом ПЦР у пациентов с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта. Кафедра дерматовенерологии ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, БУЗ ВО «Воронежская городская клиническая больница № 7»

Необходимость обследования пациентов с урогенитальными инфекциями (УГИ) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) при диагностике инфекций, передающихся половым путем (ИППП), в настоящее время является неоспоримым фактом. Преимуществом амплификационного метода анализа по сравнению с другими методами является прямая идентификация ДНК возбудителя, высокая чувствительность и специфичность, быстрое получение результатов, выявление микст-инфекций урогенитального тракта и инфекций при латентном и асимптомном течении заболевания.

Цель – изучить распространенность и частоту выявления микст-инфекций, микоплазменной и уреоплазменной инфекций у пациентов, обратившихся в медицинскую организацию дерматовенерологического профиля с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта.

Исследования проводили в клинико-диагностической лаборатории на базе БУЗ ВО «Воронежская городская клиническая больница № 7», наборами производства «ЦНИИ эпидемиологии» ФС по надзору в сфере защиты прав потребителей

и благополучия человека «AmpliCenc®» на амплификаторе ДТ-322 фирмы «ДНК-Технология» в режиме «Realtime», качественно. Материал для исследований – урогенитальные соскобы, взятые с помощью урогенитальных зондов в специальную транспортную среду для ПЦР исследований.

Проанализированы результаты исследований 624 пациентов, обратившихся во втором полугодии 2013 г. на ДНК *Chlamydia trachomatis*, ДНК *Mycoplasma hominis*, ДНК *Mycoplasma genitalium*, ДНК *Ureaplasma species*. Проведено 2496 исследований, из них 449 патологических (18%).

По данным литературы 50% и более случаев УГИ протекает при наличии одной или нескольких перечисленных выше инфекций, в наших исследованиях выделены инфекции у 302 пациентов (48,4%).

Моноинфекции встречались у 205 (67,8%) пациентов: *M. genitalium* – 6 (2,9%), *C. trachomatis* – 47 (22,9%), *M. hominis* – 9 (4,4%), *U. spp.* – 143 (69,7). Микст-инфекции встречались у 97 пациентов (32,1%). Две инфекции выявлены у 79 пациентов (81,4%):

- *C. trachomatis* + *M. genitalium* – 2 пациента (2,5%);
- *C. trachomatis* + *U. spp.* – 27 пациентов (34,1%);
- *M. genitalium* + *U. spp.* – 6 пациентов (7,6%);
- *M. genitalium* + *M. hominis* – 1 пациент (1,3%);
- *M. hominis* + *U. spp.* – 43 пациента (54,4%).

Три инфекции встречались у 18 (18,5%) пациентов:

- *C. trachomatis* + *M. hominis* + *U. spp.* – 14 пациентов (77,8%);
- *C. trachomatis* + *M. genitalium* + *U. spp.* – 3 пациента (16,6%);

- *M. genitalium* + *M. hominis* + *U. spp.* – 1 пациент (5,5%).

Выводы. Метод ПЦР оптимален для скринингового обследования населения и является одним из основных диагностических критериев в решении проблемы воспалительных заболеваний урогенитального тракта.

2. Целенаправленное диагностическое выявление больных урогенитальными инфекциями позволит повысить своевременное оказание медицинской помощи, что уменьшит затраты на лечение.

В.П. Новикова¹, Д.А. Кузьмина², А.Ю. Щербакова², М.В. Иванова², Е.В. Токарева³. Метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии в оценке состояния микрофлоры полости рта у подростков с хроническим гастродуоденитом. ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова¹; НГМУ им. Ярослава Мудрого², Великий Новгород; Центр дисбиозов³, Санкт-Петербург

Цель исследования – оценить состояние микрофлоры полости рта у подростков с хроническим гастродуоденитом методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии.

На базе КДЦ № 2 для детей г. Санкт-Петербурга обследовано 20 подростков в возрасте от 12 до 17 лет, больных с морфологически верифицированным диагнозом хронический гастродуоденит (ХГД) (1-я группа) и 10 здоровых детей аналогичного возраста (2-я группа). Обе группы были однородными по возрастному-половому характеристикам. Гастроэнтерологическое обследование включало ФГДС, морфологическое исследование биоптатов слизистой оболочки желудка, УЗИ внутренних органов. Группа сравнения включала в себя подростков с первой группой здоровья, не имеющих никаких гастроэнтерологических жалоб. Подростки обеих групп не получали ни антибиотиков, ни пробиотиков до исследования. Состояние микрофлоры полости рта у детей изучалось путем исследования состава микробных маркеров в мазках со слизистой зева, методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии, позволяющей изучить видовой состав микроорганизмов, населяющих микробиоценозы человека различных биосубстратов. Метод сертифицирован Росздравнадзором. Разрешение ФС 2010/038 от 24.02.2010. Материал собирали стерильным ватным тампоном, помещали в транспортную среду и доставляли в лабораторию не позднее 24 ч. Все дети были осмотрены стоматологом. Для оценки гигиенического состояния полости рта определялся индекс гигиены по методу Ю.А. Федорова и В.В. Володкиной. Карлес

у обследованных детей оценивался по классификации Т.Ф. Виноградовой. Статистический анализ выполнен с использованием методов математической статистики, реализованных в пакете Statistics ver. 6.0.

У подростков с ХГД в ротовой жидкости полностью отсутствуют такие представители микробной флоры, как *Streptococcus sp.*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Lactococcus*, *Eubacterium moniliforme sp.*, *Peptostreptococcus anaerobius* 17642, *Nocardia*, бактерии семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli* и пр.), *Campylobacter mucosalis*, *Alcaligenes*; разница с группой здоровых достоверна. Также достоверно был снижен в сравнении с нормой титр *Staphylococcus*, *Staphylococcus intermedius*, *Moraxella*, *Corineform CDC-group XX*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium difficile*, *Selenomonas*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Pseudonocardia*, *Nocardia asteroides*, *Propionibacterium acnes*. Достоверно повышен в 2 и более раз в сравнении с нормой оказался титр *Eubacterium lentum* (группа А), *Eubacterium*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium propionicum*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *Propionibacterium*, *Propionibacterium jensenii*, *Peptostreptococcus anaerobius* 18623, *Prevotella*, *Fusobacterium/Haemophilus*, *Bifidobacterium*, *Streptomyces*, *Porphyromonas*, микроскопических грибов (кампестерол), *Herpes*-вирусов. Подобные различия сопровождались разной частотой стоматологической патологии у обследованных лиц. Так, в 1-й группе по сравнению со 2-й группой частота катарального гингивита (25% и 10%, $p < 0,05$), неудовлетворительного и плохого состояния гигиены полости рта (75% и 15%, $p < 0,05$), субкомпенсированного (20% и 5%, $p < 0,05$) и декомпенсированного кариеса (20% и 10%, $p < 0,05$) была выше.

Микрофлора полости рта у подростков с хроническим гастродуоденитом, по данным газовой хроматографии-масс-спектрометрии, имеет существенные отличия от показателей здоровых подростков. Дисбиотические нарушения в ротовой полости при хроническом гастродуодените сопровождаются более частой и более выраженной стоматологической патологией. Роль отдельных представителей микробиоценоза ротовой полости в генезе поражения слизистых оболочек ротовой полости и твердых тканей зубов нуждается в уточнении.

Л.А. Нуретдинова, З.А. Муртазина, А.В. Цветкова, Т.В. Маркушева, А.Р. Мавзютов. Сравнение частоты встречаемости бактериального вагиноза у женщин, проживающих в различных климатических зонах. ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа; ООО УЗ ЛДЦ «Наджа», Сургут, ХМАО-Югра

Накопленные в настоящее время данные свидетельствуют о том, что микробиота человека, в том числе влагалищная, является сложной, многокомпонентной системой, которая динамично изменяется в течение всей жизни человека под воздействием различных внешних факторов и состояния макроорганизма. Одним из наиболее распространенных и клинически выраженных результатов ее качественного и количественного варьирования является бактериальный вагиноз (БВ). Среди вероятных причин и/или способствующих развитию БВ факторов, наименее изученными являются факторы, связанные с этническими особенностями исследуемых популяций, образом жизни, географией и условиями региона проживания. При этом микробиота влагалища одной из первых подвержена изменениям в результате, например, изменения гормонального фона в разные периоды жизни женщины и, возможно, вследствие изменения гормонального статуса, обусловленного жизнедеятельностью в северных широтах.

Цель исследования – сравнительная оценка частоты случаев бактериального вагиноза у женщин различных возрастных групп, проживающих в разных климатических зонах.

Обследовано 640 женщин (18–84 лет), обратившихся за амбулаторной гинекологической помощью в специализированное подразделение одной из ЦРБ РБ, и 122 женщин (19–51 лет), обратившихся за специализированной помощью в Сургуте (ХМАО).

В качестве материала для лабораторных исследований в каждом случае использовали отделяемое со сводов влагалища и соскоб из цервикального канала, которые исследовали микроскопически после окраски метиленовой синью (Мавзютов А.Р. с соавт., 2002). Полученные данные дифференцировали в соответствии с лабораторными критериями, предложенными Кира Е.Ф. (1995), на «нормоценоз», «неспецифический вагинит», «специфический вагинит» и «бактериальный вагиноз». Микропрепараты пациенток с бактериальным вагинозом дополнительно дифференцировали по степеням в соответствии с критериями, предложенными Мавзютовым А.Р. с соавт. (1998).

Среди обратившихся женщин в возрасте 18–25 лет (ХМАО) 26 (21,3%) человек составили 1 группу – ранний репродуктивный период, 57 (46,7%) (26–50 лет) – 2 группу – активный репродуктивный период, 39 (32%) человек (41–85 лет) – 3 группу (поздний репродуктивный период). В первой группе БВ был подтвержден клинико-лабораторно в 3 (11,5%) случаях, во второй группе – в 21 (44,7%), в третьей группе – в 12 (30,8%). У женщин раннего репродуктивного возраста в 2 случаях (66,7%) имел место дисбиоз влагалища 2 ст. (субкомпенсированный) и в 1 (33,3%) – дисбиоз влагалища 3 (декомпенсированный). У женщин активного репродуктивного возраста субкомпенсированный и декомпенсированный БВ были диагностированы в 11 (52,3%) и 10 (47,6%) случаях, соответственно. У женщин позднего репродуктивного возраста – субкомпенсированный БВ в 4 (33,3%) случаях, декомпенсированный БВ в 8 (66,7%) случаях.

Среди жительниц центральной полосы (РБ) женщины в возрасте 18–25 лет составили 120 (18,8%) человек (1 группа – ранний репродуктивный период), в возрасте 26–50 лет – 265 (41,4%) человек (2-я группа – активный репродуктивный период), в возрасте 41–85 лет – 255 (39,8%) человек (3-я группа – поздний репродуктивный период). В первой группе БВ был подтвержден клинико-лабораторно в 45 (37,5%) случаях, во второй группе – в 35 (13,2%), в третьей группе – в 20 (7,8%). У женщин раннего репродуктивного возраста в 15 случаях (33,3%) имел место дисбиоз влагалища 2 ст. (субкомпенсированный) и в 30 (66,7%) – дисбиоз влагалища 3 ст. (декомпенсированный). У женщин активного репродуктивного возраста субкомпенсированный и некомпенсированный БВ были диагностированы в 20 (57,1%) и 15 (42,9%) случаях, соответственно. У женщин позднего репродуктивного возраста – субкомпенсированный БВ в 5 (25%) случаях, декомпенсированный БВ в 15 (75%) случаях.

Среди жительниц ХМАО, обратившихся за гинекологической помощью преобладали женщины в возрасте 26–50 лет. У них БВ был диагностирован в 3,9 раза чаще, чем в первой группе и в 1,4 раза чаще, чем в третьей группе. Среди жительниц РБ, обратившихся за гинекологической помощью, преобладали женщины в возрасте 18–25 лет, у них БВ был диагностирован в 2,84 раза чаще, чем во второй группе и в 4,8 раза чаще, чем в третьей группе. БВ у женщин раннего репродуктивного возраста (18–25 лет) был диагностирован в РБ в 3,2 раза чаще, чем в ХМАО, тогда как у женщин активного репродуктивного возраста (26–40 лет) в ХМАО БВ диагностирован 3,4 раза чаще, чем в РБ. Женщины позднего репродуктивного возраста (41–85 лет), проживающие в ХМАО, были подвержены риску развития БВ в 4 раза чаще, чем их ровесницы – жительницы РБ.

А.И. Плязгин, О.В. Назаровская, Е.Н. Жукова, М.И. Климина, М.Р. Сапкина. **Клинико-лабораторная диагностика лихорадочных синдромов в многопрофильной детской больнице.** КГБУЗ Алтайская краевая клиническая больница, Барнаул; ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул

Высокая температурная реакция сопровождается многими вирусными, бактериальными инфекциями, аутовоспалительными синдромами, ревматическими и другими заболеваниями. Учитывая сходство клинических проявлений этих патологических состояний, педиатру нередко требуется до-

вольно быстро выносить предварительный диагноз по совокупности целого ряда лабораторных параметров.

В многопрофильной детской больнице оценить эффективность использования иммунохроматографического теста и латексной агглютинации в дифференциальной диагностике лихорадочных синдромов.

Были обследованы дети, находившиеся на лечении в Алтайской краевой клинической детской больнице. У детей с фебрильными заболеваниями в сыворотке крови одновременно проводили качественное и полуколичественное определение С-реактивного белка, ревматоидного фактора и антистрептолизина-О в реакции агглютинации латекса (наборы реагентов ЗАО «ЭКОлаб»), прокальцитонина (иммунохроматографический тест, BRAHMS PCT-Q).

Частота выявления положительных реакций: С-реактивный белок – 87,5%, антистрептолизин-О – 43,8%, ревматоидный фактор – 1,1%.

Из 14 подразделений детской больницы наибольший процент выявления положительных результатов отмечался в пяти отделениях: кардиоревматологии, гастроэнтерологии, реанимации, патологии новорожденных и поликлиники. Для уточнения диагноза (системная бактериальная инфекция/сепсис) и оценки тяжести состояния больного ребенка дополнительно проводилось определение концентрации прокальцитонина. Повышение концентрации прокальцитонина более 0,5 нг/л составило 73,8%.

Иммунохроматографический тест и тест латексной агглютинации обладают высокой чувствительностью, имеют достоинства в скорости и простоте постановки. Предлагаемый комплекс лабораторных исследований эффективен при скрининге и дифференциальной диагностике лихорадочных синдромов у детей.

А.Г. Саватеева, Г.А. Семиколонова, Т.Д. Гамретова, Г.Ю. Назорная, С.Ю. Тюкавкина. **Микробиологические аспекты вульво-вагинального кандидоза.** Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Цель исследования – изучение этиологической структуры вульво-вагинального кандидоза и оценка чувствительности кандид и бактерий-ассоциантов к антимикробным препаратам.

За период 2012–2014 гг. проведены микробиологические исследования вагинального отделяемого, взятого у 350 женщин с поражениями полового тракта. Нарушение биоценоза влагалища выявлены у 262 женщин. Идентификацию и дифференциацию грибов р. *Candida* проводили, используя хромогенную среду (HiCrome Candida Agar), тест на филаментацию и по способности ассимилировать углерод из углеводов (тест система AUXACOLOR-2). Чувствительность кандид к антимикробным препаратам определяли диско-диффузионным методом (Гексадиски Antimycos 01) и с помощью системы «Fungitest». Изоляты бактерий дифференцировали, используя тест-системы (НПО «Диагностические системы», НПО «Аллерген»), определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом соответственно МУК 4.2.1890–04.

В диагностическом количестве кандиды обнаружены у 89 обследуемых женщин, при этом в этиологической структуре вагиноза доминировали 2-х и 3-х компонентные микробные ассоциации. У 44% из 89 обследуемых кандиды обнаружены в монокультуре (*C. albicans* – 32 штамма, *C. glabrata* – 3 штамма, *C. tropicalis* – 2 штамма, *C. krusei* и *C. parapsilosis* по 1 штамму). Двух и 3-х компонентные ассоциации, в состав которых входили кандиды, выявлены у 47% больных и у 8 женщин диагностированы 4-х компонентные микст-инфекции. В микробных ассоциациях преобладали *C. albicans* (31 штамм) и *C. glabrata* (15 штаммов). Наивысшая экологическая связь у кандид наблюдалась с *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, синергические взаимоотношения отмечены с коринебактериями и в 2-х случаях с *E. coli*. Все изоляты кандид были чувствительны к амфотерицину, нистатину, другим полиеновым препаратам и в меньшей степени к азолам, штаммы *C. glabrata*, *C. krusei* и до 15% *C.*

albicans проявляли устойчивость к флуконазолу. Среди стафилококковых изолятов выявлены MRSE.

Показана значимость различных видов кандид и их ассоциаций с грамположительными бактериями (*E. faecalis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Corynebacterium*) в этиологической структуре вульво-вагиноза, выявлены MRSE и устойчивость наиболее значимых видов кандид к флуконазолу, что является обоснованием выбора препаратов для проведения эмпирической антимикробной терапии.

М.Р. Сапкина, Н.В. Шершнева, А.И. Пиянзин, Л.М. Навикова. **Диагностика микоплазмоза и уреоплазмоза методом полимеразной цепной реакции у детей школьного возраста с заболеваниями мочеполовой системы.** КГБУЗ Алтайская краевая клиническая больница, Барнаул; ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул

Цель – диагностика заболеваний мочеполовой системы у детей характеризуется большой трудностью. В настоящее время остаются малоизученными вопросы выявления микоплазм и уреоплазм у детей с различными поражениями мочеполовых органов. В связи с этим настоящее исследование направлено на изучение у детей особенностей лабораторной диагностики микоплазмоза и уреоплазмоза.

Было обследовано 578 детей школьного возраста (7–17 лет), находившихся на обследовании и лечении в Алтайской краевой клинической детской больнице. В биологических пробах (моча, соскоб, слюна) ДНК микроорганизмов определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Использовались следующие наборы: «АмплиСенс® *Mycoplasma hominis*-FL», «АмплиСенс® *Mycoplasma genitalium*-FL», «АмплиСенс® *U. Parvum/U. urealyticum*-FL».

Сопоставление по двум группам – младший (7–11 лет) и старший школьный возраст (12–17 лет) – выявило значительно больший процент положительных результатов у детей старшего школьного возраста 6,7–11,9%, в младшем школьном возрасте 0,2–2,3%. Высокий процент выявления исследуемых микроорганизмов у детей старшего школьного возраста связан с интенсивным половым развитием и значительным расширением социальных контактов. Можно отметить высокий процент обнаружения у детей в возрасте 12–17 лет следующих микроорганизмов: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* и низкий, *Mycoplasma genitalium*. Частота положительных результатов намного выше в тех случаях, когда на исследование берется соскоб.

Таким образом, полученные нами результаты указывают на необходимость более внимательного подхода в вопросах диагностики микоплазмоза и уреоплазмоза у детей старшего школьного возраста. Особенности выявления этих возбудителей необходимо учитывать при проведении профилактических и лечебных мероприятий в детских медицинских учреждениях.

М.Ю. Севостьянова. **Разработка системы ДНК-диагностики уреазопозитивных микробов мочевыделительного тракта.** Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И.П. Павлова; Научно-методический Центр Минздрава РФ по молекулярной медицине ПСПбГМУ им. И.П. Павлова

Цель и задачи исследования – бактериальные инфекции мочевыделительной системы прижизненно констатируются традиционными культуральными методами существенно реже патоморфологического исследования. Роль активации условно патогенных бактерий в мочевыделительной системе при подавлении местного иммунитета остается предметом исследований, как при развитии заболеваний почек, так и с позиций системного воспалительного ответа. Целью исследования является разработать чувствительный и специфичный метод ДНК-диагностики маркерных инфекционных агентов. Создать тест-систему для прогнозирования мочекаменной болезни.

Изучена встречаемость 2 маркерных видов бактерий у 38 больных с мочекаменной болезнью (МКБ), поскольку их уреазная активность приводит к сдвигу pH, способствующему кристаллизации оксалата кальция. Группа сравнения из 77 человек без уролитиаза была сопоставима по возрасту и гендерному составу. ДНК из мочи выделяли сорбентным методом. Генодиагностика микроорганизмов проводилась с помощью ПЦР ДНК, детекцию участков генов уреазы и hsp655 бактерий *Proteus mirabilis* и *Corynebacterium urealyticum* осуществляли методом геноспецифической ПЦР.

Патологическое кристаллообразование по интегральным биофизическим тестам (верификация криогеля мочи, диагностикум Литос-системой) достоверно верифицировало группу больных с МКБ от контрольной группы ($p < 0,001$), ПЦР-позитивность мочевых осадков по *P. mirabilis* и *C. urealyticum* у больных МКБ коррелировала между собой ($p < 0,01$). Частота встречаемости *P. mirabilis* у больных МКБ была существенно повышена по сравнению с группой контроля (21% и 2% соответственно, $p = 0,003$). Выявляемость *C. urealyticum* была также существенно повышена у больных (особенно старших возрастов) по сравнению с группой контроля (44% и 2% соответственно, $p < 0,001$). Показана связь ПЦР-позитивности по этим двум микробным видам и наличием признаков инфекции в мочевом синдроме: слизь, лейкоцитурия, протеинурия, общее число микробов в моче, ($p < 0,0001$). В отдельной группе из 15 больных МКБ в образцах мочи с применением обычной культуральной методики была выявлена лишь непатогенная микрофлора (*S. epidermidis* и др.), тогда как ПЦР-анализ показал наличие одного или 2 маркерных микробов в 50% образцов. Кроме того, при верификации уреазопозитивных микроорганизмов в мочевом тракте выявлены проявления системного воспалительного ответа (повышенный уровень СРБ – $p < 0,01$) и хронического повреждения почек (снижение скорости клубочковой фильтрации и протеинурия). Таким образом, геноспецифический ПЦР-метод выявления инфицирования мочевых путей уреазопозитивными микроорганизмами является новым важным элементом этиопатогенетической диагностики для уролитиаза, хронической болезни почек и, следовательно, вторичной эндотелиальной дисфункции и прогрессирования кардиоренального континуума.

В настоящий момент разработка диагностической системы продолжается.

А.В. Соколенко¹, А.Ю. Миронов². **Индикация некультивируемых форм холерных вибрионов по активности рибулозодифосфаткарбоксылазы в экспериментальных микроскомах.** ¹НИИ биологии Южного Федерального университета; ²ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского

Некультивируемые формы бактерий получили свое название из-за специфического свойства – обратимой утраты способности расти на типичных для данного вида питательных средах. Физиолого-биохимические механизмы феномена некультивируемости остаются малоизученными, но практическая значимость в случае с патогенными бактериями требует поиска новых методических подходов для индикации возбудителя в различных объектах. Предполагается, что в процессе обратимого перехода *Vibrio cholerae* O₁/O₁₃₉ в НС происходит перестройка метаболизма по энергетическому типу, в результате чего пластический и энергетический обмен микробной клетки может осуществляться в цикле Кальвина (пентозофосфатный цикл), ключевым ферментом которого является рибулозодифосфаткарбоксылаза (РДФК). Если предположение верно, то указанный фермент может стать мишенью для индикации НФ *V. cholerae*. Цель исследования – детекция активности ключевого фермента цикла Кальвина – РДФК – в культурах *V. cholerae* O₁/O₁₃₉ на разных этапах некультивируемой трансформации. Активность РДФК изучалась в вегетативных, переходных (старвирующих) и НФ, полученных в микроскомах разного состава. В связи с тем, что в переходных и некультивируемых пробах содержание белка существенно варьировало, а разведение проб средой суспен-

дирования могло исказить результаты, активность фермента выражали в имп/мин/мкг белка. В вегетативных популяциях обоих штаммов радиоактивность образцов не превышала значений фона, что указывает на отсутствие экспрессии РДФК. В переходной культуре O_1 серогруппы радиоактивность увеличилась в 2,1 раза, в аналогичных по возрасту пробах O_{139} серогруппы не обнаружено достоверных изменений. Через 25 сут в первой группе активность РДФК превышала исходный уровень в 3,2 раза, во второй – в 1,9 раз. В НФ обоих штаммов активность РДФК продолжала расти, достигнув максимальных значений в 30-сут популяциях. Изучалась активность РДФК в присутствии в среде микрокосмов витамина Е, каталазы, NH_4Cl , KNO_3 , янтарной кислоты. Возраст некультивируемых проб составил 7, 30, 60 сут. Проведенные исследования выявили экспрессию активности РДФК в процессе перехода в НС, что указывает на функционирование автотрофного метаболического пути – цикла Кальвина, причем активность фермента выявлена как у токсигенного штамма O_1 серогруппы, выделенного от человека, так и у водного атоксигенного O_{139} серогруппы. В процессе некультивируемой трансформации в переходных популяциях происходит экспрессия активности фермента, которая достигает своего максимума в 30-е сутки НФ. По мере старения культур активность РДФК снижается, что, вероятно, связано со снижением уровня внутриклеточного АТФ, так как известно, что уменьшение содержания аллостерических регуляторов, независимо от концентрации субстрата, приводит к замедлению фиксации CO_2 . РДФК может служить мишенью для индикации НФ *V. cholerae*.

Т.Н. Титова, А.Р. Мавзютов, Г.Е. Ефимов, А.А. Титова, Р.Ш. Хуснутдинов. Применение метода полимеразной цепной реакции в лабораторной диагностике зооантропонозной трихофитии. ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа

Дерматомикозы относятся к числу наиболее распространенных инфекций человека. Среди них, особенно для Республики Башкортостан, актуальна зооантропонозная трихофития, вызываемая двумя возбудителями – *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes*. Дифференциальная лабораторная диагностика заболевания становится все более серьезной проблемой, поскольку в последние годы существенно увеличилась частота атипичных форм, напоминающих себорею, микроспорию, экссудативный псориаз или розовый лишай. При подозрении на зооантропонозную трихофитию основным методом лабораторной диагностики, как и при других дерматофитиях, является обнаружение возбудителя в частичках кожи и волосах микроскопическим и культуральным методами, однако их невысокая чувствительность и специфичность не позволяет оценить истинные масштабы заболеваемости. Для формирования более объективных представлений о распространении инфекции необходимо широкое внедрение в практику здравоохранения высокочувствительных и специфичных молекулярно-генетических методов диагностики.

Целью нашего исследования была оценка эффективности метода ПЦР в лабораторной диагностике зооантропонозной трихофитии в сравнении с «классическими» методами. В период 2009–2012 гг. в обследование был включен 231 пациент с подозрением на трихофитию и 189 пациентов с другими кожными заболеваниями (псориазом и экземой); проводилось микроскопическое и культуральное исследование клинического материала (чешуйки кожи и волосы), а также детекция возбудителя методом полимеразной цепной реакции. Для сравнительного анализа методов детекции рассчитывались показатели специфичности, чувствительности, диагностической эффективности и прогностической ценности.

Результаты исследований выявили более высокие значения перечисленных показателей у метода ПЦР во всех группах обследуемых. Вместе с тем, достоверные различия между изучаемыми методами по анализируемым показателям наблюдались лишь в группе детей 3–14 лет, где чувствительность ПЦР составила 98,3% [96,9; 99,7], специфичность

– 98,0% [96,6; 99,4], диагностическая эффективность – 98,2% [96,8; 99,6]. При этом вероятность наличия заболевания при положительном результате ПЦР (прогностическая ценность положительного результата) у детей также была наибольшей (98,3%).

Полученные данные свидетельствуют о существенно лучших показателях метода ПЦР (особенно специфичности) в лабораторной диагностике зооантропонозной трихофитии по сравнению с микроскопическим и культуральным методами, и обосновывают необходимость широкого использования молекулярно-генетических исследований в диагностике дерматомикозов.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.; в рамках реализации мероприятия № 1.2.1. ГК № 11385 от 30.07.2009.

С.Ю. Тюкавкина, Г.Г. Харсеева, Н.А. Воронина, Я.Н. Фролова, А.Г. Саватеева. Изучение спектра и уровня цитокинов, синтезируемых клетками иммунной системы под влиянием Bordetella pertussis. ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону

Учитывая неуклонный рост интенсивности эпидемического процесса и показателей заболеваемости коклюшем с конца 90-х годов XX века на фоне массовой вакцинации профилактикой этого заболевания, по-прежнему актуальна проблема расшифровки механизмов формирования противокклюшного иммунитета. Важным аспектом является изучение цитокинового профиля, индуцированного возбудителем заболевания – *Bordetella pertussis*.

Цель настоящей работы – изучение спектра и уровня цитокинов, синтезируемых клетками иммунной системы, в сыворотках крови детей при коклюшной инфекции в динамике заболевания.

Уровни наиболее важных цитокинов, обладающих выраженным провоспалительным и иммунорегуляторным действием (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, интерферона- α (ИФ- α)), регистрировали в сыворотках крови у детей в возрасте от 1 года до 12 лет, больных коклюшем, в конце 1-й, 2-й, 3-й и 4-й нед, используя иммунологические тест-системы на основе ИФА.

В результате исследований установлено достоверное снижение содержания ИФ- α в сыворотках больных детей ниже контрольного уровня на протяжении всего срока наблюдения (4 нед). В то же время наблюдалось увеличение уровней ИЛ-1, ИЛ-4 и ИЛ-6 на протяжении первых 2 нед. заболевания; в последующие дни показатели варьировали у различных пациентов (от резко угнетения синтеза вышеуказанных цитокинов до повышенных концентраций), что, по всей вероятности, обусловлено различной степенью тяжести инфекционного процесса и, как следствие, разной выраженностью постинфекционного иммунодефицита, формирующегося к концу 4-й нед болезни.

Таким образом, выявление уровней цитокинов в сыворотках больных коклюшем на 3–4-й нед от начала клинических проявлений позволяет прогнозировать тяжесть течения заболевания и формирование осложнений, в том числе иммунодефицитных состояний.

Я.Н. Фролова, А.М. Рябова, Г.В. Айдинов, А.Ю. Миронов, Г.Г. Харсеева, Н.А. Воронина. Чувствительность к антибактериальным препаратам возбудителя дифтерии в составе био пленки. ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону.

Недостаточная эффективность антибиотикотерапии при дифтерии может быть связана с расположением возбудителя внутри био пленки и его сродством к эпителиальной ткани макроорганизма. В связи с этим целью исследования явилось изучение способности возбудителя дифтерии к формированию био пленки как одного из механизмов персистенции в организме человека.

При изучении интенсивности образования экзополисахарида на пластике установлено, что диапазон колебаний ОП

био пленки штамма, выделенного от больного, и музейного штамма колебался в пределах от 0,06 до 0,133, тогда как на стекле был выше и составил 0,062–0,395. Возможно, повышенная степень колонизации дифтерийными микробами поверхности стекла связана с его адгезивными свойствами.

Определение чувствительности штаммов *C. diphtheriae* к антибиотикам (гентамицину, ванкомицину, цефазолину, цефотаксиму, цефтриаксону, бензилпенициллину) проводили методом серийных разведений в жидкой питательной среде. Установлено, что штамм *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665 обладал наиболее выраженной чувствительностью к цефазолину, цефакситиму и бензилпенициллину (МПК, соответственно, 0,5; 0,2; 0,2 мкг/мл). В то же время у биопленочной культуры этого же штамма чувствительность к цефакситиму и бензилпенициллину снижалась (МПК – 7,5; 5,2 мкг/мл). Штамм *C. diphtheriae gravis tox⁺*, выделенный от больного дифтерией, был наиболее чувствителен к гентамицину, цефазолину и бензилпенициллину (МПК 1,2; 0,9; 0,4 соответственно). У биопленочной культуры этого же штамма чувствительность к гентамицину и бензилпенициллину снижалась (МПК – 2,3; 4,3 мкг/мл).

Таким образом, данные характеристики патогенных бактерий делают их более конкурентоспособными в борьбе за сайты адгезии при образовании биопленок на эпителии верхних дыхательных путей, способствуя формированию бактерионосительства. Выявленные отличия по степени интенсивности образования биопленки циркулирующим в популяции и музейным штаммами *C. diphtheriae gravis tox⁺* и невысокая степень чувствительности к антибактериальным препаратам микроорганизмов связаны с их адаптационными возможностями при формировании биопленки.

Г.Г. Харсеева, А.В. Лабушкина, Н.А. Воронина, Э.Л. Алутина. **Клеточный и гуморальный поствакцинальный противодифтерийный иммунитет.** ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону.

Цель исследования – изучить некоторые механизмы формирования клеточного и гуморального иммунитета дифтерии у детей, привитых противодифтерийными препаратами.

Обследованы 30 практически здоровых детей (6–9 лет), привитых АКДС-вакциной и ревакцинированных АДС-М-анатоксином в соответствии с Национальным календарем прививок. Выделение мононуклеарных клеток (МНК) проводили фико-верографическим методом. На МНК определяли экспрессию TLR2, TLR4 с помощью FITC-меченых антител к TLR2 и TLR4. Анализ экспрессии проводили на многофункциональном ридере «Synergy TM 2». В качестве лигандов TLR использовали вакцинные препараты (АКДС, АДС-М, АД-М), циркулирующие штаммы *C. diphtheriae gravis tox⁺*, *C. diphtheriae mitis tox⁻*. Спонтанную и индуцированную продукцию цитокинов (ФНО α ИЛ-1, ИЛ-6) определяли в супернатантах культур клеток методом ИФА. Рассчитывали коэффициенты стимуляции (КС). За единицу принимали уровень спонтанной экспрессии TLR и продукции цитокинов. КС рассчитывали как отношение показателей стимулированной экспрессии TLR2, TLR4 и концентрации цитокинов в супернатантах МНК к спонтанной. Содержание антител к дифтерийному анатоксину (ДА) определяли с помощью РПГА (НПК «Микроанализ», Москва). Содержание антибактериальных (АБ) противодифтерийных антител (АТ) определяли методом ИФА.

При определении средних значений КС было установлено, что все использованные вакцины и штаммы микроорганизмов оказывали незначительный стимулирующий эффект на уровень экспрессии TLR2 и TLR4. Причем, достоверных отличий между различными препаратами вакцин и микробными штаммами установить не удалось как в отношении TLR2, так и TLR4. Кроме того, не было выявлено никаких отличий при рассмотрении КС между TLR2 и TLR4.

Определение функциональной активности TLR по величине КС продукции цитокинов в стимулированной культуре

МНК оказалось более информативным. Так, наиболее высокие показатели КС были обнаружены при использовании вакцинных препаратов. Максимальную стимуляцию синтеза ФНО α , ИЛ-1, ИЛ-6 вызывал ассоциированный препарат – АКДС-вакцина, низким стимулирующим воздействием на МНК обладали штаммы *C. diphtheriae gravis tox⁺* и *C. diphtheriae mitis tox⁻*. Причем, как при исследовании стимулирующего воздействия вакцин, так и микробных штаммов, коррелятивной связи между уровнем экспрессии TLR и продукцией цитокинов обнаружить не удалось. Однако при исследовании стимулирующего воздействия вакцин на МНК наблюдали достоверную ($p < 0,05$) коррелятивную связь между уровнем продукции ФНО α и ИЛ-1 ($R = 0,425-0,570$), ИЛ-6 ($R = 0,430-0,643$), а также ИЛ-1 и ИЛ-6 ($R = 0,736-0,838$).

При оценке гуморального звена специфического поствакцинального иммунитета обнаружили, что 96,7% обследованных детей имели противодифтерийные антитоксины в защитном титре. У всех обследованных выявляли противодифтерийные АБ АТ, уровень которых составил $26,4 \pm 1,8$ мкг/мл. Корреляционной связи между показателями клеточного (уровень экспрессии TLR2, TLR4, продукция цитокинов) и гуморального иммунитета (содержание специфических антибиотических и антибактериальных антител) обнаружено не было.

Таким образом, при характеристике поствакцинального клеточного противодифтерийного иммунитета информативным является определение функциональной активности TLR2,4 (продукция ФНО α , ИЛ-1, ИЛ-6), а не уровня их экспрессии на МНК привитых детей. Наиболее выраженный стимулирующий эффект на функциональную активность TLR2, 4 МНК детей, привитых АКДС- и АДС-М-препаратами, оказывала АКДС-вакцина. Вакцинация детей АКДС- и АДС-М-препаратами не способствует повышению уровня экспрессии и функциональной активности TLR2, 4 в отношении циркулирующих в популяции штаммов возбудителя дифтерии. Уровень содержания противодифтерийных АТ не зависел от экспрессии и функциональной активности TLR2,4 у детей, привитых АКДС- и АДС-М-препаратами.

О.С. Щербатая, Т.Д. Гасретова, Э.Л.Алутина, Г.Г. Харсеева. **Резистентность урокультур энтеробактерий к антибактериальным препаратам.** ГБУ РО Областной консультативно-диагностический центр, ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Целью исследования было изучение резистентности к антибактериальным препаратам (АБП) энтеробактерий, выделенных из мочи больных с инфекциями мочевыводящих путей (ИМП).

В течение года проведены бактериологические исследования мочи 3024 пациентов с инфекциями мочевыводящих путей. Видовую идентификацию выделенных изолятов и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам проводили на бактериологических анализаторах (Walk Away 40 и Phoenix 100).

Положительные результаты были получены у 1723 пациентов. Всего было выделено 17 видов микроорганизмов, при этом из мочи 1580 (92%) больных выделены монокультуры и у 143 (8%) обследуемых выявлены 2-х компонентные микстинфекции. Среди возбудителей ИМП преобладали грамотрицательные бактерии. Энтеробактерии составили 57% от всех выделенных изолятов, из них *E. coli* – 27%, *E. cloacae* – 11%, *K. pneumoniae* – 10%, *P. mirabilis* – 9%. НГОБ (*P. aeruginosa* и *A. baumannii*) составили в этиологической структуре ИМП 14%.

Среди изолятов *E. coli* выявлены резистентные к АБП: ампициллину – 91,65% штаммов, гентамицину – 62,4%, амоксициллину/клавуланату – 60,5%, ципрофлоксацину – 15,3%. Показатель устойчивости (30,2%–47%) обнаружен у изолятов *E. coli* к цефалоспорином (цефтазидиму, цефтриаксону и цефепиму). В то же время все тестируемые штаммы сохраняли чувствительность к амикацину, имипенему и меропенему.

Высокие показатели резистентности к различным АБП характеризовали и выделенные штаммы *E. cloacae*. Резистентностью к цефтазидиму обладали 50% изолятов, цефтазидиму – 43,1%, цефоперазону – 56,8%, цефепиму – 32,3%, гентамицину – 69,4%, ципрофлоксацину – 36,9% и амикацину – 15,0%. Все выделенные штаммы *E. cloacae* были чувствительны к карбапенемам.

Среди штаммов *K. pneumoniae* частота резистентности составила к цефоперазону – 84,5%, цефотаксиму – 66,3%, цефтазидиму – 59,9%, цефепиму – 38,45%, гентамицину – 73,3%, ципрофлоксацину – 38%, амикацину – 32%, при сохранении у них чувствительности к карбапенемам.

Показатели резистентности к АБП у изолятов *P. mirabilis* были ниже, к ампициллину – 55,7%, цефтазидиму – 16,5%, цефтриаксону – 12,3% и не обнаружено резистентных штам-

мов к цефепиму, амикацину, ципрофлоксацину, имипенему и меропенему.

Следует также отметить, что среди множественно-резистентных к АБП штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* не было выявлено ни одного устойчивого к меропенему и имипенему.

Высокие показатели устойчивости к цефалоспорином у *E. coli* (30,2–47%), *E. cloacae* (32,3–56,8%), *K. pneumoniae* (38,45–84,5%), *P. mirabilis* (12,3–16,5%) свидетельствуют о широком распространении БЛРС штаммов энтеробактерий и их значимости при инфекциях мочевыводящих путей. Препаратами выбора для проведения антибактериальной терапии при ИМП, вызванных энтеробактериями являются карбапенемы, так как у всех выделенных штаммов (857) сохранена чувствительность к этим препаратам.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ И ПРАКТИКА МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА

Б.Б. Дзантиев. Мультиплексные методы анализа в клинической диагностике. Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

В современной клинико-диагностической практике все чаще возникает необходимость экспрессного и одновременного определения содержания большого числа соединений – как в стационарных клинических лабораториях, так и при проведении анализа по месту лечения (point of care диагностика). В докладе представлены сведения о современных разработках систем мультиплексного анализа, включая различные типы автоматических анализаторов, микрочиповые технологии, мембранные тест-системы и др. Анализируются возможности применения иммунохимического распознавания в мультипараметрической медицинской диагностике, способы экспрессной (5–15 мин) диагностики. Рассматриваются варианты приборного обеспечения, позволяющие проводить одновременное автоматическое определение большого числа соединений, приемы, направленные на повышение информативности мультиплексного анализа и снижение расхода реагентов. Обсуждаются возможности прямой детекции формирования иммунных комплексов в гомогенных аналитических системах, методические решения, позволяющие снизить пределы обнаружения иммунохимических тест-систем, в том числе переход к новым нанодисперсным маркерам, реализация различных вариантов усиления сигнала в ходе анализа. Представлены новые подходы к автономной реализации мультиплексного анализа, в том числе во внелабораторных условиях. Отдельное внимание уделяется способам обработки результатов мультиплексного анализа для принятия диагностических решений. Дается характеристика степени внедрения новых разработок в практику, сравнительная оценка преимуществ и ограничений различных подходов, предлагаемых для клинической диагностики.

C.P. Бундер (Steven R. Binder). Автоматизированный мультиплексный анализ для серологической диагностики инфекционных болезней. Bio-Rad Laboratories, США

Мультиплексное исследование отличается от мультианалитного исследования – при истинном мультиплексном исследовании осуществляется измерение многих аналитов, используя всего одну пробу, в одном месте и применяя одну технологию для их обнаружения. В течение многих лет на основе хроматографического разделения диагностические лаборатории получали мультиплексные результаты при исследовании аминокислот, противосудорожных лекарств, аномальных гемоглобинов и т. п. За время коммерческого использования зондовых технологий в течение последних пятнадцати лет концепция мультиплексных технологий была многосторонне изучена, и в настоящее время они ис-

пользуются для рутинного анализа белков, ДНК, РНК. Масс-спектрометрия и секвенирование сегодня являются наиболее продвинутой технологией детекции, лежащими в основе мультиплексного анализа высокого уровня.

В клинических условиях мультиплексное исследование белков может предоставить различные преимущества по сравнению с анализами, которые измеряют одномоментно всего один белок.

1. Множественные специфические белки могут служить индикаторами многих взаимосвязанных клинических ситуаций. Поскольку для индивидуальных белков могут быть установлены пороги решений для того, чтобы максимально повысить специфичность, эти методы дают меньше ложноположительных результатов, чем такие методы, как ИФА, который связан со слабо определенной реакцией клеток.

2. Контроль качества может улучшить качество результатов, проверяя более редкие клинические ситуации, которые могут влиять на диагностические результаты. Например, отсутствие IgA антител к ТТГ и DAG является полезным для исключения целиакии; если в пробе определяется IgA – анализ контроля качества для IgA может идентифицировать пациентов, у которых не вырабатывается этот изотип.

3. Тесты, которые обычно назначают вместе как часть программы скрининга, удобно назначить как один тест. При серологическом скрининге на токсоплазмоз, краснуху и цитомегаловирус (ToRC) использование общих калибраторов, контрольных материалов и проб малого объема позволяет сократить расходы, а также сделает исследование более удобным для лаборатории.

Наша группа разработала многие уникальные методы для исследования серологии инфекционных болезней, используя мультиплексную детекцию антител. Наш метод для определения IgG при сифилисе, благодаря его высокой специфичности в сочетании с блестящей чувствительностью, принят многими интенсивно работающими лабораториями. Опубликованные результаты исследований указывают на способность метода выявить пациентов с сифилисом в анамнезе даже при отрицательных результатах таких референтных методов, как RPR и TPRA.

Недавно мы разработали уникальный метод для скрининга ВИЧ, в котором объединены обнаружение в одной пробе антигена р24 со многими важными антителами анти-ВИЧ. При этом подходе осуществляется идентификация инфекций ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также выявление пациентов с активной инфекцией в прошлом.

Новый проект посвящен обнаружению антител к *Borrelia*. В настоящее время нет методов с чувствительностью, достаточной для раннего выявления болезни, в сочетании со