

пациентов, микоплазмоз + кандидоз – у 1 (0,2%), микоплазмы и уреоплазмы одновременно – у 11 (2,5%).

**Выводы.** Молекулярно-биологический тест "Фемофлор" на основе ПЦР-РВ является чувствительным инструментом для исследования биотопа влагалища. Использование данного теста позволило установить, что 384 (88,5%) женщины имели те или иные нарушения биоценоза влагалища, что, возможно, является одной из ведущих причин урогенитальных инфекционно-воспалительных заболеваний. На основании полученных данных можно говорить о том, что применение углубленных методов диагностики, инновационных лабораторных технологий, а именно ПЦР-РВ, позволяет в короткие сроки, объективно, точно оценить систему биоценоза влагалища путем учета биоты изучаемого эпитопа в целом. Использование теста "Фемофлор" дает возможность выбрать правильную терапию и контролировать ее проведение, определять критерии излеченности и прогноз заболевания.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.921.8-078:577.21.08

М. Н. Прадед<sup>1</sup>, С. Б. Яцышина<sup>1</sup>, Т. С. Селезнева<sup>1</sup>, С. В. Малинина<sup>2</sup>, Н. В. Бирюлева<sup>2</sup>, Т. Е. Любимова<sup>2</sup>, Н. С. Воробьева<sup>1</sup>

## ПЦР-ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ *B. PERTUSSIS*, *B. PARAPERTUSSIS* И *B. BRONCHISEPTICA*

<sup>1</sup>ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; <sup>2</sup>Филиал ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве в ВАО г. Москвы

*Эффективное лечение коклюша напрямую зависит от ранней диагностики. ПЦР является наиболее перспективным диагностическим методом. Разработан набор реагентов для ПЦР-диагностики коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза, проведена оценка аналитических характеристик. Чувствительность составила  $1 \times 10^3$  геномных эквивалентов (ГЭ) на 1 мл исследуемого материала с применением сорбционного метода экстракции ДНК и  $5 \times 10^2$  ГЭ/мл – преципитационного метода экстракции ДНК, специфичность в рамках исследованной панели штаммов и изолятов микроорганизмов – 100%. Диагностическая чувствительность анализа превысила чувствительность бактериологического исследования в 20 раз. Использование данного набора реагентов позволяет выявить и дифференцировать ДНК возбудителей коклюша, паракоклюша в течение одного рабочего дня уже в начале катарального периода заболевания и до 18-го дня от появления кашля, что в перспективе дает возможность своевременного применения специфической терапии. Исследован спектр возбудителей ОРЗ, вызвавших острый длительный кашель у детей, направлявшихся на бактериологическое исследование для подтверждения коклюшной инфекции.*

**Ключевые слова:** *B. pertussis*, ПЦР, коклюш, диагностика, ОРВИ

M.N. Praded, S.B. Yatsyshyna, T.S. Selezneva, S.V. Malinina, N.V. Birulyeva, T.Ye. Lubimova, N.S. Vorobyeva  
THE KIT OF REAGENTS FOR POLYMERASE CHAIN REACTION DIAGNOSTIC OF INFECTIONS  
CAUSED BY *B. PERTUSSIS*, *B. PARAPERTUSSIS* AND *B. BRONCHISEPTICA*

*The effective treatment of whooping cough directly depends of early diagnostics. The polymerase chain reaction diagnostic is the most perspective diagnostic technique. The kit of reagents is developed to diagnose whooping cough, parapertussis and bronchisepticosis with polymerase chain reaction. The evaluation of its analytical characteristics was carried out. The sensitivity made  $1 \times 10^3$  of genome equivalents per 1 ml of sample (the sorption technique of DNA extraction was applied) and  $5 \times 10^2$  of genome equivalents per 1 ml (the precipitation technique of DNA extraction was used). The specificity of test in the framework of analyzed panel of strains and isolates of microorganisms made 100%. The diagnostic sensitivity of analysis exceeded the sensitivity of bacteriological analysis up to 20 times. The application of this kit of reagents permits to detect and to differentiate DNA of agent of whooping cough, parapertussis during one working day already at the beginning of catarrhal period of disease and up to 18th day from the moment of cough appearance. In perspective, this process creates an opportunity to apply timely the specific therapy. The specter of agents of acute respiratory diseases bringing on acute prolonged cough in children who were directed to bacteriological analysis to confirm whooping cough is investigated.*

**Key words:** *B. Pertussis*, polymerase chain reaction diagnostic, hooping cough, acute respiratory viral disease

Для корреспонденции:

Прадед Мария Николаевна, мл. науч. сотр. науч. группы разработки новых методов диагностики ОРВИ  
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а  
Телефон: (495) 974-96-46  
E-mail: praded.mn@gmail.ru

## ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П. и др. // Журн. акуш. и жен. бол. – 2009; № 5. – С. 36–42.
2. Ворошилова Е.С., Гумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. // Уральск. мед. журн. – 2010. – № 3 (68). – С. 108–112.
3. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г. Фемофлор: Пособие для врачей. – М.: ДНК-Технология, 2010. – С. 3–37.
4. Макаров О.В., Алешкин В.А., Савченко Т.Н. Инфекции в акушерстве и гинекологии. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 87–228.
5. Burton J.P., Cadieux P., Reid G. // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – Vol. 69. – P. 97–101.
6. Leitich H., Bodner-Adler B., Brunbauer M. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2003. – Vol. 189. – P. 139–147.
7. Morelli L., Zonenenschain D., Piano M. et al. // J. Clin. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 38 (suppl. 6). – P. 107–110.

Поступила 27.02.12

**Введение.** Коклюш – острая антропонозная инфекционная болезнь с воздушно-капельным путем передачи, характеризующаяся длительным характерным спазматическим кашлем с явлениями интоксикации и поражением дыхательной, сердечно-сосудистой и нервной систем.

Вакцинация против коклюша входит в национальные

календари прививок большинства стран мира, однако цель, поставленная ВОЗ в Европе – сократить заболеваемость коклюшем к 2010 г. до уровня менее 1 случая на 100 тыс. населения, не достигнута еще ни в одной стране. Возможными причинами отсутствия снижения, а подчас и роста заболеваемости являются недостаточный охват прививками, несоблюдение календаря прививок, а также вероятное несоответствие по антигенным свойствам вакцинных и циркулирующих штаммов [1, 2, 9]. Наряду с этим даже после своевременной вакцинации, проведенной в полном объеме, напряженность иммунитета в отношении коклюша сохраняется менее 5 лет, и в эпидемический процесс вовлекаются привитые дети [7]. Еще одной важной причиной является неизвестность истинной распространенности возбудителя среди населения вследствие неэффективной диагностики. Можно предположить, что уровни регистрируемой заболеваемости не соответствуют фактическим, т. е. существенно занижены. Как отмечалось в Решении коллегии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 16.12.2011 "Актуальные вопросы эпиднадзора и профилактики дифтерии, столбняка, коклюша в условиях спорадической заболеваемости", свидетельством недостатков в клинической и лабораторной диагностике коклюшной инфекции является низкая частота установления источников инфекции, составившая в 2011 г. 11,6% случаев (из 691 заболевшего ребенка источник обнаружен только у 80); также имеет место крайне неравномерное распределение заболеваемости по территории страны, по-прежнему регистрируются летальные исходы от этого заболевания, преимущественно среди детей до года (от 1 до 4 случаев ежегодно).

Возбудитель коклюша *Bordetella pertussis* относится к роду *Bordetella*, включающему также вид *Bordetella parapertussis*, который делится на 2 подвида: *B. parapertussis<sub>h</sub>* (вызывает паракоклюш у людей) и *B. parapertussis<sub>ov</sub>* (обнаружен у овец) [10]. Принято считать, что паракоклюш протекает в более легкой форме и реже вызывает осложнения, однако установлено, что на долю паракоклюша приходится порядка 14% от числа болезней с клиническими проявлениями коклюша [4], т. е. он встречается чаще, чем предполагалось ранее, и этим фактом не стоит пренебрегать. При вакцинации против коклюша перекрестный иммунитет в отношении паракоклюша не формируется, особенно при использовании бесклеточной вакцины.

Род *Bordetella* включает также *Bordetella bronchiseptica*, возбудителя бронхисептикоза (бордетеллеза), который поражает главным образом домашних животных: собак (протекает в виде трахеобронхита), кошек, свиней, кроликов, крыс и др., особенно при скученном содержании [10; 13], а также людей, инфицирующихся при контакте с большими животными. Бронхосептикоз у людей протекает в виде ОРЗ с приступами сухого кашля, особенно перед сном [2, 3].

Строение геномов упомянутых возбудителей имеет очень большое сходство, все они имеют ген *ptx*, кодирующий коклюшный токсин. *B. pertussis* характеризуется наибольшей патогенностью для человека по причине высокой продукции коклюшного токсина – основного фактора вирулентности. *B. parapertussis* продуцирует активный коклюшный токсин, что подтверждается серологическими исследованиями материала, полученного от невакцинированных детей во время инфекции, вызванной *B. parapertussis* [8], но в меньшем по сравнению с *B. pertussis* количестве вследствие мутаций в области промотора гена *ptx*; кроме того, данный токсин является менее стабильным в стандартных условиях бактериологических исследований [6]. В области промотора гена *ptx* *B. bronchiseptica* имеется большое количество мутаций, в связи с чем, по-видимому, экспрессии коклюшного токсина не наблюдается, однако эта возможность полностью не исключена [6].

Обнаруживать и дифференцировать возбудители коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза необходимо с целью

своевременного и эффективного лечения, предупреждения осложнений, а также в связи с карантинными мероприятиями в отношении инфицированных лиц.

В соответствии с существующими нормативными документами в РФ каждого ребенка, кашляющего в течение 7 и более дней, направляют на двукратное бактериологическое обследование; с целью дифференциальной диагностики в клинически неясных случаях и при отсутствии бактериологического подтверждения дети и взрослые могут быть обследованы серологически. В США метод ПЦР рекомендуют в качестве основного и альтернативного бактериологическому исследованию, как наиболее чувствительный и специфичный [14]. В нашей стране эффективность бактериологического исследования не превышает 25% [3], причем окончательный результат возможно получить лишь на 5–7-е сутки. Серологическая диагностика эффективна начиная с третьей недели заболевания. В клинической практике недостаточность своевременной диагностики коклюша и паракоклюша приводит к тому, что большинство заболевших не может вовремя пройти курс патогенетической терапии, поскольку антибактериальная санация антибиотиками эффективна только в катаральный период, который не отличается по клинической картине от большинства ОРЗ и продолжается до 14 дней, в течение которых кашель постепенно нарастает, приобретая спазматический, навязчивый характер.

В связи с необходимостью ранней диагностики заболеваний, вызванных бактериями рода *Bordetella*, нашей задачей являлась разработка набора реагентов для одновременного выявления и идентификации ДНК *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* методом ПЦР в формате гибридационно-флюоресцентной детекции в режиме реального времени.

*Материалы и методы.* С целью оценки специфической активности набора реагентов использовали лиофилизированные штаммы и изоляты из коллекции ФБУН ЦНИИЭ (лаборатория специфической профилактики): *Bordetella pertussis* (31 штамм), *Bordetella parapertussis* (19 штаммов), выделенные в Москве в период с 1971 по 1980 г. и вакцинный штамм *Bordetella bronchiseptica* B-C2. Специфичность анализа изучали с использованием штаммов и изолятов различных бактерий: *Streptococcus* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* 27294 105, *Neisseria flava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *E. coli* ATCC, NCTC, 01577 27u7, *Enterococcus faecalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*; 124 образца мазков из носо- и ротоглотки от практически здоровых детей и взрослых, а также 584 образца мазков из носо- и ротоглотки от госпитализированных в инфекционные стационары детей, у которых ранее были выявлены ДНК или РНК различных возбудителей ОРЗ (респираторно-синцитиальный вирус, риновирусы, аденовирусы, бокавирус, метапневмовирус, коронавирусы, вирусы гриппа А и В, вирусы парагриппа 1–4 типов, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*).

Экстракцию ДНК возбудителей проводили с применением наборов "Рибо-преп" и "Рибо-сорб" (производства ФБУН ЦНИИЭ). Использовали амплификаторы с функцией флюоресцентной детекции в режиме "реального времени": "Rotor-Gene" 6000 (Corbett Research, Австралия), "iQ5" (Bio-Rad, США), ДТ-96 ("ДНК-Технология", Россия), "Mx3000P" (Stratagene, США).

Секвенирование фрагментов ПЦР с целью доказательства специфичности видовой идентификации *Bordetella* проводили методом "cycle sequence" с набором ABI PRISM Big Dye v.1.1 (Applied Biosystems, USA) согласно инструкции изготовителя с использованием капиллярного автоматического секвенатора ABI-3100 PRISM Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Анализ нуклеотидных последовательностей

выполнялся с использованием блока программ DNASTAR по алгоритму ClustalW.

Изучение диагностической значимости разработанного набора реагентов "АмплиСенс Bordetella multi-FL" проводили совместно с филиалом ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве в ВАО г. Москвы с использованием проб, поступавших в лабораторию капельных инфекций с декабря 2010 г. по ноябрь 2011 г., где они подвергались стандартному бактериологическому исследованию на коклюш. Методом ПЦР исследованы смывы с заднеглоточных тампонов, хранившиеся после выполнения посева при температуре 4 °С, от 478 детей в возрасте от 2 мес до 17 лет (медиана 6 лет) с различным анамнезом: ОРЗ, фарингит или трахеит (240 детей), подозрение на коклюш/паракоклюш (79 детей), обследование по контакту (24 ребенка), без уточнения диагноза (135 детей). Продолжительность кашля варьировала от 5 до 86 дней. Смывы с заднеглоточных тампонов дополнительно исследовали на наличие ДНК/РНК возбудителей ОРЗ методом ПЦР с наборами реагентов "Mycoplasma pneumoniae/Chlamydia pneumoniae-FL", "ОРВИ-скрин-FL", "Influenza virus A/B-FL", "Influenza virus A/H1-swine-FL" с применением комплекта реагентов "Реверта-L" для проведения реакции обратной транскрипции.

**Результаты и обсуждение.** При создании диагностического набора не использовались упоминаемые в литературе подходы и гены-мишени (промотор гена *ptx*, инсерционные элементы (ISE), ген *суаА*, кодирующий аденилатциклазный гемолизин и др.), поскольку все они не лишены определенных недостатков:

- область промотора гена *ptx* не имеет достаточных различий, позволяющих однозначно дифференцировать *B. parapertussis* от *B. pertussis*, и в то же время она полиморфна среди изолятов *B. pertussis*, что снижает чувствительность анализа [11];

- инсерционные элементы не позволяют однозначно идентифицировать виды *Bordetella*; так, IS 481 присутствует в геноме *B. pertussis* (в количестве ~238 копий ДНК на геном), в геноме *B. holmesii*, а также в ряде изолятов *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*; IS 1001 присутствует в геноме *B. parapertussis* (в количестве ~22 копии ДНК на геном) и *B. holmesii* [12]; кроме того, высокая копияность IS 481 может служить потенциальным источником ложно-положительных результатов анализа [15];

- ген *суаА*, кодирующий аденилатциклазный гемолизин, встречается также в геноме *B. parapertussis*.

Использован уникальный подход, позволивший разработать диагностический набор, лишенный вышеперечисленных недостатков и способный обнаруживать и дифференцировать ДНК возбудителей коклюша (*Bordetella pertussis*), паракоклюша (*Bordetella parapertussis*) и бронхисептикоза (*Bordetella bronchiseptica*). Задача решена путем выбора четырех мишеней, амплификация которых происходит в одной пробирке с помощью 8 пар праймеров и четырех флюоресцентных зондов в формате гибридационно-флюоресцентной детекции во время ПЦР. Одной из мишеней является область гена *ptxA*, кодирующего коклюшный токсин, которая имеется в геномах *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*, вторая мишень уникальна для *B. pertussis*, третья имеется только в геноме *B. bronchiseptica*. Уникальные локусы для обнаружения *B. pertussis* и *B. bronchiseptica* выбраны на основании результатов сравнения профилей экспрессии геномов *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* методом супрессионной вычитающей гибридизации [5]. Обнаружен ряд уникальных локусов в геномах *B. pertussis* и *B. bronchiseptica*, но не удалось обнаружить уникальных локусов в геноме *B. parapertussis*. Выбраны уникальные для *B. pertussis* и *B. bronchiseptica* и не имеющие гомологии с микроорганизмами других родов последовательности, кодирующие гипотетические белки.

В случае получения положительных результатов ампли-

фикации по области гена, кодирующего коклюшный токсин, и области, уникальной для генома *B. pertussis*, можно констатировать присутствие в образце ДНК *B. pertussis*, а при получении положительных результатов по области гена, кодирующего коклюшный токсин, и области, уникальной для генома *B. bronchiseptica* – возбудителя бронхисептикоза. При наличии положительного результата амплификации по области гена, кодирующего коклюшный токсин, и отрицательного по областям, специфичным для геномов *B. pertussis* и *B. bronchiseptica*, можно сделать вывод о том, что в образце присутствует ДНК *B. parapertussis*. Также в тесте используется внутренний контроль (четвертая мишень), который предназначен для учета эффективности всех этапов ПЦР-анализа. Начиная с этапа экстракции нуклеиновых кислот в качестве внутреннего и положительных контрольных образцов используются бактериофаги, содержащие рекомбинантную ДНК.

Оценка специфичности работы праймеров и зондов, применяемых в данном наборе реагентов, проводилась на штаммах и изолятах различных бактериальных возбудителей, а также на образцах мазков из носо- и ротоглотки от здоровых людей и геномной ДНК человека. Перекрестных реакций обнаружено не было.

Специфичность видовой идентификации внутри рода *Bordetella* доказана с применением метода секвенирования области промотора гена *ptx*, кодирующего коклюшный токсин, по которой возможно определение видов *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*. Секвенирован 51 образец из коллекции ФБУН ЦНИИЭ. Данные секвенирования полностью соответствовали результатам идентификации методом ПЦР.

Аналитическую чувствительность теста и воспроизводимость анализа изучали с использованием количественно охарактеризованных (с помощью оригинальной методики института на основе количественной ПЦР) рекомбинантных конструкций: положительных контрольных образцов в исходной концентрации  $1 \cdot 10^5$  копий/мл, которые разводили в буферном растворе (и пробах клинического материала от здоровых людей) до концентраций  $1 \cdot 10^4$ ,  $1 \cdot 10^3$  и  $5 \cdot 10^2$  копий ДНК (или геномных эквивалентов – ГЭ) в 1 мл. Каждое разведение тестировали в пяти повторах. Аналитическая чувствительность набора реагентов по каждой диагностической мишени составила  $5 \cdot 10^2$  ГЭ в 1 мл исследуемого материала и  $1 \cdot 10^3$  ГЭ в 1 мл исследуемого материала с использованием преципитационного и сорбционного методов экстракции ДНК соответственно. Успешно проведены приемочно-технические и клинические испытания набора реагентов.

Диагностическую эффективность набора реагентов изучали путем сравнения с результатами культурального исследования мазков из ротоглотки от детей, направлявшихся в течение года на бактериологическое исследование для диагностики коклюшной инфекции.

По результатам исследования участок гена *ptxA*, кодирующего коклюшный токсин, обнаружен в образцах от 80 (16,7%) из 478 обследованных детей. По результатам видовой идентификации ДНК *B. pertussis* присутствовала в 68 (14,2%) образцах, ДНК *B. parapertussis* – в 4 образцах; в 8 образцах видовой принадлежность возбудителя не могла быть уточнена по причине недостаточного содержания микроорганизма в клиническом материале. ДНК возбудителей коклюша у детей в возрасте от 2 мес до 16 лет (медиана 9 лет) обнаруживалась с 5-го и вплоть до 18-го дня от появления кашля. *B. pertussis* выделена от четырех из 478 обследованных детей, что составило 0,8%, причем результат ПЦР во всех случаях также был положительным.

Помимо возбудителей коклюша и паракоклюша исследовался спектр других возбудителей ОРЗ, способных вызывать сходную клиническую картину в катаральный период болезни и длительный кашель, с целью определения роли этих возбудителей и сочетанного инфицирования при данной патоло-

гии. Возбудители делятся на бактерии (*Chlamydomphila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*) и вирусы (вирусы гриппа, респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус, аденовирусы, риновирусы, вирусы парагриппа тип 1–4, коронавирусы, бокавирус).

Общий вклад возбудителей вирусной природы, обнаруженных в данной выборке, составил 28%. Из них у 67 (14%) детей обнаруживались риновирусы, у 32 (6,7%) – вирусы парагриппа (тип 1–4), причем превалировал вирус парагриппа тип 2 – 3,8%. Далее в порядке убывания частоты обнаруживались: респираторно-синцитиальный вирус – 3,1%, метапневмовирус – 1,3%, бокавирус – 1,5%, аденовирусы – 1,3%, коронавирусы – 0,4%, вирус гриппа А/Н1N1pdm2009 и гриппа В – по 0,2% каждый. В 5% случаев наблюдалось сочетанное инфицирование двумя или тремя возбудителями ОРЗ одновременно. ДНК *S. pneumoniae* обнаружена у 2,1% детей, ДНК *M. pneumoniae* – у 0,4%.

У 27 (5,6%) детей помимо возбудителей коклюша обнаруживались риновирусы, вирусы парагриппа и другие возбудители ОРЗ.

**Заключение.** Разработан набор реагентов для диагностики и эпидемиологического надзора за инфекциями, вызванными *V. pertussis*, *V. paraptussis* и *V. bronchiseptica*, методом ПЦР в формате гибридизационно-флюоресцентной детекции в режиме "реального времени". Результаты апробации набора реагентов свидетельствуют о его специфичности, высокой аналитической и диагностической чувствительности. ДНК возбудителей коклюша может быть обнаружена вплоть до 18-го дня от начала болезни. Проведение комплексной этиологической диагностики ОРЗ с использованием наборов реагентов для ПЦР-диагностики производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора позволило установить этиологию острого длительного кашля у 52,7% детей из обследованной группы; показан существенный вклад возбудителей вирусной природы и наличия сочетанного инфицирования. Внедрение подобных методов диагностики в практику с проведением исследований в более ранние сроки (на 1-й неделе катарального периода) позволит устанавливать этиологию заболевания в

большем числе случаев и сокращать продолжительность болезни за счет своевременного применения этиотропной терапии при гриппе, коклюшной, микоплазменной и хламидофильной инфекциях, доля которых в данной выборке составила как минимум 20,1%.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мазурова И. К., Борисова О. Ю., Комбарова С. Ю. // Молекул. мед. – 2008. – № 1. – С. 40–45.
2. Тимченко В. Н., Бабаченко И. В., Ценева Г. Я. // Эволюция коклюшной инфекции у детей. – СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2005. – С. 192.
3. Ценева Г. А., Курова Н. Н. // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2003. – Т. 4, № 5. – С. 329–341.
4. Cherry J. D., Seaton B. L. // Clin. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 54, N 4. – P. 534–537.
5. Cummings C. A., Brinig M. M., Lepp P. W. et al. // J. Bacteriol. – 2004. – Vol. 186, N 5. – P. 1484–1492.
6. Hausman S. Z., Cherry J. D., Heining U. et al. // Infect. and Immun. – 1996. – Vol. 64, N 10. – P. 4020–4026.
7. He Q., Viljanen M. K., Nikkari S. et al. // J. Infect. Dis. – 1994. – Vol. 170. – P. 873–877.
8. Heining U., Cherry J. D., Schmitt-Grohe S. et al. // Pediatr. Infect. Dis. J. – 1995. – Vol. 14, N 3. – P. 209–214.
9. Litt D. J., Neal S. E., Fry N. K. // J. Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 47, N 3. – P. 680–688.
10. Mattoo S., Cherry J. D. // Clin. Microbiol. Rev. – 2005. – Vol. 18, N 2. – P. 326–382.
11. Nigren M., Reizenstein E., Ronaghi M. et al. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol. 38, N 1. – P. 55–60.
12. Sloan L. M., Hopkins M. K., Mitchell P. S. et al. // J. Clin. Microbiol. – 2002. – Vol. 40. – P. 96–100.
13. Woolfrey B. F., Moody J. A. // Clin. Microbiol. Rev. – 1991. – Vol. 4, N 3. – P. 243–255.
14. [www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html](http://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html)
15. [www.cdph.ca.gov/programs/immunize/PertussisLaboratoryTesting.pdf](http://www.cdph.ca.gov/programs/immunize/PertussisLaboratoryTesting.pdf)

Поступила 16.03.12

## ОФИЦИАЛЬНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

### ИЗВЛЕЧЕНИЕ ИЗ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКОНА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ОТ 21 НОЯБРЯ 2011 г. № 323-ФЗ "ОБ ОСНОВАХ ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ГРАЖДАН В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ"

(Принят Государственной Думой 1 ноября 2011 г. Одобрен Советом Федерации 9 ноября 2011 г.)

#### Статья 48. Врачебная комиссия и консилиум врачей

1. Врачебная комиссия состоит из врачей и возглавляется руководителем медицинской организации или одним из его заместителей.

2. Врачебная комиссия создается в медицинской организации в целях совершенствования организации оказания медицинской помощи, принятия решений в наиболее сложных и конфликтных случаях по вопросам профилактики, диагностики, лечения и медицинской реабилитации, определения трудоспособности граждан и профессиональной пригодности некоторых категорий работников, осуществления оценки качества, обоснованности и эффективности лечебно-диагностических мероприятий, в том числе назначения лекарственных препаратов, обеспечения назначения и коррекции лечения в целях учета данных пациентов при обеспечении лекарственными препаратами, трансплантации

(пересадки) органов и тканей человека, медицинской реабилитации, а также принятия решения по иным медицинским вопросам. Решение врачебной комиссии оформляется протоколом и вносится в медицинскую документацию пациента.

3. Консилиум врачей – совещание нескольких врачей одной или нескольких специальностей, необходимое для установления состояния здоровья пациента, диагноза, определения прогноза и тактики медицинского обследования и лечения, целесообразности направления в специализированные отделения медицинской организации или другую медицинскую организацию и для решения иных вопросов в случаях, предусмотренных настоящим Федеральным законом.

#### Статья 49. Медицинские отходы

1. Медицинские отходы – все виды отходов, в том числе анатомические, патолого-анатомические, биохимические, микробиологические и физиологические, образующиеся в