

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.98:578.825.13]-06:616.98:579.862.1]-078

Ким М.А., Лабушкина А.В., Симованьян Э.Н., Харсеева Г.Г.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ВЕРИФИКАЦИИ СТРЕПТОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, 344022, г. Ростов-на-Дону, Россия

Проведен анализ значимости лабораторных методов верификации стрептококковой инфекции (бактериологическое исследование, определение антистрептолизина О (АСО) в парных сыворотках) у 148 больных инфекционным мононуклеозом 3–15 лет. Содержание АСО превышало норму у $41,0 \pm 4,8\%$ пациентов с сопутствующей стрептококковой инфекцией в остром периоде и у $49,5 \pm 4,9\%$ – в периоде реконвалесценции. Это отличалось ($t \geq 2$, $p \geq 95\%$) от аналогичного показателя у больных с отрицательным результатом обследования на стрептококковую инфекцию вне зависимости от периода заболевания ($9,3 \pm 2,8\%$). Превышение нормы АСО чаще ($t \geq 2$, $p \geq 95\%$) отмечали у больных с выделением *Streptococcus pyogenes* ($56,9 \pm 5,8\%$), чем у пациентов с *Streptococcus viridans* ($31,2 \pm 6,5\%$). Концентрация АСО у пациентов с сопутствующей стрептококковой инфекцией варьировала в пределах 200–1800 МЕ/мл. Минимальный уровень АСО ($C = 200$ МЕ/мл) определяли вне зависимости от вида выделенного стрептококка и периода заболевания. Высокие уровни АСО наблюдали исключительно у больных с выделением *Streptococcus pyogenes*. В сыворотке крови больного с сочетанной стрептококковой инфекцией (*Streptococcus pyogenes* + *Streptococcus viridans*) отмечено повышение уровня АСО в динамике заболевания от минимального ($C = 200$ МЕ/мл) до умеренно высокого ($200 < C < 400$ МЕ/мл). Показано, что для идентификации стрептококковой инфекции у больных инфекционным мононуклеозом следует учитывать анамнестические данные, а также проводить комплексное (бактериологическое и серологическое) обследование больных. Это необходимо для раннего выявления больных со стрептококковой инфекцией и снижения риска формирования стрептококкового бактерионосительства.

К л ю ч е в ы е с л о в а: инфекционный мононуклеоз; *Streptococcus pyogenes*; *Streptococcus viridans*; антистрептолизин О; дети.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60(11): 62–65.

Kim M.A., Labushkina A.V., Simovanian E.N., Kharseeva G.G.

THE DIAGNOSTIC APPROACHES TO VERIFICATION OF STREPTOCOCCUS INFECTION IN PATIENTS WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

The Rostovskii state medical university of Minzdrav of Russia, 344022 Rostov-on-Don, Russia

The analysis is applied concerning significance of laboratory techniques of verification of streptococcus infection (bacteriological analysis, detection of anti-streptolysin O in pair serums) in 148 patients with infectious mononucleosis aged from 3 to 15 years. The content of anti-streptolysin O exceeded standard in $41 \pm 4.8\%$ of patients with concomitant in acute period and in $49.5 \pm 4.9\%$ during period of re-convalescence. This data differed from analogous indicator in patients with negative result of examination on streptococcus infection independently of period of disease ($9.3 \pm 2.8\%$). The exceeding of standard of anti-streptolysin O was detected more frequently ($t \geq 2$, $P \geq 95\%$) in patients with isolation of *Streptococcus pyogenes* ($56.9 \pm 5.8\%$) than in patients with *Streptococcus viridans* ($31.2 \pm 6.5\%$). The concentration of anti-streptolysin O in patients with concomitant streptococcus infection varied within limits 200–1800 IE/ml. The minimal level of anti-streptolysin O ($C = 200$ IE/ml) was detected independently of type of isolated *Streptococcus* and period of disease. The high levels of anti-streptolysin O were observed exclusively in patients with isolation of *Streptococcus pyogenes*. In blood serum of patient with concomitant streptococcus infection (*Streptococcus pyogenes* + *Streptococcus viridans*) increasing of level of anti-streptolysin O was detected in dynamics of diseases from minimal ($C = 200$ IE/ml) to moderately high ($200 < C < 400$ IE/ml).

It is demonstrated that to identify streptococcus infection in patients with infectious mononucleosis the anamnesis data is to be considered. The complex bacteriological and serological examination of patients is to be implemented. This is necessary for early detection of patients with streptococcus infection and decreasing risk of formation of streptococcus carrier state.

Key words: infectious mononucleosis; *Streptococcus pyogenes*; *Streptococcus viridans*; anti-streptolysin O; children

Citation: Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (11): 62–65. (in Russ.)

Введение. Заболевания герпетической этиологии, в том числе и инфекционный мононуклеоз, в настоящее время широко распространены в нашей стране и за рубежом [1–4]. У больных инфекционным мононуклеозом часто развиваются клинические формы, сопровождающиеся активацией и/или присоединением бактериальной микрофлоры [5–8].

Наиболее частыми микробами-ассоциантами при инфекционном мононуклеозе у детей являются стрептококки, ко-

торые имеют высокий патогенный потенциал и могут стать причиной развития неблагоприятного течения заболевания [8–10]. Особую значимость имеет риск формирования стрептококкового бактерионосительства, обеспечивающего постоянную циркуляцию возбудителя среди населения. В связи с этим необходимо особое внимание уделять выявлению сопутствующей бактериальной и, в частности, стрептококковой инфекции у детей с инфекционным мононуклеозом.

Для решения этой проблемы целесообразным является поиск новых подходов к комплексному клинико-лабораторному обследованию больных, что позволит своевременно выявить стрептококковую инфекцию и дифференцированно подойти к составлению программы терапии. Это в свою очередь будет способствовать повышению эффективности лечения, сниже-

Для корреспонденции: Ким Марина Анатольевна, marina-kim.an@mail.ru

For correspondence: Kim Marina Anatolyevna, marinakim.an@mail.ru

нию частоты возможных осложнений и хронизации процесса, а также предотвращению формирования стрептококкового бактерионосительства.

Мы поставили перед собой задачу – разработать подходы к комплексному лабораторному обследованию больных инфекционным мононуклеозом для выявления сопутствующей стрептококковой инфекции.

Материалы и методы. Обследовано 148 детей в возрасте от 3 до 15 лет с диагнозом инфекционного мононуклеоза. Верификацию диагноза проводили на основании типичных клинических проявлений, определения маркеров активности герпетической инфекции с использованием иммуноферментного анализа (тест-системы ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), молекулярно-генетического исследования методом полимеразной цепной реакции (тест-системы «Вектор-ДНК-ампли-100 PCR», Новосибирск).

При проведении бактериологического исследования у больных инфекционным мононуклеозом проводили забор материала со слизистой ротоглотки для выделения стрептококковой инфекции в соответствии с приказом № 535 [11].

Серологическое обследование больных (определение содержания антистрептолизина О (АСО) в сыворотке крови) проводили двукратно: на 5–7-е и 14–17-е сутки заболевания с использованием набора реагентов НПФ «Абрис+», Санкт-Петербург. Для качественного определения содержания АСО в индивидуальные лунки тест-пластины помещали калибраторы и исследуемые образцы сыворотки крови в объеме 20 мкл, затем внутрь каждой лунки добавляли по 20 мкл СО латекса. Быстро перемешивали содержимое каплей исследуемого образца и СО латекса в каждой лунке индивидуальным шпателем до гомогенного состояния. Реакционную смесь перемешивали круговыми движениями со скоростью 80 об./мин в течение 2 мин. Процесс агглютинации регистрировали в течение 1 мин после окончания движения тест-пластины. При получении равномерно-гомогенной молочной суспензии концентрацию АСО считали < 200 МЕ/мл, при образовании мелких агрегатов – 200 МЕ/мл, четко видимых агрегатов – > 200 МЕ/мл. Полуколичественное определение АСО проводили с разведением исследуемых проб и буфера в разных соотношениях, получая соответствующее содержание АСО (в МЕ/мл) согласно таблице в инструкции по применению.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов Microsoft Office 2007 и Statistica 6.0 для Windows XP. Достоверность полученных данных оценивали при уровне значимости $t \geq 2$ ($p \geq 95\%$).

Результаты и обсуждение. При бактериологическом исследовании материала со слизистой ротоглотки больных инфекционным мононуклеозом (табл. 1) подтверждение стрептококковой инфекции получили у 105 (70,9%) больных, из них у 72 (48,6%) идентифицировали *Streptococcus pyogenes*, у 32 (21,6%) – *Streptococcus viridans*. Оба возбудителя стрептококковой инфекции (*Streptococcus pyogenes* + *Streptococcus*

viridans) одновременно были обнаружены только у одного ребенка.

При сравнительном анализе результатов серологического исследования выявили, что в остром периоде у больных с сопутствующей стрептококковой инфекцией, вызванной как *Streptococcus pyogenes*, так и *Streptococcus viridans*, содержание АСО превышало норму у $41,0 \pm 4,8\%$ пациентов, что достоверно ($t \geq 2$, $p \geq 95\%$) отличалось от аналогичного показателя у больных с отрицательным результатом обследования на стрептококковую инфекцию ($9,3 \pm 2,8\%$). При определении содержания АСО в период реконвалесценции были обнаружены подобные закономерности. Так, у больных с выделением стрептококков со слизистой ротоглотки чаще ($t \geq 2$, $p \geq 95\%$) наблюдали в сыворотке крови концентрацию АСО выше нормальных значений ($49,5 \pm 4,9\%$), чем у пациентов без бактериологического подтверждения стрептококковой инфекции ($9,3 \pm 2,8\%$ обследованных). При этом превышение нормы АСО чаще ($t \geq 2$, $p \geq 95\%$) отмечали у больных с выделением *Streptococcus pyogenes* ($56,9 \pm 5,8\%$), чем у пациентов с выделением *Streptococcus viridans* ($31,2 \pm 6,5\%$).

При определении концентрации АСО в сыворотке крови были выявлены некоторые особенности у больных инфекционным мононуклеозом с сопутствующей стрептококковой инфекцией (табл. 2). Концентрация АСО у них варьировала в пределах 200–1800 МЕ/мл. Минимальный уровень АСО ($C = 200$ МЕ/мл) регистрировали примерно с одинаковой частотой вне зависимости от вида выделенного стрептококка и периода заболевания. Высокие уровни АСО в остром периоде наблюдали исключительно у больных с выделением *Streptococcus pyogenes*. У $2,8 \pm 3,8\%$ пациентов отмечали умеренно высокий уровень АСО ($200 < C < 400$ МЕ/мл), у $9,7 \pm 3,5\%$ – высокий ($400 < C < 600$ МЕ/мл), у $1,4 \pm 1,4\%$ – гипервысокий ($C \geq 600$ МЕ/мл). При оценке результатов серологического обследования больных инфекционным мононуклеозом в период реконвалесценции было выявлено, что умеренно высокий ($200 < C < 400$ МЕ/мл) и высокий ($400 < C < 600$ МЕ/мл) уровни антител к стрептолизину О (у 7 ($9,7 \pm 3,5\%$) и у 9 ($12,5 \pm 3,9\%$) больных соответственно) определяли только при инфицировании *Streptococcus pyogenes*. Однако у пациента с выделением *Streptococcus viridans* была определена гипервысокая концентрация АСО ($C > 600$ МЕ/мл). В сыворотке крови больного с сочетанной стрептококковой инфекцией (*Streptococcus pyogenes* + *Streptococcus viridans*) отмечено повышение уровня АСО в динамике заболевания от минимального ($C = 200$ МЕ/мл) до умеренно высокого ($200 < C < 400$ МЕ/мл).

Анализ данных серологического обследования больных с учетом выделения возбудителей стрептококковой инфекции (*Streptococcus pyogenes* и/или *Streptococcus viridans*) выявил, что антитела к стрептолизину О определяли у больных как с положительными, так и с отрицательными результатами. Однако концентрация АСО в пределах 200 МЕ/мл встречалась достоверно чаще ($t > 2$, $p \geq 95\%$) у больных с подтвержденной

Таблица 1

Результаты бактериологического и серологического обследования больных инфекционным мононуклеозом на стрептококковую инфекцию

| Серологическое исследование | Количество больных с содержанием АСО в пределах нормы (< 200 МЕ/мл) | | Количество больных с содержанием АСО выше нормы (≥ 200 МЕ/мл) | |
|---|---|--------------------|---|--------------------|
| | острый период | реконвалесценция | острый период | реконвалесценция |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> (n = 72) | 40 (55,6 ± 5,9%)* | 31 (43,1 ± 5,9%)** | 32 (44,4 ± 5,9%) | 41 (56,9 ± 5,8%)** |
| <i>Streptococcus viridans</i> (n = 32) | 22 (68,8 ± 8,3%) | 22 (68,8 ± 8,3%)** | 10 (31,2 ± 6,5%) | 10 (31,2 ± 6,5%)** |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> + <i>Streptococcus viridans</i> (n = 1) | - | - | 1 | 1 |
| Всего положительных результатов (n = 105) | 62 (59,0 ± 4,8%)* | 53 (50,5 ± 4,9%)* | 43 (41,0 ± 4,8%)* | 52 (49,5 ± 4,9%)* |
| Всего отрицательных результатов (n = 43) | 39 (90,7 ± 4,5%)* | 39 (90,7 ± 4,5%)* | 4 (9,3 ± 2,8%)* | 4 (9,3 ± 2,8%)* |

Примечание. * – достоверные различия $t > 2$ ($p \geq 95\%$) между количеством больных с положительными и отрицательными результатами бактериологического исследования на стрептококковую инфекцию; ** – достоверные различия $t \geq 2$ ($p \geq 95\%$) между количеством больных с выделением *S. pyogenes* и *S. viridans*.

Уровень АСО в сыворотке крови больных инфекционным мононуклеозом в зависимости от выделения возбудителя стрептококковой инфекции

| Бактериологическое исследование | Количество больных с различным уровнем АСО, n (%) | | | | | | | |
|--|---|------------------|--|------------------|-------------------------------|------------------|------------------------------|------------------|
| | минимальный (С = 200 МЕ/мл) | | умеренно высокий (200 < С < 400 МЕ/мл) | | высокий (400 < С < 600 МЕ/мл) | | гипервысокий (С > 600 МЕ/мл) | |
| | острый период | реконвалесценция | острый период | реконвалесценция | острый период | реконвалесценция | острый период | реконвалесценция |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> (n = 72) | 22 (30,6 ± 5,5) | 25 (34,7 ± 5,6) | 2 (2,8 ± 3,8) | 7 (9,7 ± 3,5) | 7 (9,7 ± 3,5) | 9 (12,5 ± 3,9) | 1 (1,4 ± 1,4) | - |
| <i>Streptococcus viridans</i> (n = 32) | 10 (31,3 ± 8,3) | 9 (28,1 ± 8,1) | - | - | - | - | - | 1 (3,1 ± 3,1) |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> + <i>Streptococcus viridans</i> (n = 1) | 1 | - | - | 1 | - | - | - | - |
| Всего положительных результатов (n = 105) | 33 (31,4 ± 4,6)* | 34 (32,4 ± 4,6) | 2 (1,9 ± 1,3) | 8 (7,6 ± 2,6) | 7 (6,7 ± 2,5) | 9 (8,6 ± 2,7) | 1 (1,0 ± 1,0) | 1 (1,0 ± 1,0) |
| Всего отрицательных результатов (n = 43) | 1 (2,3 ± 2,3)* | - | 2 (4,7 ± 3,2) | 2 (4,7 ± 3,2) | - | 2 (4,7 ± 3,2) | 1 (2,3 ± 2,3) | - |

Примечание. С – концентрация АСО в сыворотке крови; * – достоверные различия $t > 2$ ($p \geq 95\%$) между количеством больных с положительными и отрицательными результатами бактериологического исследования на стрептококковую инфекцию.

стрептококковой инфекцией (31,4 ± 4,6%), чем у больных с отрицательным результатом бактериологического обследования (2,3 ± 2,3%).

Проведенное исследование отражает полиморфизм состояния иммунологической реактивности организма детей к патологическому процессу, который зависит от множества предрасполагающих факторов. У больных инфекционным мононуклеозом с бактериологическим подтверждением стрептококковой инфекции, но поздней выработкой АСО (в периоде реконвалесценции) отмечали хроническое рецидивирующее течение герпетической инфекции в анамнезе. Данный факт может служить объяснением задержки иммунного ответа на бактериальную, в частности стрептококковую, инфекцию. Отрицательный результат бактериологического исследования на стрептококковую инфекцию не исключает такую, так как может стать следствием применения антибактериальных препаратов широкого спектра действия до момента госпитализации в стационар (из анамнеза больных). Обнаружение в остром периоде высоких концентраций антистрептолизина О в сыворотке крови больного подтверждает данное предположение. Наиболее высокая концентрация антител к стрептолизину О в остром периоде у пациентов с выделением *Streptococcus pyogenes*, скорее всего, связана с выраженным патогенным потенциалом возбудителя, тем более что тяжелые формы инфекционного мононуклеоза сопровождаются именно этим копатогеном [12].

Несвоевременная диагностика стрептококковой инфекции у детей с инфекционным мононуклеозом повышает риск возникновения осложнений, может стать причиной формирования бактерионосительства, так как ребенок не получит адекватной антимикробной терапии, необходимой для эрадикации возбудителя. Это в свою очередь приведет к рецидивам стрептококковой инфекции на фоне иммуносупрессии, неизбежно возникающей под влиянием вирусов герпетической группы. Кроме того, обеспечивая выделение возбудителя во внешнюю среду, носители стрептококков становятся эпидемиологически значимой категорией источников инфекции. Изложенное выше объясняет важность своевременной этиологической диагностики данной инфекции.

Заключение. Для идентификации стрептококковой инфекции у больных инфекционным мононуклеозом в комплексе с бактериологическим методом исследования целесообразно

определять содержание антистрептолизина О в парных сыворотках крови больных. При этом следует учитывать анамнестические данные (оппортунистические инфекции с рецидивирующим течением, прием антибактериальных препаратов до взятия биоматериала и др.).

Подобный подход в остром периоде заболевания необходим для раннего выявления больных со стрептококковой инфекцией с целью своевременного назначения адекватной антибактериальной терапии. В периоде реконвалесценции данные серологического исследования помогут снизить риск формирования стрептококкового бактерионосительства, учитывая возможность ложноотрицательных результатов бактериологического обследования у больных, получавших антибактериальную терапию до госпитализации в стационар.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральное статистическое наблюдение – форма № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях за 2014 год по Ростовской области».
2. Шведова Н.М., Михайлова Е.В., Цека Ю.С., Чудакова Т.К. Инфекционный мононуклеоз у детей: клинко-лабораторное обоснование и экономическая эффективность применения иммунокорректоров. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2013; 9 (3): 512–7.
3. Шестакова И.В., Ющук Н.Д. Современные подходы к лечению Эпштейна–Барр вирусной инфекции у взрослых. *Лечащий врач*. 2011; 2: 98–103.
4. Elizabeth V., Denis M., Ian C., David McL., Carl C. and Mark V. *The epidemiology of infectious mononucleosis in Northern Scotland: a decreasing incidence and winter peak BMC Infectious Diseases*. 2014; 14: 151.
5. Stenfors L.-E., Raisanen S. The membranous tonsillitis during infectious mononucleosis is nevertheless of bacterial origin. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 1993; 26 (2): 149–55.
6. Stenfors L.-E., Bye H.-M., Raisanen S. Noticeable differences in bacterial defence on tonsillar surfaces between bacteria-induced and virus-induced acute tonsillitis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2003; 67 (10): 107582.
7. Raisanen S., Myklebust R., Bye H.-M., Stenfors L.-E. Bacterial penetration into tonsillar surface epithelium during infectious mononucleosis. *Journal of Laryngology and Otology*. 2000; 114 (11): 848–52.

8. Леженко Г.О., Усачова О.В., Силина Э.А., Пахольчук Т.М. Инфекционный мононуклеоз у детей: клинико-иммунологическая характеристика. *Актуальная инфектология*. 2013; 1 (1): 56–60.
9. Симованьян Э.Н., Харсеева Г.Г., Ким М.А. Влияние микробной флоры на течение Эпштейна–Барр вирусного мононуклеоза у детей. В сб.: *Материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням*. М.; 2014; 286–7.
10. Разгуляева А.В., Уханова О.П., Безроднова С.М. Современные представления об этиологии, патогенезе, клинике и лечении инфекционного мононуклеоза у детей. *Вестник Ставропольского государственного университета*. 2012; 78 (1): 222–7.
11. Приказ № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».
12. Миронов А.Ю., Харсеева Г.Г., Ключкина Т.В. *Основы клинической микробиологии и иммунологии: учебное пособие для медицинских вузов*. Ростов-на-Дону: РостГМУ; 2011.

Поступила 15.02.15

REFERENCES

1. Federal statistic control – form № 2 «Data on infection and parasitic diseases on 2014 year in Rostov region». (in Russian)
2. Shvedova N.M., Mihajlova E.V., Ceka Ju.S., Chudakova T.K. Infectious mononucleosis at children: clinic-laboratorial verification and economical efficacy immune correctors using. *Saratov scientifically-medical journal*. 2013; 9 (3): 512–7. (in Russian)
3. Shestakova I.V., Jushhuk N.D. Modern aspects of Epstein-Barr virus infection' treatment at adults. *Consulting physician*. 2011; 2: 98–103. (in Russian)
4. Elizabeth V., Denis M., Ian C., David McL., Carl C. and Mark V. *The epidemiology of infectious mononucleosis in Northern Scotland: a decreasing incidence and winter peak BMC Infectious Diseases*. 2014; 14: 151.
5. Stenfors L.-E., Raisanen S. The membranous tonsillitis during infectious mononucleosis is nevertheless of bacterial origin. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 1993; 26 (2): 149–55.
6. Stenfors L.-E., Bye H.-M., Raisanen S. Noticeable differences in bacterial defence on tonsillar surfaces between bacteria-induced and virus-induced acute tonsillitis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2003; 67 (10): 1075–82.
7. Raisanen S., Myklebust R., Bye H.-M., Stenfors L.-E. Bacterial penetration into tonsillar surface epithelium during infectious mononucleosis. *Journal of Laryngology and Otology*. 2000; 114 (11): 848–52.
8. Lezhenko G.O., Usachova O.V., Silina Je.A., Pahol'chuk T.M. Infectious mononucleosis at children: clinical-immunology characteristic. *Actual'naya infectologiya*. 2013; 1 (1): 56–60. (in Russian)
9. Simovanyan E.N., Kharseyeva G.G., Kim M.A. The influence of microbes' flora on Epstein–Barr virus mononucleosis state at children. In: *Conference proceedings VI Annual Russia-wide Congress on infectious diseases*. Moscow; 2014; 286–7. (in Russian)
10. Razguljaeva A.V., Uhanova O.P., Bezrodnova S.M. Up-to-date understandings about etiology, pathogenesis, clinic and treatment of infectious mononucleosis at children. *Vestnik Stavropol'skogo gosudarstvennogo unuversiteta*. 2012; 78 (1): 222–7. (in Russian)
11. Order № 535 «About unification of microbiological (bacteriological) methods of investigations, using in clinical-diagnostic laboratories of medical and preventive treatment institutions». (in Russian)
12. Mironov A.Ju., Kharseyeva G.G., Kljukina T.V. *The base of clinical microbiology and immunology: text edition for medical higher education institution*. Rostov-on-Don: RostSMU; 2011. (in Russian)

Received 15.02.15