

Таким образом, полученные результаты рекомендуется использовать в судебно-медицинской практике. При дифференциальной диагностике необходимо учитывать не только содержание гликогена в тканях, но и содержание лактата. Наступление смерти в результате получения черепно-мозговой травмы в условиях низких температур окружающей среды

более чем в половине случаев связано с общим переохлаждением организма.

Биохимический анализ тканей печени и скелетной мышцы может быть использован для дифференциальной диагностики непосредственной причины смерти пострадавших от черепно-мозговой травмы в условиях низких температур.

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.В. Алиева, Ю.В. Первушин. Современные представления о микробиоте человеческого организма. ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Ставрополь

Проблемы экологии живых организмов в настоящее время приобрели весьма актуальное значение. Если рассматривать макроорганизм и его микрофлору как единую экологическую систему, следует признать, что наблюдаемое нарастание удельного веса заболеваний, вызываемых так называемыми условно патогенными микроорганизмами, являющимися по существу представителями нормальной флоры, связано с нарушениями сложившегося в эволюции баланса между организмом и его микрофлорой, с одной стороны, и нарушением равновесия внутри бактериальных ассоциаций с другой. Исследование микробного населения организма человека представляет одну из старейших проблем микробиологии. Микробиота – это эволюционно сложившееся сообщество разнообразных микроорганизмов, населяющих открытые полости организма человека, определяющее биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие макроорганизма. Микробиота человека представляет собой симбиотическую систему, взаимодействующую на принципах комменсализма и мутуализма – высшей формы взаимовыгодных симбиотных взаимоотношений. Взаимно дополняя друг друга, макроорганизм и сопровождающие его бактерии образуют единую систему. При этом, человек представляет собой не только среду обитания, находясь в состоянии динамического равновесия с собственной микрофлорой, но и является частью данной системы. Это следует, прежде всего, из того, что микробиота генетически связана с макроорганизмом и способна оказывать влияние на все функции хозяина. Суммарный микробный геном в кишечнике человека – микробиом более чем в 100 раз превышает количество генов в геноме человека. Результаты расшифровки генома бактерий и человека показали, что организм последнего содержит нуклеотидные последовательности, характерные более чем для 200 бактериальных генов, а также для 500 видов ретровирусов, которые, очевидно, заимствованы у микроорганизмов в процессе филогенеза. Благодаря координированной работе эволюционно сложившихся систем регуляции симбиоза, осуществляется согласованное взаимодействие генов эукариотических клеток и геномов многочисленных симбиотических микроорганизмов. Процесс внутривидового информационного обмена бактериальных клеток между собой получил название «quorum sensing» (чувство кворума) и представляет специфический вариант регуляции экспрессии генов, т.е. механизм, посредством которого микроорганизмы способны осваивать окружающую их среду – человеческий организм. Взаимодействие друг с другом и с клетками хозяина происходит через низкомолекулярные сигнальные молекулы, называемые аутоиндукторами. Благодаря аутоиндукторам бактерии обмениваются информацией и координируют свою деятельность. Общая численность бактериальных клеток у взрослого человека достигает 10^{14} , а при некоторых патологических состояниях доходит до 10^{17} , что значительно больше числа всех клеток, из которых состоят органы и ткани макроорганизма. Количество микроорганизмов присутствующих в толстой кишке составляет 400 млрд

микробных клеток на 1 г содержимого, то есть у взрослого человека масса бактерий приблизительно достигает 3 кг. Соотношение разнообразных популяций микробов отдельных органов и систем, поддерживающее биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие, необходимое для сохранения здоровья человека, называют нормофлорой. Около 20% ее представителей обитает в полости рта, 40% – в гастродуоденальном и дистальном отделах желудочно-кишечного тракта, 18–20% приходится на кожные покровы, 15–16% – на ротоглотку и 2–4% – на урогенитальный тракт мужчин (у женщин – до 10%). Все микроорганизмы микробиоты можно подразделить на облигатные (аутохтонные, индигенные, резидентные), факультативные (добавочная или сопутствующая микрофлора) и транзиторные – случайные (она же аллохтонная или остаточная микрофлора). В сформировавшемся микробиоценозе 90% составляют облигатные представители нормофлоры, менее 9,5% – факультативные и до 0,5% – транзиторные микроорганизмы. Основные функции нормальной микрофлоры: колонизационная резистентность; детоксикационная; иммуномодулирующая. К факторам, обеспечивающим колонизационную резистентность и поддерживающим стабильность индигенной микрофлоры относятся: «экранирование» слизистой от проникновения условнопатогенных микроорганизмов за счет высокой адгезивной активности облигатных бактерий. Симбиотная микрофлора осуществляет детоксикацию экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов, утилизируя непереваренные пищевые вещества и инактивируя канцерогенные соединения. Иммуномодулирующая функция связана со стимуляцией местного иммунитета, активизация синтеза секреторного IgA. Опыты на гнотобионтах показали, что антигенная стимуляция представителями облигатной микрофлоры необходима как для формирования лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми, так и полноценного функционирования иммунной системы организма в целом. В свою очередь иммунная система человека оказывает регулирующее действие на состав аутохтонной флоры.

Н.С. Багирова. Диагностика инфекций кровотока: значение критериев оценки клинической значимости положительной гемокультуры. ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Диагностика инфекций кровотока (ИК) является наиболее важной функцией лаборатории клинической микробиологии. Поздняя и/или некорректная диагностика связана с несвоевременным и неадекватным эмпирическим лечением антибиотиками, что в свою очередь сопровождается высокой летальностью. Эпизоды псевдобактериемии нередко ошибочно принимают за истинную бактериемию. Загрязнение (контаминация) образца крови для посева нередко приводит к ложноположительным результатам и к неадекватной терапии тяжелейших инфекционных осложнений. Вследствие контаминации в исследуемый образец крови попадает микроорганизм, который в реальности не присутствовал в кровеносном русле в момент посева крови, но может быть нормальным обитателем кожи, слизистых оболочек больного или медперсонала, обитать в окружающей среде (воздух, вода, почва, поверхности помещения), колонизировать поверхности внутрисосудистого катетера. Микробиологическое исследование

крови имеет диагностическую и прогностическую ценность. Однако трактовка результатов такого исследования неоднозначна и представляет сложную задачу. До 50% всех микроорганизмов, высеваемых из образцов крови, могут быть следствием контаминации. В то же время при постоянном и качественном эпидемиологическом контроле доля ложноположительных результатов вследствие контаминации должна составлять не более 3% [4]. Качественное микробиологическое исследование крови с целью диагностики ИК (посев крови) невозможно без надежных критериев оценки клинической значимости (КОКЗ) микроорганизма, рост которого был получен в результате посева крови. Врач-микробиолог должен определить, является ли выделенный из данного образца крови микроорганизм истинным возбудителем или это следствие контаминации исследуемого образца крови на каком-либо этапе. Микробиологическая трактовка результатов возможна только с учетом клинических данных и должна отражать наиболее вероятную в данном конкретном случае ситуацию. Использование надежных критериев оценки эпизода бактериемии и выделенных при этом микроорганизмов существенно влияет на корректность проводимой диагностики ИК, а также неоспоримо связано с экономией затрачиваемых средств. Так, было показано, что дополнительные расходы на госпитализацию составляют от 1000 до 8400 \$ при выделении из крови «микроба-контаминанта».

В ФГБНУ «Российский онкологический центр им. Н.Н. Блохина» разработаны критерии оценки клинической значимости (КОКЗ) эпизода бактериемии и выделенных при этом микроорганизмов, которыми мы руководствуемся с 1997 г. для разделения эпизодов истинной и ложной бактериемии. При сравнительном клинико-микробиологическом анализе все эпизоды бактериемии разделены на две группы: «значимые» и «незначимые».

«Значимые эпизоды»: бактериемию следует считать истинной только при определенных условиях. Во-первых, если при посеве крови выделен микроорганизм, который считается признанным патогенным, например, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, и другие представители семейства *Enterobacteriaceae*; *S. aureus*; дрожжевые и плесневые грибы (за исключением *Aspergillus spp.* и *Penicillium spp.*); *P. aeruginosa* и другие представители группы неферментирующих грамотрицательных палочек; *Streptococcus spp.*, за исключением группы «*viridans*». При этом можно ограничиться только одним посевом крови при положительной гемокультуре для подтверждения ИК. Во-вторых, в определенных случаях следует сделать дополнительный посев крови не менее 2-х раз в течение 24 ч при каждом эпизоде лихорадки в следующих случаях:

- получен рост микроорганизмов, которые считаются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек, например, *Streptococcus* группы «*viridans*», коагулазонегативные стафилококки (КНС);

- получен рост сапрофитов, т. е. нормальных обитателей окружающей среды (вода, почва, воздух), например, споровая грамположительная аэробная палочка рода *Bacillus* (кроме *B. anthracis*), грамположительные кокки рода *Micrococcus*, грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* и прочие микроорганизмы, которые условно можно назвать вероятными «контаминантами».

«Незначимые эпизоды» (ложная бактериемия): посев одного и того же образца крови (из одного шприца) обычно производится одновременно в два или три флакона с питательной средой. Если рост микроорганизмов получен только в одном из нескольких флаконов, наиболее вероятно, что это следствие контаминации при внесении крови во флакон. Если рост микроорганизмов получен после длительного срока инкубации (более 3–5 сут), так называемый отсроченный рост, наиболее вероятно, что это следствие контаминации (либо колонизации катетера). Если получен рост различных микроорганизмов во флаконах с одним и тем же образцом крови, наиболее вероятно, что это следствие контаминации при инокуляции крови во флакон и/или при манипуляциях

с флаконами при высевах в лаборатории. Однократный в течение суток рост «микроорганизмов-контаминантов»: только одна положительная гемокультура из серии исследованных образцов в течение суток при каждом эпизоде лихорадки чаще всего есть следствие либо колонизации внутрисосудистого катетера, либо контаминации крови при посеве. В таких случаях оценить результат крайне сложно, высока вероятность ошибки.

Эффективность терапии, которая основана на корректных данных по таксономической структуре и антибиотикорезистентности истинных возбудителей инфекций кровотока, безусловно, связана со снижением дополнительных затрат на лечение пациента. Применение КОКЗ позволяет:

- исключить ложноположительные результаты из анализа данных;

- получить достоверные данные для оценки значения различных микроорганизмов в структуре возбудителей бактериемии;

- разработать эффективную стратегию и тактику своевременной и адекватной эмпирической терапии;

- сократить расходы и время, необходимые для диагностики бактериемии и терапии ее возможных последствий.

В.Г. Жуховицкий. Особенности этиологии и лабораторной диагностики оппортунистических инфекций в многопрофильном стационаре. ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи», Москва

По данным ВОЗ условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) являются причиной заболеваний у 4,5–18% больных, обращающихся за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения. Частота возникновения госпитальных инфекций в развитых странах, колеблется от 8 до 40%, в развивающихся странах – в 20 раз больше. Уровень заболеваемости внутрибольничными инфекциями в нашей стране, по данным разных авторов, колеблется от 5 до 500 на 10 тыс. госпитализированных (2,8–7,9%). Госпитальные инфекции в отделениях интенсивной терапии регистрируются более чем у 20% пациентов, в акушерско-гинекологических и хирургических стационарах – более чем у 50% больных.

Внутрибольничные инфекции отягощают течение основного заболевания, что приводит к повышенной угрозе жизни больного, увеличивает сроки пребывания больных в лечебных учреждениях, часто приводят к хронизации процесса. Помимо медицинских аспектов все вышеперечисленные факторы наносят большой дополнительный экономический ущерб.

Особенности УПМ обусловлены их экологической неоднородностью (средой обитания являются организм человека, продукты питания, вода, почва, отходы деятельности человека, лекарственные препараты и т. д.), способностью к симбиозу с аутохтонной микрофлорой – с одной стороны и конкурентоспособностью по отношению к ней, с другой полиорганотропностью, гетерогенностью популяций по различным признакам, природной устойчивостью к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам, бактериоцинам, бактериофагам, физическим факторам.

Возникновению оппортунистических инфекций способствуют: высокая инфицирующая доза возбудителя и наличие у него определенного набора факторов патогенности, снижение защитных сил макроорганизма, неблагоприятные условия окружающей среды (высокая обсемененность возбудителями воздуха и объектов в стационаре). Заболевания, вызванные УПМ, могут быть разделены на три группы: гнойно-воспалительные и септические, кишечные инфекции, инфекции органов дыхания.

Микробиологическая диагностика имеет решающее значение в постановке этиологического диагноза оппортунистических инфекций, в выработке рациональных схем терапии и предупреждении развития вторичных случаев заболевания. Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций в многопрофильном стационаре складывается из следующих подходов: биоценологического (изучения всех видов микро-

организмов, присутствующих в патологическом материале); популяционного (исследования из каждого материала определенного числа культур одного вида микробов); количественного (определения численности микроорганизмов в материале); химиотерапевтического (изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам); эпидемиологического (фено- и генотипирование микроорганизмов).

Клинико-микробиологическая диагностика оппортунистических инфекций в современном многопрофильном стационаре обеспечивается следующими методами исследования: микроскопическим, позволяющим получить предварительные данные о микрофлоре и наметить пути дальнейших лабораторных исследований; бактериологическим, позволяющим выделить и идентифицировать чистые культуры микроорганизмов, определить их родовую и видовую принадлежность, факторы патогенности, фаготипирование, чувствительность к антибиотикам и химиопрепаратам; серологическим, позволяющим обнаружить специфические антитела в сыворотке крови больного и динамики их нарастания в процессе заболевания; биологическим, заключающимся в заражении лабораторных животных исследуемым материалом с целью выделения чистых культур микроорганизмов и определения их вирулентности; аллергологическим, позволяющим выявить гиперчувствительность организма человека к аллергенам микробного происхождения; молекулярно-биологическим методом, позволяющий идентифицировать генетические детерминанты таксономически и патогенетически значимых признаков непосредственно в исследуемом биологическом материале.

Принципы интерпретации данных клинико-микробиологической диагностики оппортунистических инфекций существенно отличаются от таковых при инфекциях, вызванных истинно-патогенными микроорганизмами: к оппортунистическим инфекциям не применим классический постулат моноэтиологичной инфекции, сформулированный Кохом (триада Генле–Коха).

Критериями оценки роли условно-патогенных микроорганизмов в патологии являются: выделение микроорганизмов из органов и тканей, которые в норме у здоровых людей являются стерильными; обнаружение в исследуемом материале условно-патогенных микроорганизмов в значительных количествах (например, 10^5 – 10^7 КОЕ/мл (г) для бактерий, 10^3 – 10^4 КОЕ/мл (г) для грибов и простейших); повторное выделение одной и той же культуры из аналогичного биологического материала; обнаружение идентичных УПМ в биологическом материале различной природы, полученном от одного и того же больного (например, при пищевых токсикоинфекциях – в промывных водах желудка, рвотных массах, испражнениях, пищевых продуктах); нарастание титра антител в 4 и более раз в парных сыворотках крови больного в отношении УПМ, рассматривающегося в качестве возбудителя данного патологического процесса; в случае госпитальной инфекции – выделение идентичных культур от группы больных; совпадение данных лабораторного определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам с эффективностью антимикробной терапии в клинических условиях; улучшение состояния больного и уменьшение количества соответствующих микроорганизмов вплоть до элиминации их.

Одним из важнейших условий успешного проведения клинико-микробиологического исследования при оппортунистических инфекциях в многопрофильном стационаре и точной интерпретации полученных результатов является взаимодействие врача-клинициста и врача-микробиолога.

Ю.А. Захарова¹, И.В. Фельдблюм¹, А.В. Климашина², О.С. Федотова². **Микробиологический мониторинг инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: актуальные проблемы и пути оптимизации.** ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, Пермь; ФГБУЗ «Пермский клинический центр ФМБА России», Пермь

Хорошо известно, что микробиологический мониторинг как комплексное и динамическое наблюдение за патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, выделенными от пациентов, персонала и объектов больничной среды, их свойствами и особенностями циркуляции реализуется на организменном и популяционном уровнях.

Задачами микробиологического мониторинга на организменном уровне являются: этиологическая расшифровка ИСМП; оценка антибиотикорезистентности выделенного возбудителя; принятие управленческих решений по лечению и профилактике ИСМП. Мониторинг на популяционном уровне оценивает частоту колонизации пациентов; контаминацию объектов внешней среды; свойства циркулирующих микроорганизмов (вирулентность, антибиотикорезистентность, устойчивость к дезинфицирующим средствам, чувствительность к бактериофагам); штаммы, получившие приоритетное распространение в стационаре; качество эпидемиологической диагностики и общую ситуацию по распространению ИСМП.

Микробиологическая лаборатория (отдел) играет ключевую роль в этиологической расшифровке инфекций, обосновании антибактериальной терапии и оценке ее эффективности, выявлении формирования и особенностей циркуляции внутрибольничных популяций (клонов) микроорганизмов, формировании стратегии и тактики использования противомикробных и дезинфицирующих средств, оценке качества проводимых дезинфекционных и стерилизационных мероприятий. Поиск внутрибольничных штаммов (популяций) микроорганизмов, чрезвычайно важен при осуществлении микробиологического мониторинга ИСМП. Определение принадлежности возбудителя к категории госпитального может быть основано на его стандартном определении.

Микробиологический мониторинг пациентов и больничных объектов необходимо осуществлять в плановом порядке и по эпидемиологическим показаниям. Обязательному обследованию при мониторинге в плановом порядке должны подлежать пациенты с признаками инфекционно-воспалительных заболеваний, лица с высоким риском развития ГСИ, пациенты отделений высокого риска развития ИСМП. Контроль объектов внешней среды в плановом порядке осуществляют в рамках производственного контроля по санитарно-гигиеническим показаниям. Все пробы отбирают с объектов, прошедших дезинфекционную обработку. Исследования проводят на присутствие бактерий группы кишечной палочки (БГКП) и *S. aureus*. Контроль стерилизации осуществляют только с использованием бактериологических тестов. Объектами, подлежащими исследованию при оценке микробной обсемененности воздушной среды, являются лишь особо чистые помещения класса А.

Эпидемиологическими показаниями для проведения выборочных одномоментных исследований пациентов и больничных объектов (мониторинг по эпидемиологическим показаниям) являются критерии осложнения эпидемической ситуации по данным ретроспективного эпидемиологического анализа и результатам текущего микробиологического наблюдения. Объектами для исследования служат биологические материалы пациентов, подверженные наибольшему риску инфицирования и (или) материалы по данным оперативного эпидемиологического наблюдения, давшие наибольший высеv микрофлоры у лиц с признаками ГСИ или донозологическими формами. Необходимость проведения внепланового контроля объектов внешней среды определяется госпитальным эпидемиологом. Объем и перечень отбираемых объектов, специфика изучаемой микрофлоры диктуются проявлениями эпидемического процесса и характеристикой его биологического фактора. В обязательном порядке отбирают рабочие растворы дезинфицирующих средств (для изучения их контаминации и для оценки чувствительности к ним выделенных вирулентных штаммов микроорганизмов). Все пробы внешней среды отбирают в обычном режиме работы структурного подразделения (во время работы). Учитывая

направленность этого вида мониторинга на определенных представителей микрофлоры, в ход микробиологических исследований вносятся соответствующие коррективы. После определения видовой принадлежности патогенов, изучения вирулентных свойств и антибиотикограммы, как и в случае со штаммами, выделенными от пациентов, проводят внутри-видовое типирование бактериальных изолятов, отсева на питательные среды для формирования музейной коллекции с последующей транспортировкой в референс-центры. Изучение чувствительности внутрибольничных штаммов к «рабочим» и свежеприготовленным растворам дезинфектантов позволит решить вопрос о необходимости ротации этих средств в лечебном учреждении.

Л.Г. Боронина, С.М. Блинова. Современное состояние и проблемы диагностики листериоза у беременных и новорожденных. ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Екатеринбург

В РФ листериоз официально регистрируется с 1992 г. Заболеваемость составляет 0,02–0,06 на 100 000 человек, что на порядок ниже показателей сопредельных европейских стран, и, следовательно, данные официальной статистики не отражают реального уровня заболеваемости в нашей стране.

С 2004 по 2014 г. выявлено 11 штаммов *Listeria monocytogenes* у 6 пациентов; от матерей: 1 штамм из отделяемого цервикального канала и 1 штамм из плаценты; 1 штамм с ушной складки мертворожденного плода; у детей из крови ($n=4$), отделяемого трахеи ($n=2$), желудочного содержимого ($n=1$), фекалий ($n=1$). Во всех случаях *L. Monocytogenes* была чувствительна к ампициллину и пенициллину. Часто у беременных листериоз протекает под «маской» гриппоподобного заболевания. Так, одна из матерей в сроке 24 нед перенесла ОРВИ с синдромом менингизма, другая в 12 нед и 23–24 нед – ОРЗ с температурой; на листериоз не обследованы. Подтвержденным случаем острого инвазивного листериоза считается культуральное выделение *L. Monocytogenes* из в норме стерильных локусов (например, кровь, спинномозговая жидкость), в случае мертворождения – из плацентарной или эмбриональной ткани. Ценность других лабораторных методов, таких как исследование флюоресцирующих антител и ПЦР, в диагностике инвазивного листериоза не определена, но они могут применяться для определения неинвазивных форм листериоза при вспышках или других эпидемиологических исследованиях (Listeriosis Reporting and Surveillance Guidelines. Washington State Department of Health, March, 2014; Management of Pregnant Women With Presumptive Exposure to *Listeria monocytogenes*. The American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee opinion No 614, December, 2014).

Чаще всего беременных не обследуют на листериоз согласно приказу МЗ РФ № 572н от 01.11.12 г., что обусловлено отсутствием настороженности в отношении листериозной инфекции. И только выделение *L. Monocytogenes* от новорожденных позволяет ретроспективно диагностировать листериоз и у роженки. Для преодоления настоящей ситуации необходимо закрепить обследования беременных на листериоз (с учетом бессимптомного носительства) в нормативных документах наиболее эффективным методом. Приоритет, исходя из реальной ситуации, должен быть отдан бактериологическому методу с применением отечественных питательных сред накопления, выделения и идентификации листерий (Омарова С.М., 2007), который позволяет надежно выявить возбудителя, и методу ПЦР.

Т.В. Приутневич, А.Р. Мелкумян, Л.А. Любасовская, В.В. Муравьева, Н.А. Приходько. Оптимизация микробиологической диагностики оппортунистических инфекций у беременных и новорожденных. ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва

Оппортунистические инфекции у беременных, родильниц и новорожденных вызывают особый интерес и заслуживают пристального внимания. Учитывая специфику акушерско-гинекологических и неонатальных стационаров, где от быстроты принятия решения часто зависит жизнь пациента,

требуется расширение и совершенствование методической базы выполнения микробиологических исследований с целью ускорения получения результатов и наиболее полного выявления всех возможных этиологических агентов.

Цель: оптимизировать микробиологическую диагностику оппортунистических инфекций у беременных и новорожденных на основе комплекса автоматизированных бактериологических, *MALDI-TOF-MS* и молекулярно-генетических (ПЦР, секвенирование) технологий.

Исследовано 19 974 клинических образцов биологического материала, полученного от 8 120 женщин (3 904 беременных/4216 небеременных) и 928 новорожденных. Проведена оценка диагностических возможностей *MALDI-TOF-MS* (масс-спектрометр *AutoflexIII*, BrukerDaltonics, Германия) при видовой идентификации выделенных на питательных средах культур микроорганизмов. В качестве референс-метода использовано секвенирование рибосомальной РНК.

В рамках исследования проведено комплексное изучение состояния микроценоза влагалища в норме и при различных вариантах его нарушений у 212 беременных с помощью микроскопии мазков, культурального исследования с видовой идентификацией микроорганизмов методом *MALDI-TOF-MS* анализа в сравнении с методом количественной ПЦР («Фемофлор-16», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Методом *MALDI-TOF-MS* анализа с высокой достоверностью ($score \geq 2$) проведена видовая идентификация стафилококков (95,8%), энтерококков (97,5%), условно-патогенных энтеробактерий (98,4%), неферментирующих бактерий (93,6%), и β -гемолитических стрептококков (93,8%), что обосновывает приоритет *MALDI-TOF-MS* при видовой идентификации микроорганизмов этих групп. Совокупность методов классической бактериологии и *MALDI-TOF-MS* анализа позволила определить спектр дрожжевых грибов 21 вида 6 родов (*Candida*, *Saccharomyces*, *Rodotorulla*, *Trichosporon*, *Pichia*, *Malassezia*), которые могут вызывать кандидозы у женщин и новорожденных.

При исследовании отделяемого влагалища 212 беременных выявлено 7 различных состояний микроценоза: нормоценоз (51,4%), бактериальный вагиноз (11,8%), кандидозный вагинит (17,9%), аэробный вагинит (9,4%), бессимптомное носительство грибов (2,8%), мезоценоз (4,3%), цитолитический вагиноз (2,4%). С использованием тест-системы «Фемофлор-16» у 49,6% женщин состояние микробиоты оценено как нормоценоз, у 11,4% диагностирован умеренный дисбиоз, у 23,9% выраженный дисбиоз.

Метод *MALDI-TOF-MS* анализа позволяет достоверно повысить качество видовой идентификации условно-патогенных микроорганизмов и рекомендуется для применения в рутинной практике микробиологических лабораторий.

Анализ сравнительного изучения микроценоза влагалища беременных женщин показал необходимость проведения диагностики оппортунистических инфекций влагалища бактериальной и грибковой этиологии на основе комплексного микробиологического исследования (микроскопия мазков и культуральное исследование с *MALDI-TOF-MS* идентификацией микроорганизмов), в то время как оценку дисбиотических нарушений микроценоза влагалища (бактериальный вагиноз) – микроскопией мазков и количественной ПЦР. Молекулярно-генетическая диагностика оппортунистических инфекций влагалища должна включать индикацию в отделяемом влагалища *E. faecalis*, *E. coli*, *S. agalactiae* и *S. aureus* как наиболее частых возбудителей аэробных вагинитов.

В.В. Вельков. Пресепсин – ранний и высокоспецифичный маркер сепсиса: новые результаты международных и отечественных исследований. ЗАО «ДИАКОН», г. Пущино

Пресепсин (ПСР) – это новый высокоспецифичный, высокочувствительный и ранний маркер сепсиса. ПСР представляет собой циркулирующий белок, образующий макрофагами при фагоцитозе инфицирующих бактерий и грибов.

Циркулирующие уровни ПСР повышаются при развитии

системных инфекций и сепсиса, вызываемых грамположительными, грамотрицательными и грибковыми инфекциями, ПСП имеет 100% чувствительность к инфекциям, подтвержденным гемокультурами. При вирусных инфекциях и при воспалительных процессах, не связанных с системными инфекциями, уровни ПСП не повышаются. При развитии сепсиса повышение циркулирующих концентраций ПСП происходит раньше и быстрее, чем при применении других маркерах сепсиса, а именно в течение 1,5 – 2 ч после начала системной инфекции.

Динамика уровней ПСП прямым образом связана с динамикой показателей тяжести критических пациентов, определенных согласно шкалам APACHEII, SOFA и MEDS.

При мониторинге уровней ПСП быстро и надежно отражает степень эффективности терапии, (антибиотики, гемоперфузия, гемофильтрация и др.), что позволяет оперативное принятие объективно обоснованных клинических решений. «При различных типах хирургии ПСП – это ранний индикатор присоединения бактериальной и грибковой инфекции. Через 17 мин после взятия крови, измеренные уровни пресепсина можно использовать как указание для начала антибиотикотерапии даже при отсутствии клинических симптомов тяжелого сепсиса. Значения уровней ПСП, определенных перед хирургией, после хирургии и в послеоперационный период, позволяют вычислять дельту, отражающую текущую тяжесть сепсиса». При развитии сепсиса после кардиохирургии ПСП повышается в первый послеоперационный день, прокальцитонин – на второй.

При абдоминальной хирургии повышенные предоперационные уровни ПСП являются указанием на наличие системной инфекции. Особенно эффективен ПСП для ранней диагностики неонатального сепсиса.

Точное количественное измерение уровней ПСП проводится на хемиллюминесцентном экспресс-анализаторе PATH-FAST (производство Mitsubishi Chemical Medience, Япония) в течение 17 мин после взятия крови.

В целом, измерение уровней пресепсина эффективно для:

- 1) ранней диагностики и прогнозирования развития сепсиса,
- 2) стратификации пациентов, согласно тяжести сепсиса,
- 3) мониторинга эффективности терапии,
- 4) прогнозирования исходов.

Также измерение пресепсина весьма перспективно для проведения научных исследований, направленных на выяснение факторов, влияющих на фагоцитоз и на разработку новых методов терапии системных инфекций.

А.В. Сергеева¹, Л.Ю. Послова², О.В. Ковалишена¹, А.С. Благодирова¹, Н.В. Етифанова³, Т.А. Сашина³, О.В. Морозова³, Н.А. Новикова³. **Этиологическая расшифровка вирусных ОКИ в условиях неинфекционного многопрофильного детского стационара.** ¹ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Нижний Новгород; ²ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница», г. Нижний Новгород; ³ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород

В РФ в общей структуре ОКИ на долю вирусных диарей у детей приходится от 24 до 78%. Вопрос о распространенности вирусных ОКИ в неинфекционных стационарах, в том числе как инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) остается недостаточно исследованным. Целью работы явилось изучение этиологической структуры вирусных ОКИ в условиях неинфекционного многопрофильного детского стационара и молекулярно-генетическая характеристика выявленных кишечных вирусов.

В детском многопрофильном стационаре была внедрена синдромальная диагностика случаев ОКИ – выявление и обследование пациентов с признаками дисфункции желудочно-кишечного тракта, не связанной с основным заболеванием. За 2013 год было выявлено и обследовано 178 человек, в том числе 138 детей с неинфекционной патологией различных

органов и систем. 68% детей были госпитализированы в эндокринологическое отделение. На базе проблемной научной лаборатории ПЦР-исследований НИИ профилактической медицины ГБОУ ВПО НижГМА методом ПЦР-RT проведено выявление и дифференциация ДНК (РНК) ротавирусов группы А, норовирусов, астровирусов, энтеровирусов и ДНК аденовирусов группы F с использованием набор «Ампли-Сенс® ОКИскрин-FL», производства ЦНИИЭМ, г. Москва. Проведено 1850 исследований. В лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН «НИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора среди 132 образцов, положительных на наличие возбудителей вирусных ОКИ проведено G[P]-типирование ротавирусов; генотипирование методом секвенирования с использованием генетического анализатора Beckman Coulter; филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Полученные последовательности фрагментов генома представлены в международной базе данных GenBank под номерами KP208780, KP208781 (астровирусы), KP208782-KP208785, KR020053 (норовирусы), KR020054 (ротавирусы).

При обследовании по показаниям 178 человек детского многопрофильного стационара вирусы кишечной группы обнаружены в 43,8% случаев. Среди 78 положительных на вирусы кишечной группы лиц, моноинфекция выявлена в 72%, а в 28% – микст-инфекция двумя вирусами. В вирусных ассоциациях преобладали ротавирусная+норовирусная инфекции (более 90%).

При анализе по этиологическому признаку выявлено преобладание норовирусной инфекции (73,2% от всех обследованных с моноинфекцией). Ротавирусная инфекция составляла 23,2%, астровирусная и аденовирусная инфекции – по 1,8% случаев. По результатам эпидемиологической диагностики, среди госпитализированных детей было 9 случаев заноса ОКИ вирусной этиологии, а именно рота- и норовирусных инфекций, 66 случаев носили внутрибольничный характер. Среди матерей, находившихся в стационаре вместе с детьми, отмечено 3 случая – носительство и стертая форма норовирусной инфекции. Обнаружение генетического материала рота-, норо- и аденовирусов в 10,8% в мазках со слизистых ротоглотки детей с диареей может свидетельствовать о возможности реализации аэрогенного механизма передачи. Исследование объектов окружающей среды одного из отделений стационара на предмет контаминации кишечными вирусами выявило наличие их в 47,8% случаев.

Генотипирование ротавирусов показало наличие генотипов G4P[8] в 30% и G1P[8] в 70% случаев. Следует отметить, что генотип G4P[8] доминировал на территории Нижнего Новгорода при спорадической заболеваемости, и его появление у больных стационара было обусловлено заносом в стационар. Ротавирус генотипа G1P[8] свидетельствует о наличии в многопрофильном стационаре устойчивой внутрибольничной передачи. Генотипирование норовирусов выявило генотипы GI.1, GI.4 и GI.3. С учетом единства места и времени выделения норовируса GI.1, идентичности полученных нуклеотидных последовательностей данный генотип можно считать результатом внутрибольничной передачи инфекции. Норовирусы GI.4 генотипа *Sydney_2012* представлял собой результат эволюции вируса в процессе внутрибольничной циркуляции. Астровирусы принадлежали к генотипам 1 и 2, из которых 1 генотип является наиболее распространенным. Эпизоды астровирусной инфекции не были эпидемиологически связаны друг с другом, а представляли собой результат независимых заносов в стационар извне.

Полученные результаты свидетельствуют об активной циркуляции кишечных вирусов (43,8%) в условиях многопрофильного детского стационара. Использование молекулярно-генетических методов исследования в комплексе с эпидемиологической диагностикой в рамках эпидемиологического надзора за инфекциями в медицинской организации направлено на выявление всего спектра вирусных возбудителей ОКИ с молекулярно-генетической характеристикой и оцен-

кой их идентичности с целью установления внутрибольничной передачи.

И.С. Тартаковский. Эволюция взглядов на проблему оппортунистических инфекций. ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ

На рубеже XX–XXI веков структура инфекционной патологии человека претерпела существенную эволюцию, обусловленную как открытием новых инфекционных агентов, так и изменением роли и удельного веса известных ранее возбудителей, для которых в последние годы все чаще используется термин «возбудители оппортунистических инфекций». Термин «оппортунистические инфекции» первоначально использовался для характеристики инфекций, ассоциированных со СПИД. В настоящее время его применение значительно расширилось. Термин «возбудители оппортунистических инфекций» объединяет широкий спектр бактерий, вирусов, грибов, простейших, способных проявить свои патогенные свойства преимущественно на фоне нарушения механизмов защиты хозяина. Такая ситуация возможна не только при ВИЧ-инфекции, но и при других формах выраженных иммунодефицитов, встречающихся в широкой клинической практике (внутрибольничные инфекции, перинатальная и неонатальная патология, пневмонии, постоперационные осложнения, на фоне курса иммуносупрессивной терапии и др.). Для возникновения и развития оппортунистических инфекций необходимы соответствующие условия, то есть наличие в макроорганизме таких факторов эндогенного или экзогенного происхождения, которые позволили бы микробу-оппортунисту проявить слабовыраженные патогенные свойства. Наибольшее значение для развития оппортунистической инфекции имеют нарушения иммунной системы. Облигатные и факультативные внутриклеточные паразиты (бактерии, вирусы, грибы, простейшие) вызывают оппортунистические инфекции на фоне поражений клеточного иммунитета и нарушения механизма фагоцитоза. Нарушения иммунитета являются врожденными или приобретенными. Последние могут быть связаны с:

- возрастом (оппортунистические инфекции у новорожденных и пожилых людей);

- сопутствующими заболеваниями (помимо ВИЧ-инфекции широкий спектр заболеваний ретикулоэндотелиальной системы: лейкоз, лимфома, миелома; опухоли, сердечно-сосудистые заболевания, хронические заболевания легких, постхирургические осложнения, прежде всего после трансплантации органов и др.);

- применением иммуносупрессивной и радиационной терапии.

Для столь гетерогенной группы, как возбудители оппортунистических инфекций, сложно выработать единые, унифицированные подходы к лабораторной диагностике. Классические методы, основанные на выделении культур и их последующей идентификации являются основными при определении относительно просто культивируемых грамотрицательных палочек и грамположительных кокков. Однако следует учитывать, что выделение культур микробов-оппортунистов не всегда может рассматриваться как абсолютное доказательство их этиологической роли. Учитывая широкое распространение носительства большинства возбудителей оппортунистических инфекций следует отметить, что серологическая ретроспективная диагностика, основанная на определении иммуноглобулинов G имеет ряд ограничений при подтверждении диагноза. Современная экспресс-диагностика многих оппортунистических инфекций основана на количественном определении антигена или ДНК возбудителя с помощью различных модификаций иммуноферментного анализа или ПЦР в реальном времени в динамике. В настоящее время это практически основной подход для диагностики хронических и атипичных форм инфекционного процесса, вызванного микробами-оппортунистами. Оппортунистические инфекции занимают существенное место в современной структуре инфекционной патологии человека. Большинство возбудителей оппортунистических инфекций, на первый взгляд, не представляют столь существенной опасности для человеческой популяции как возбудители таких социально-значимых инфекций как грипп, ВИЧ-инфекция или гепатиты. Однако объединяющая возбудителей оппортунистических инфекций способность вызывать инфекцию при нарушении механизмов защиты макроорганизма обуславливает возрастающую зависимость человеческой популяции от контактов с микробами-оппортунистами.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

М.В. Ляхтин, В.М. Ляхтин, С.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, В.А. Аleshкин. Диагностика коммуникационного тела патогенных микроорганизмов в присутствии лектинов пробиотических бактерий человека. ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва

Лектины пробиотических бактерий (ЛПБ: Л лактобацилл и бифидобактерий [ЛЛ и ЛБ]) человека относятся к распознающим гликоконъюгаты белок-содержащим агентам, членам нового класса деструкторов биопленок, метаболомбиотикам (модуляторам метаболомных сетей и сетевых каскадов), имитаторам пробиотиков. Мы установили, что массивы условно-патогенных микроорганизмов образно реагируют на присутствие стрессовых факторов, проявляя свойства коммуникационного тела (КТ). Цель – обобщить диагностическую ценность анализа КТ патогенов.

Имэджи сформированных на стандартных агаровых средах КТ стафилококков (КТС: *S.aureus*) и кандид (КТК: *C.albicans*) исследовали в условиях пролонгирования стресса в присутствии дисковых/ капельных ЛПБ и антибиотиков. Цифровые фотографии редактировали на компьютере.

КТ характеризовались непрерывным или прерывистым массивом, объединенным функционально неравнозначной региональной территорией (благоприятной для выживания внутренней с повышенным количеством клеточного ма-

териала и неблагоприятной периферической пограничной областью сенсорных быстрых ответов на стресс с лимитированным количеством клеточного материала), способным дистанционно изменять общие и локальные ландшафты, в зависимости от выбранной комбинации факторов стресса. В присутствии мозаично расположенных ЛПБ различных типов наблюдалось предсказуемое превращение непрерывных КТС и КТК в КТ с мультирегиональными рестриктивными ландшафтами с различной качественной и количественной выраженностью деградации, в том числе наблюдалась конверсия моноцентрального КТК в мультицентровое КТК с мультистрессовыми включениями (наблюдался каскадный по времени микосимбиоз КТК и плесневых грибов) в доминирующей по территории областью лизиса. Оценены характеристические измеряемые симметричные и ассиметричные деградационные площади исходно сплошных КТС и КТК (как более сложных и информационно богатых) в присутствии одного типа диска или мозаики дисков ЛЛ и ЛБ, причем эффекторные площади были прямо пропорциональны концентрациям ЛПБ и зависели от природы штамма. Поведение непрерывных и прерывистых КТК было сходным в присутствии локализованных ЛПБ и не зависело от природы биотопного источника микроорганизмов (кишечного или урогенитального). Имэджи КТС и КТК в присутствии