

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.98:579.871]-078

Чагина И.А.¹, Борисова О.Ю.¹, Гадуа Н.Т.¹, Афанасьев М.С.², Афанасьев С.С.¹, Скворцов А.Г.³

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЖИДКОЙ ТРАНСПОРТНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЗЯТИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

³ЗАО «ФИРМА ГАЛЕН», 125373, Москва, Россия

Основной задачей лабораторной диагностики дифтерийной инфекции является идентификация возбудителя дифтерии с помощью минимального количества диагностических тестов для получения достоверного ответа в максимально сжатые сроки. Одним из важнейших этапов является взятие и доставка патологического материала, от которого зависит эффективность проведения и своевременность выдачи окончательного ответа. Учитывая появление на рынке коммерческих жидких транспортных сред, представляется целесообразным оценить их эффективность для диагностики дифтерии. В настоящей работе проведены экспериментальные исследования, позволяющие прогнозировать эффективность использования коммерческой транспортной жидкой среды «Тупферы для мазков в пробирке со средой Эймса без угля» (Σ -Transwab® с жидкой средой Эймса) в двух системах – со стандартным аппликатором (система 1) и с тонким удлиненным тампоном для отбора проб из узких полостей – уретральных и назофарингеальных (система 2). В исследовании использовали контрольный токсигенный штамм *Corynebacterium diphtheriae* биовара *gravis* № 665. В эксперименте «имитировали» условия работы лечебно-профилактических организаций по хранению тампонов с патологическим материалом на дифтерию до их транспортировки в лабораторию – на столе при комнатной температуре (6 и 20 часов), в холодильнике (6 и 20 часов), в термостате (6 и 20 часов). После инкубации все тампоны засеивали на кровяно-теллуритовую среду для первичного посева патологического материала. Учет результатов проводили через 24 и 48 часов роста. Установлено, что коммерческая транспортная жидкая среда Эймса может быть использована для взятия патологического материала на дифтерию во второй половине рабочего дня при хранении в условиях холодильника. Вместе с тем, следует учитывать форму тампона, так как лучшие результаты по высеваемости возбудителя дифтерии были получены при использовании универсального тампона.

Ключевые слова: взятие материала; тампоны; преаналитический этап исследования; транспортная жидкая среда Эймса; диагностика дифтерии.

Для цитирования: Чагина И.А., Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Афанасьев М.С., Афанасьев С.С., Скворцов А.Г. Возможности применения жидкой транспортной среды для взятия патологического материала при лабораторной диагностике дифтерийной инфекции. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (12): 783-787. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-12-783-787>

Chagina I.A.¹, Borisova O.Yu.¹, Gadua N.T.¹, Afanasiev M.S.², Afanasiev S.S.¹, Skvortsov A.G.³

POSSIBILITIES OF APPLICATION OF THE LIQUID TRANSPORT MEDIUM FOR CAPTURE OF PATHOLOGICAL MATERIAL AT LABORATORY DIAGNOSIS OF THE DIPHTHERIA INFECTION

¹G.N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, 125212, Moscow, Russian Federation;

²I.M. Sechenov Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russian Federation;

³«Galen», 125373, Moscow, Russian Federation

The main objective of laboratory diagnosis of a diphtheria is identification of the causative agent by means of the minimum quantity of diagnostic tests for obtaining the authentic answer in the most short time. One of the major stages is capture and delivery of pathological material on which the efficiency of carrying out and timeliness of issue of the final answer depends. Considering emergence in the market of commercial liquid transport mediums, assessment of their efficiency for diagnosis of diphtheria is advisable. In the real work the pilot studies allowing to predict efficiency of use of the commercial transport liquid medium Σ -Transwab® with the liquid medium of Ames in two systems – with the standard applicator (system 1) and with the thin extended tampon for sampling from narrow cavities – urethral and nazofarengialny are conducted (system 2). In a research used a control toxigenic strain of *Corynebacterium diphtheriae* of a biovar of *gravis* No. 665. In an experiment “imitated” operating conditions of the medical organizations for storage of tampons with pathological material on diphtheria before their transportation in laboratory – on a table at the room temperature (6 and 20 hours), in the refrigerator (6 and 20 hours), in the thermostat (6 and 20 hours). After an incubation all tampons sowed the environment for primary crops of pathological material on a blood tellurite agar. Accounting of results was carried out in 24 and 48 hours of growth. It is established that the commercial

transport liquid medium of Ames can be used for capture of pathological material on diphtheria in the second half of the working day at storage in the conditions of the refrigerator. At the same time, it is necessary to consider a tampon form as the best results on a identification of the causative agent of diphtheria have been received when using a universal tampon.

Key words: *material capture; tampons, preanalytic investigation phase; transport liquid medium of Ames; diagnosis of diphtheria.*

For citation: Chagina I.A., Borisova O.Yu., Gadua N.T., Afanasiev M.S., Afanasiev S.S., Skvortsov A.G. Possibilities of application of the liquid transport medium for capture of pathological material at laboratory diagnosis of a diphtheria infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (12): 783-787 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-12-783-787>

For correspondence: Borisova O.Yu., doctor of medicine (MD), docent, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections; e-mail: olgborisova@mail.ru

Information about authors:

Chagina I.A. <https://orcid.org/0000-0003-2867-9548>
Gadua N.T. <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>
Afanasiev S.S. <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Borisova O.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>
Afanasiev M.S. <https://orcid.org/0000-0003-4061-1407>
Skvortsov A.G. <https://orcid.org/0000-0002-9213-2224>

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interest. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 23.11.2018
Accepted 10.12.2018

Введение. Дифтерия является воздушно-капельной бактериальной инфекцией, управляемой средствами массовой иммунизации, которая в Российской Федерации проводится с 1959 г. с целью снижения заболеваемости и летальности. Достигнутые результаты подтвердили значимость массовой специфической иммунопрофилактики среди населения для поддержания в стране санитарно-эпидемиологического благополучия по этой инфекции [1 - 3].

В течение первого десятилетия нынешнего столетия заболеваемость дифтерией оставалась на спорадическом уровне с ежегодным снижением числа заболевших. За последние 16 лет (2001 - 2016 гг.) показатели заболеваемости снизились в 63 раза (с 0,63 до 0,0007 случаев на 100 тыс. населения) [3]. В 2017 г. заболевших дифтерией не зарегистрировано и выявлено 2 бактерионосителя. Однако актуальность проблемы дифтерийной инфекции в условиях единичных случаев по сей день сохраняется [1-3]. Поддержанию эпидемического процесса при этой инфекции способствует наличие скрытых источников инфекции, когорты восприимчивых лиц и бактерионосительство, которое является резервуаром возбудителя и поддерживает его существование как биологического вида [2, 3]. Поэтому, в условиях спорадической заболеваемости и роста числа непривитых лиц, главная роль в распространении инфекции отводится бактерионосителям токсигенных коринебактерий.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) в Иране, Непале, Пакистане, Индии, Индонезии, Гане, Бразилии, Гаити, Доминиканской Республике дифтерия по сей день остается эндемичным заболеванием, также регистрируются локальные вспышки в Таиланде, Лаосе и странах Африки [4, 5]. В странах Европы появились сообщения о случаях заболевания дифтерией среди мигрантов и туристов, посетивших эндемичные по этой инфекции территории [5]. Поэтому, учитывая рост числа туристических поездок, увеличивается риск возникновения и завозных случаев дифтерии на территорию нашей страны.

Система бактериологической диагностики дифтерии, используемая на территории Российской Федерации,

создавалась и разрабатывалась на протяжении многих лет несколькими поколениями исследователей и практических микробиологов, среди которых ведущая роль принадлежит сотрудникам МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Бактериологическое исследование проводят с целью лабораторной диагностики дифтерии, выявления источников инфекции, подтверждения эпидемиологических связей и наблюдения за распространением токсигенных коринебактерий дифтерии.

Одним из важнейших этапов бактериологического исследования, от которого зависит эффективность проведения и своевременность выдачи окончательного ответа, является преаналитический этап – взятие и доставка патологического материала. Правильность осуществления этого этапа определяет 80% эффективности самого бактериологического исследования и своевременность выдачи окончательного ответа. Взятие патологического материала на дифтерию осуществляется двумя сухими стерильными тампонами, которые должны быть доставлены в бактериологическую лабораторию в течение 3 часов. Соблюдение этих условий возможно только если материал у пациента забирается в первой половине рабочего дня. Вместе с тем, взятие патологического материала на дифтерию в лечебно-профилактических организациях производится в течение всего рабочего дня. В связи с этим, с целью предотвращения потери патологического материала взятие его допускается в жидкие транспортные среды, приготовленные в лабораторных условиях, с последующим его термостатированием и доставкой в лабораторию на следующий день.

Учитывая расширение рынка транспортных сред и применение автоматизированных бактериологических комплексов, представляется целесообразным оценить эффективность использования коммерческих жидких транспортных сред для диагностики дифтерии.

Цель данной работы – провести сравнительные экспериментальные исследования, позволяющие прогнозировать эффективность бактериологической диагностики дифтерийной инфекции при использовании коммерческой жидкой транспортной среды.

Материал и методы. В исследовании использовали контрольный токсигенный штамм *Corynebacterium diphtheriae* (C.diphtheriae) биовара *gravis* № 665, по-

лученный из Государственная коллекция патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ – ОБОЛЕНСК», который регламентирован действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике дифтерийной инфекции (МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции») в качестве контрольного штамма при проверке качества питательных сред для первичного посева патологического материала.

Бактериальную культуру *C.diphtheriae* выращивали на кровяно-теллуритовом агаре (КТА) на основе 2 % агара (ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) с добавлением 7 % крови крупного рогатого скота (ООО «Лей-Тран», Москва) и 0,02 % теллурита калия (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) с инкубацией при температуре 37 °С в течение 24 часов. В качестве коммерческой транспортной жидкой среды использовали «Тупферы для мазков в пробирке со средой Эймса без угля» (Σ-Transwab® с жидкой средой Эймса) производства Medical Wire & Equipment Co. (Bath) Ltd., Великобритания (MWE). Тестировали две системы. Первая система представляет собой стерильную пробирку с резьбовой крышкой фиолетового цвета, содержащей 1 мл жидкой среды Эймса, и стандартного аппликатора с тампоном Σ-Swab®. Тампон изготовлен из ячеистого пенополиуретана (система 1, фиолетовый цвет). Вторая система представляет собой тупфер Σ-Transwab®, состоит из пробирки с резьбовой крышкой оранжевого цвета, содержащей 1,0 мл жидкой среды Эймса, и аппликатора с тонким удлиненным тампоном Σ-Swab® для отбора проб из узких полостей – для уретральных и назофарингеальных проб. Тампон изготовлен из ячеистого пенополиуретана (система 2, оранжевый цвет). На внутренней стороне крышек имеется приспособление для надежного закрепления зонда. Пробирка совместима со всеми типами современных автоматических систем. Комплект стерильный, индивидуально упакован. После взятия патологического материала тампон при помещении в пробирку плотно фиксируется в крышку, предотвращая его перемещение.

Результаты и обсуждение. С целью оценки эффективности применения жидкой транспортной среды для взятия и транспортирования патологического материала на дифтерию готовили линейки последовательных десятикратных разведений (табл. 1) бактериальной культуры контрольного токсигенного штамма *C.diphtheriae* биовара *gravis* № 665 в стерильном физиологическом растворе в соответствии со стандартным образцом 10 ЕД

мутности (ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава РФ) в соответствии с МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

В работе использовали пять разведений бактериальной культуры в концентрациях - 5×10^6 , 5×10^5 , 5×10^4 , 5×10^3 и 10^3 м.к./мл, два последних из которых, согласно действующим нормативно-методическим документам, применяются при проведении контроля качества питательных сред для первичного посева патологического материала. Все разведения контролировали путем высева по 100 мкл из каждого разведения на кровяно-теллуритовую среду. Засеянные чашки инкубировали при 37 °С в течение 24 – 48 ч и подсчитывали число выросших колоний (КОЕ / мл) (табл. 1). Для чистоты проведения эксперимента готовили три линейки последовательных разведений бактериальной культуры типового контрольного токсигенного штамма *C.diphtheriae* биовара *gravis* № 665.

В связи с отсутствием проб биологического материала, полученного от больных дифтерией, модельные эксперименты проводили на иммитантах клинических образцов. Иммитанты готовили следующим образом. В лабораторных условиях на тампоны, используя стерильный наконечник с аэрозольным барьером, наносили (пулировали) 100 мкл бактериальной взвеси типового контрольного токсигенного штамма *C.diphtheriae* биовара *gravis* № 665 с различной концентрацией м.к. в 1 мл (табл. 1).

Бактериальную взвесь микробов каждой концентрации наносили (пулировали) на два вида тампонов из коммерческой системы (система 1, фиолетовый цвет и система 2, оранжевый цвет) с последующим помещением в транспортную жидкую среду Эймса (Σ-Transwab® с жидкой средой Эймса). Для чистоты эксперимента пулировали по три тампона из каждой концентрации микробной взвеси токсигенного штамма *C.diphtheriae*. В эксперименте «имитировали» условия работы лечебно-профилактических организаций по хранению тампонов с патологическим материалом на дифтерию до их транспортировки в бактериологическую лабораторию – на столе при комнатной температуре (6 и 20 ч), в холодильнике (6 и 20 ч), в термостате (6 ч) и в термостате до утра (20 ч). После пулирования бактериальной взвеси, первую партию тампонов в жидкой транспортной среде оставляли на столе при комнатной температуре до вечера (6 ч); вторую часть тампонов - на столе при комнатной температуре до утра (20 ч); третью партию тампонов - в холодильнике до вечера (6 часов); четвертую партию тампонов - в холодильнике до утра (20 ч); пятую партию тампонов помещали в термостат при 37°С до вечера (6 ч); шестую партию тампонов - в термостат при 37°С до утра (20 ч). После инкубации все тампоны засеивали на кровяно-теллуритовую среду для первичного посева патологического материала. Учет культурально-морфологических свойств выросших колоний проводили через 24 и 48 ч роста, согласно МУК 4.2.3065-13 раздела контроля качества питательных сред для первичного посева патологического материала, где питательная среда считается пригодной для использования при наличии роста колоний из концентрации 5×10^3 и единичных колоний из концентрации 10^3 . Разведения 5×10^6 , 5×10^5 и 5×10^4 высевали для контроля потери материала (табл. 2).

Проведенные исследования показали (табл. 2), что

Таблица 1

Схема приготовления разведений и учет КОЕ / мл токсигенного штамма *C.diphtheriae* биовара *gravis* № 665

Разведение	Количество м.к. в 1 мл взвеси бактериальной культуры по стандарту мутности (10 МЕ)	Число колониеобразующих единиц в 1 мл взвеси бактериальной культуры (КОЕ / мл) 24 часов/48 часов
- 1	5×10^8	Сплошной рост/ Сплошной рост
- 2	5×10^7	Сплошной рост/ Сплошной рост
- 3	5×10^6	Сплошной рост/ Сплошной рост
- 4	5×10^5	Сплошной рост/ Сплошной рост
- 5	5×10^4	Сплошной рост/ Сплошной рост
- 6	5×10^3	$2,95 \times 10^3$ / $3,3 \times 10^3$
- 7	10^3	$4,7 \times 10^2$ / $4,8 \times 10^2$

Таблица 2

Результаты оценки эффективности применения жидкой транспортной среды для взятия и транспортирования патологического материала на дифтерию

Концентрация бактериальной культуры	Тупфер с жидкой средой Эймса и стандартным аппликатором (система 1, фиолетовый цвет). 24 ч / 48 ч	Тупфер с жидкой средой Эймса и аппликатором с тонким удлиненным тампоном для отбора проб из узких полостей (система 2, оранжевый цвет). 24 ч / 48 ч
При комнатной температуре 6 ч		
5×10 ⁶	Сплошной рост / Сплошной рост	Сплошной рост / Сплошной рост
5×10 ⁵	9,43×10 ³ / 1,1×10 ⁴	3,2×10 ³ / 4,3×10 ³
5×10 ⁴	1,45×10 ³ / 2,04×10 ³	2,8×10 ³ / 3,88×10 ³
5×10 ³	1,6×10 ² / 2,5×10 ²	7×10 ¹ / 8×10 ¹
10 ³	3×10 ¹ / 4×10 ¹	0 / 1×10 ¹
В холодильнике при 4°C 6 ч		
5×10 ⁶	Сплошной рост / Сплошной рост	Сплошной рост / Сплошной рост
5×10 ⁵	Сплошной рост / Сплошной рост	2,8×10 ³ / 3,84×10 ³
5×10 ⁴	2,85×10 ³ / 2,87×10 ³	1,5×10 ³ / 1,7×10 ³
5×10 ³	4,2×10 ² / 4,6×10 ²	1×10 ¹ / 1×10 ¹
10 ³	1,1×10 ² / 1,4×10 ²	0 / 0
В термостате при 37°C 6 ч		
5×10 ⁶	Сплошной рост / Сплошной рост	1,5×10 ⁴ / 1,58×10 ⁴
5×10 ⁵	2,31×10 ³ / 2,95×10 ³	1,58×10 ³ / 1,6×10 ³
5×10 ⁴	3,3×10 ² / 3,5×10 ²	1,7×10 ³ / 1,8×10 ³
5×10 ³	9×10 ¹ / 1×10 ²	5×10 ¹ / 7×10 ¹
10 ³	0 / 3	0 / 0
При комнатной температуре 20 ч		
5×10 ⁶	1,03×10 ³ / 1,62×10 ³	1,5×10 ² / 1,7×10 ²
5×10 ⁵	1,2×10 ² / 1,4×10 ²	0 / 4×10 ¹
5×10 ⁴	1×10 ¹ / 1,3×10 ¹	0 / 2×10 ¹
5×10 ³	0 / 6	0 / 0
10 ³	0 / 0	0 / 0
В холодильнике при 4°C 20 ч		
5×10 ⁶	Сплошной рост / Сплошной рост	Сплошной рост / Сплошной рост
5×10 ⁵	Сплошной рост / Сплошной рост	2,3×10 ³ / 2,6×10 ³
5×10 ⁴	1,36×10 ³ / 1,58×10 ³	1,5×10 ³ / 1,57×10 ³
5×10 ³	2,4×10 ² / 2,6×10 ²	5×10 ¹ / 5×10 ¹
10 ³	4×10 ¹ / 6×10 ¹	1×10 ¹ / 1×10 ¹
В термостате при 37°C 20 ч		
5×10 ⁶	0 / 0	0 / 0
5×10 ⁵	0 / 0	0 / 0
5×10 ⁴	0 / 0	0 / 0
5×10 ³	0 / 0	0 / 0
10 ³	0 / 0	0 / 0

хранение материала при использовании тонкого тампона в системе 2 при комнатной температуре в течение 6 часов приводило к снижению высеваемости как в высоких концентрациях микробной взвеси токсигенного штамма *C. diphtheriae* - 5×10⁵ (3,2×10³ / 4,3×10³), 5×10⁴ (2,8×10³ / 3,88×10³), так и в низкой - 5×10³ (7×10¹ / 8×10¹) и к потере в концентрации 10³ (0 / 1×10¹). В то время как хранение материала в тех же условиях на стандартном тампоне в системе 1 показало хорошую высеваемость

возбудителя дифтерии в концентрациях микробной взвеси 5×10⁵ (9,43×10³ / 1,1×10⁴) и 5×10⁴ (1,45×10³ / 2,04×10³), в концентрации 5×10³ через 24 ч - 1,6×10² и через 48 ч - 2,5×10², и в концентрации 10³ через 24 ч - 3×10¹ и через 48 ч - 4×10¹.

Инкубирование в термостате при 37°C в течение 6 ч приводило к потере патологического материала как в высоких концентрациях микробной взвеси, так и в концентрации 5×10³ и практически к полной потере в концентрации 10³ при использовании двух видов тампонов в системах 1 и 2.

При хранении материала в холодильнике при 4°C в течение 6 ч на стандартном тампоне в системе 1 хорошая высеваемость возбудителя дифтерии была как в концентрации микробной взвеси 5×10³ (4,2×10² / 4,6×10²), так и в концентрации 10³ (1,1×10² / 1,4×10²), что соответствует требованиям по качеству питательных сред для первичного посева патологического материала на дифтерию. В то время как хранение материала при тех же условиях на тонком тампоне в системе 2 приводила к практически полной потере патологического материала в концентрации микробной взвеси 5×10³ (1×10¹ / 1×10¹) и в 100% случаев - в концентрации 10³ (0 / 0).

Инкубирование материала на двух видах тампонов в обеих системах в термостате при 37°C в течение 20 ч приводило к 100% потере патологического материала во всех пяти концентрациях микробной взвеси.

При хранении материала на стандартном тампоне в системе 1 в течение 20 ч при комнатной температуре приводило к потере патологического материала в концентрациях микробной взвеси 5×10⁶, 5×10⁵ и 5×10⁴, почти к полной потере в концентрации 5×10³ (0 / 6) и к 100% потере патологического материала в концентрации 10³ (0 / 0). Хранение материала на тонком тампоне в системе 2 при тех же условиях способствовало потере патологического материала в концентрации 5×10⁶, к почти полной потере в концентрациях 5×10⁵ (0 / 4×10¹), 5×10⁴ (0 / 2×10¹) и к 100% потере патологического материала в двух концентрациях - 5×10³ и 10³ (0 / 0).

Хранение патологического материала в холодильнике при 4°C в течение 20 ч показало его сохранность во всех концентрациях микробной взвеси на двух видах тампонов в обеих системах. При использовании тонкого тампона в системе 2 отмечалась хорошая высеваемость возбудителя дифтерии в концентрации 5×10⁶, сниженная - в концентрации 5×10⁵ (2,3×10³ / 2,6×10³) и 5×10⁴ (1,5×10³ / 1,57×10³), и в двух концентрациях - 5×10³ и 10³ - была потеря патологического материала. При применении стандартного тампона в системе 1 отмечалась хорошая высеваемость возбудителя во всех концентрациях - 5×10⁶, 5×10⁵, 5×10⁴ (1,36×10³ / 1,58×10³), 5×10³ (2,4×10² / 2,6×10²) и 10³ (4×10¹ / 6×10¹).

Основной задачей бактериологической диагностики дифтерийной инфекции является идентификация возбудителя с помощью минимального количества диагностических тестов, необходимых, достаточных и специфичных для получения достоверного ответа в максимально сжатые сроки (3-4 дня с момента обследования), что имеет еще большее значение в условиях sporadicческой заболеваемости. При взятии патологического материала на дифтерию двумя сухими стерильными тампонами и доставкой в бактериологическую лабораторию в течение 3 часов, выдача окончательного самого раннего бактериологического ответа будет произведена на 3 сут и самого позднего ответа - на 5 сутки.

По данным аналитических материалов по организации исследований на дифтерию, которые были проанализированы в рамках работы Референс-центра по дифтерии и коклюшу ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора для взятия патологического материала в некоторых регионах страны стали использовать коммерческие транспортные агаровые среды Стюарта и Эймса, в состав которых входят солевые буферы, что может приводить к потере патологического материала уже на преаналитическом этапе исследования. Ранее нами были проведены исследования [6], которые показали, что при помещении патологического материала в агаризованные транспортные среды Эймса и Стюарта и хранение при комнатной температуре или в холодильнике в течение 6 часов можно получить рост единичных колоний токсигенного штамма *C.diphtheriae* только в большой концентрации – 5×10^4 и полностью приводило к потере патологического материала в других концентрациях; выдерживание материала при комнатной температуре и в холодильнике в течение 20 ч приводило к полной потере патологического материала. Помещение патологического материала в коммерческие транспортные среды и подращивание в термостате в течение 6 часов не дало положительных результатов и не позволило увеличить высеваемость возбудителя дифтерии. Несколько лучшие результаты были получены при подращивании материала в этих условиях в течение 18-20 ч, когда удалось идентифицировать единичные колонии возбудителя дифтерии в концентрации 5×10^3 , но отсутствие роста в концентрации 10^3 . Т.е. было показано, что взятие патологического материала во второй половине дня и транспортировка в агаризованных средах Эймса и Стюарта приведет к потере патологического материала и, следовательно, к снижению высеваемости и выделяемости возбудителя дифтерии, что, в целом, негативно скажется на качестве проведения исследований на дифтерию. На основании этого были сформулированы положения по правилам взятия патологического материала на дифтерию в действующих СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии» и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Проведенные в настоящей работе исследования показали, что коммерческая транспортная жидкая среда Эймса (Σ -Transwab® с жидкой средой Эймса) может быть использована для взятия патологического материала на дифтерию во второй половине рабочего дня. Вместе с тем следует учитывать форму тампона, так как лучшие результаты по высеваемости возбудителя дифтерии были получены при использовании универсального тампона (тупфер с фиолетовой крышкой, система 1), в то время как при использовании урогенитального / назофарингеального тампона (тупфер с оранжевой крышкой, система 2) были получены результаты, свидетельствующие о снижении высеваемости возбудителя. По-видимому, причиной этому является то, что размер универсального тампона больше, чем урогенитального / назофарингеального.

Наилучшую высеваемость возбудителя дифтерии регистрировали при его хранении в условиях холодильника при 4°C в течение 6 или 20 ч на стандартном тампоне в системе 1 как при высоких, так и при низких концентрациях микробной взвеси. Соблюдение этих условий позволит предотвратить полную потерю патологического материала, но не приведет к его накоплению. В то время как транспортная среда, приготовленная в лабо-

раторных условиях на питательных бульонах, не только способствует сохранению патологического материала, но и к его накоплению.

Однако, применение любых транспортных сред увеличивает срок выдачи бактериологического ответа на одни сутки, тем самым самый ранний бактериологический ответ будет выдан на 4 сутки и самый поздний – на 6 сутки. Поэтому, учитывая, что токсигенные *C.diphtheriae* являются возбудителем дифтерии – воздушно-капельной инфекции, которая может привести к летальным исходам, применение транспортных сред должно быть аргументировано.

Закключение. Тампоны Σ -Transwab® с жидкой средой Эймса (тупфер с фиолетовой крышкой, система 1) могут быть рекомендованы для взятия и транспортирования патологического материала на дифтерию во второй половине рабочего дня в бактериологических лабораториях при условии хранения в холодильнике. Кроме того, применение жидкой транспортной среды позволит доставлять патологический материал из различных лечебно-профилактических организаций, в том числе удаленных территорий, в условиях централизации исследований.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 4, 5 см. REFERENCES)

1. Максимова Н.М., Маркина С.С., Яцковский К.А., Черкасова В.В., Корженкова М.П., Сафронова А.В. и др. Дифтерия в России в 2005 - 2009 годах. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 3: 31-6.
2. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическое благополучие населения России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 1: 42-51.
3. Якимова Т.Н., Маркина С.С., Максимова Н.М. Дифтерия сегодня. *Здоровье населения и среда обитания*. 2013; 12 (249): 18-19.
4. Борисова О.Ю., Чагина И.А., Гадуа Н.Т. К вопросу о применении коммерческих транспортных сред для взятия патологического материала при обследовании на дифтерию. *Медицинский алфавит. Современная лаборатория*. 2014; 3: 21-3.

REFERENCES:

1. Maximova N.M., Markina S.S., Yatskovsky K.A., Cherkasova V.V., Korzhenkova M. P., Safronova A.V. et al. Diphtheria in Russia in 2005 - 2009. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2010; 3: 31-6. (in Russian)
2. Onishchenko G. G. Epidemiological wellbeing of the population of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 1: 42-51. (in Russian)
3. Yakimova T. N., Markina S.S., Maximova N.M. Diphtheria today. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2013; 12 (249): 18-9. (in Russian)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Diphtheria. Available at: // Yellow Book 2018: health information for international travel. - New York: Oxford University Press, 2017. - Chap. 3. - URL: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2018/infectious-diseases-related-to-travel/diphtheria> (accessed 03.04.2018).
5. Centers for Disease Control and Prevention. Diphtheria. Available at: Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. - 5th ed. - Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2011. - Chap. 1. - 9 p. - URL: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt01-dip.pdf> (accessed 05.01.2018).
6. Borisova O.Yu., Chagina I.A., Gadua N.T. K to a question of application of commercial transport environments for capture of pathological material at inspection on diphtheria. *Meditsinskiy alfavit. Sovremennaya laboratoriya*. 2014; 3: 21-3. (in Russian)

Поступила 23.11.18

Принята к печати 10.12.18