

АЛГОРИТМ РАССЛЕДОВАНИЯ ВСПЫШЕК СТАФИЛОКОККОВОЙ ПИЩЕВОЙ ТОКСИКОИНФЕКЦИИ И СТАФИЛОДЕРМИИ НОВОРОЖДЕННЫХ

И.В. Абаев, Ю.П. Скрябин, Э.А. Светоч, И.А. Дятлов
ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

В 2013–2016 гг. в ГНЦПМБ проводили генетическое исследование изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных при вспышках стафилококковой пищевой токсикоинфекции и стафилодермии новорожденных. Целью исследований являлась идентификация этиологического агента и определение возможных источников инфекции. Решение этих задач предполагает сравнительное изучение образцов, выделенных от больных, от обслуживающего персонала, из пищевых продуктов и объектов окружающей среды. Идентификация этиологического агента особенно актуальна для *S. aureus* вследствие широкого распространения и высокой частоты выделения микроорганизма при патологиях человека, вызванных другими микроорганизмами. Согласно данным о связи определенных клональных комплексов *S. aureus* и специфических клинических синдромов, для штамма-возбудителя инфекции необходимо подтверждение соответствия его генотипа и характеристики конкретной стафилококковой инфекции. При установлении возможных источников стафилококковой инфекции обязательным является этап генотипирования всех изолятов, выделенных из различных объектов при расследовании вспышки.

Таким образом, алгоритм расследования вспышек стафилококковой пищевой токсикоинфекции и стафилодермии новорожденных должен включать следующие этапы: изоляция чистой культуры предполагаемого возбудителя; подтверждение генетическими методами видовой и штаммовой чистоты изолированной культуры; идентификация штамма *S. aureus* в образцах, выделенных от больных, в качестве этиологического агента расследуемой инфекции согласно базе данных *S. aureus* ГНЦПМБ; сравнительный генетический анализ штамма *S. aureus*, определенного как возбудитель инфекции, и изолятов, выделенных от обслуживающего персонала, из пищевых продуктов и объектов окружающей среды.

Алгоритм генетического расследования стафилококковых вспышек, используемый в ГНЦПМБ, включает две стадии. На стадии предварительного анализа используются методы амплификации маркеров генома *S. aureus* в полимеразной цепной реакции со специфическими олигонуклеотидными праймерами и исследование полиморфизма длин рестриционных фрагментов продуктов амплификации переменного региона коагулазного гена по адаптированной в ГНЦПМБ схеме. Продолжительность первой стадии занимает в среднем 48 ч с момента получения чистых культур. На второй стадии используются методы сиквенс-типирования и полногеномного секвенирования, проводится биоинформатический анализ полученных данных.

ПРИМЕНЕНИЕ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Л.И. Алексеенко

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Гатчинском районе

Введение. Бактериологическая лаборатория ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской

области в Гатчинском районе» обеспечивает деятельность ТО Роспотребнадзора.

Главной задачей деятельности бактериологической лаборатории филиала является обеспечение специалистов Управления Роспотребнадзора объективными данными для разработки санитарно-оздоровительных и противоэпидемических мероприятий, направленных на снижение профессиональной, инфекционной и общей заболеваемости населения.

Результаты. Применение молекулярно-биологических методов исследований позволило выявлять возбудителей вирусных инфекций, труднокультивируемых возбудителей инфекционных заболеваний (микоплазм, уреоплазм и др.). Исследования молекулярно-биологическими методами проводятся путем ИФА и ПЦР по конечной точке и ПЦР в реальном времени с использованием отечественных тест-систем. За 4 года при расшировке групповых ОКИ вирусной природы были проведены исследования 1604 образцов клинического материала от больных и контактных. Идентифицировано 39 штаммов вирусов («высеваемость» составила 24,3%). От больных проведено изучение 494 образцов, идентифицировано 216 штаммов («высеваемость» от больных составила 43,7%). От контактных лиц исследовано 1110 образцов, идентифицировано 174 штамма («высеваемость» от контактных составила 15,6%). Среди возбудителей преобладают норовирусы 2 генотипа, идентифицированы в 258 образцах; ротавирусы идентифицированы в 34 образцах; астровирусы идентифицированы в 17 образцах и выделялись в основном в ассоциации с норо- или ротавирусом. Исследования проводились в очагах энтеровирусной инфекции, исследовано 256 образцов нестерильного материала. Исследовалось по 2 нестерильных образца от пациента (кал и соскоб с высыпаний). В 75 образцах идентифицирован энтеровирус (29,2%). Для определения серотипа энтеровируса, материал отправлялся в референс-центр.

Заключение. Внедрение молекулярно-генетических методов исследований позволило повысить процент расшифровки вспышечной заболеваемости в закрытых коллективах, выявлять носителей и заболевших среди контактных, правильно проводить противоэпидемические мероприятия в очагах для предотвращения распространения заболеваний, выбирать нужные концентрации для проведения дезинфекционных мероприятий в очаге.

ИНТЕГРАЦИЯ НОВЫХ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В СИСТЕМУ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ЧУМОЙ

С.В. Балахонов¹, М.Б. Ярыгина¹, Е.Н. Рождественский², Г.Х. Базарова², В.М. Корзун¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск

² ФКУЗ Алтайская противочумная станция Роспотребнадзора, г. Горно-Алтайск

В настоящее время при осуществлении эпидемиологического надзора за чумой в Горно-Алтайском природном очаге внедрены современные методы детекции и идентификации *Yersinia pestis* в полевом и клиническом материале. Используются полимеразная цепная реакция (ПЦР), Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI ToF-MS) метод, иммунохроматографический тест (ИХТ), скрининг плазмид. Для оценки по-

тенциальной эпидемической опасности изолируемых штаммов чумного микроба и их углубленного изучения проводится оценка молекулярно-генетических характеристик с применением variable number tandem repeats (VNTR) анализа по 25 вариабельным локусам.

В 2015 г. стали применять ПЦР анализ для детекции возбудителя чумы во всех пробах полевого материала. Также с помощью экспериментального набора праймеров ur2769ms06 и ur3057ms09 Иркутского НИПЧИ проводится внутривидовая дифференциация чумного микроба. С использованием этих методов получена дополнительная информация о пространственном распространении возбудителя чумы основного и алтайского подвидов, циркулирующих в очаге. Внедрение ИХТ для серодиагностики чумы, способствует быстрому подтверждению наличия в поступающих образцах маркеров возбудителя чумы. В качестве дополнительного инструмента углубленного изучения штаммов, изолируемых в очаге, применяется сравнительный анализ их протеометрических характеристик — MALDI ToF-MS. У всех штаммов основного подвида, изолируемых в очаге, проводится VNTR-анализ по 25 вариабельным локусам. Установлено, что наибольшее сходство штаммы основного подвида, выделенные в очаге, имеют со штаммами, изолированными на территории Монголии. Вышеперечисленные методы позволили в 2012 г. установить интродукцию основного подвида на российскую территорию очага и инициировать профилактические мероприятия. Также данные подходы использованы при расследовании двух случаев заболевания человека чумой в 2014 и 2015 гг., с их помощью в кратчайшие сроки установлен предварительный диагноз у больных.

Таким образом, применение данных методов лабораторной диагностики позволяет добиться быстрой и эффективной индикации и идентификации возбудителя чумы в полевом материале, получаемом при проведении эпизоотологического обследования очага, своевременно осуществить постановку диагноза у людей. В конечном итоге их внедрение способствовало оптимизации системы эпидемиологического надзора за чумой в Горно-Алтайском природном очаге и обоснованной реализации комплекса противоэпидемических мероприятий.

ИЗУЧЕНИЕ β -ЛАКТАМАЗНОЙ АКТИВНОСТИ *F. TULARENSIS* SUBSP. *MEDIASIATICA* И *HOLARCTICA*

И.В. Бахтеева, В.С. Тимофеев, Т.Б. Кравченко, А.Н. Мокриевич

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболensk, Московская область

Отсутствие β -лактамазной активности является основным признаком для дискриминации *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* от других подвида. Мы установили, что спектр генов β -лактамаз у штаммов всех подвида *F. tularensis* идентичен и эти гены активно экспрессируются, в т.ч. ген *bla2*, кодирующий единственный белок с выявленной функциональной активностью. Единственное отличие, специфичное для *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* заключалось в аминокислотной замене 97Gly→Arg, которая и может быть ответственной за отсутствие лактамазной активности. Мы показали, что у штамма *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 120 Δ pur чувствительность к пенициллину у штам-

ма появлялась лишь при снижении концентрации микробных клеток в среде с антибиотиком (т.е. при увеличении количества молекул антибиотика, приходящихся на одну микробную клетку). Это позволило нам предположить, что наблюдаемое у штаммов среднеазиатского подвида отличие последовательности белка Bla2 на одну аминокислоту приводит к снижению эффективности реакции расщепления лактамного кольца. Дальнейшими исследованиями было установлено, что, вопреки распространенному мнению, штамм *F. tularensis* 120 Δ pur среднеазиатского подвида обладает лактамазной активностью, однако скорость расщепления лактамного кольца у него значительно снижена. Если в культуре *F. tularensis* 15 НИИЭГ максимальную скорость расщепления субстрата регистрировали в течении первого часа, а полное расщепление происходило в течение 2–4 ч, то пик скорости гидролиза у клеток *F. tularensis* 120 Δ pur приходился на 4 ч, а полное расщепление нитроцефина занимало около 20–24 ч. Кроме этого, было установлено, что β -лактамазная активность была значительно выше в осветленных ультразвуковых лизатах клеток по сравнению с суспензией живых клеток *F. tularensis*, что говорит о внутриклеточной, скорее всего периплазматической, локализации β -лактамаз *F. tularensis*. Последним этапом исследований было проведение экспериментов по истощению пула пенициллина в ростовой среде, в результате которых было установлено, что время полного расщепления антибиотика клетками *F. tularensis* 15 НИИЭГ и 120 Δ pur составляет 4 и 24 ч соответственно.

Таким образом, было установлено, что штаммы туляремийного микроба среднеазиатского подвида обладают β -лактамазной активностью, хотя скорость гидролиза антибиотиков при этом снижена. Причиной снижения эффективности гидролиза β -лактамов является, видимо, замена Gly→Arg в 97 положении белка Bla2.

СВОЙСТВА ПНЕВМОКОККОВ, КОЛОНИЗИРУЮЩИХ НОСОГЛОТКУ ДЕТЕЙ В Г. КАЗАНИ

Л.Т. Баязитова¹, О.Ф. Тюпкина¹, Ю.А. Тюрин¹, А.Ф. Шамсутдинов¹, В.А. Кадкина², И.Д. Решетникова¹, А.А. Ризванов², Г.Ш. Исаева¹

¹ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань

Эпидемиологическую важность пневмококковой инфекции (ПИ) определяют высокая распространенность носительства *Streptococcus pneumoniae*, циркуляция штаммов с выраженными вирулентными свойствами и взаимосвязь между штаммами из носоглотки и штаммами-возбудителями ПИ.

Цель: изучение серотипового состава пневмококков, циркулирующих в носоглотке детей дошкольного возраста, и анализ их резистентности к антимикробным препаратам (АМП).

Материалы и методы. Биоматериал из носоглотки забирали натошак, высевали на Columbia agar Base («Conda», Испания) с 5% крови. Идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основании оценки культуральных свойств, оптохинового теста и чувствительности к желчи; латекс-агглютинации «Slide Pneumo-Kit» (bioMerieux, Франция); реакции

Нейфельда с пневмококковой антисывороткой OMNI (SSI Omni serum, Statens Serum Institut). Серотипирование штаммов методом мультиплексной ПЦР (МППЦР) изучалось с набором праймеров (ООО «Синтол», Россия).

Для скрининга пенициллинчувствительности использовали диск с оксациллином 1 мкг. Антибиотикочувствительность изолятов изучали при помощи диско-диффузионного метода и E-тестов HiComb MIC Test («Himedia»); на среде Мюллера–Хинтон с 5% крови.

Результаты. Проведено исследование микробиоценоза носоглотки 343 детей дошкольного возраста, обратившихся в КНИИЭМ в 2009–2016 гг. Доля носительства составила 24,8%: в виде монокультуры в 58,4%, в составе бактериальных ассоциаций — у 41,6%. По данным МППЦР (n = 78) чаще регистрировались серотипы 6A (4 детей/5,12%), 6B (2 ребенка/2,56%) и 33F (2 ребенка/2,56%), серотипы 19A, 19F, 3, 12F — обнаружены в 1,28% случаев.

Пенициллинчувствительными оказались 82,8% штаммов. Отмечено снижение доли чувствительных к амоксициллину штаммов с 96,05% в 2009 г. до 90,8% в 2015 г., к амоксициллин/клавуланату — с 94,7 до 90,8%, к азитромицину — с 90,7 до 84,7%, к кларитромицину — с 93,4 до 89,8% в эти же годы соответственно. Множественной устойчивостью к антимикробным препаратам (к 3–5 видам АМП) обладали 4% пневмококков в 2009 г. и 9,2% в 2015 г.

Заключение. Слежение за серотиповым составом пневмококков необходимо для проведения эффективной вакцинопрофилактики, предусматривающей выбор соответствующей вакцины с учетом серотипов, циркулирующих в носоглотке детей.

По данным мониторинга антибиотикорезистентности выявлен незначительный рост численности штаммов, нечувствительных к антипневмококковым АМП.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В РАСШИФРОВКЕ ВСПЫШЕК ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

И.В. Белова¹, А.Г. Точилина, И.В. Соловьева¹, В.А. Жирнов¹, Т.П. Иванова¹, И.Ю. Широкова², О.В. Ковалишена²

¹ ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

² ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия МЗ РФ, Нижний Новгород

Работа проводилась с использованием MALDI-TOF масс-спектрометра Autoflex speed Bruker, программное обеспечение Biotyper. Данная программа позволяет не только осуществлять экспресс-идентификацию микроорганизмов, но и изучать сходство масс-спектров их рибосомальных белков с помощью построения дендрограмм.

За основу построения дендрограмм брали метод корреляции с усредненной длиной связи. В качестве объектов исследования выступали штаммы *S. aureus*, полученные при расследовании вспышек пищевых токсикоинфекций (ПТИ) и *K. pneumoniae*, выделенные в различных стационарах города при подозрении на развитие инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Создана база данных результатов идентификации штаммов — всего 2075 масс-спектров. Для построения дендрограмм

брали масс-спектры штаммов, идентифицированных до вида с максимально высоким коэффициентом Score (2,2 и выше).

Среди *S. aureus*, обусловивших возникновение вспышек ПТИ, были исследованы культуры, полученные от заболевших, персонала, из продуктов питания и смывов с объектов окружающей среды. В качестве контрольных использовали штаммы *S. aureus*, выделенные от людей, не имеющих отношения к расследуемому вспышкам. Установлено, что при вспышке ПТИ выделялись штаммы *S. aureus* со сходными профилями рибосомальных белков (на дендрограмме они формировали отдельный кластер). При обнаружении объединения масс-спектров штаммов, выделенных от больного, персонала и продукта питания, в отдельный подкластер, расценивали это как предварительные данные о выявлении источника и фактора передачи инфекции. Сравнив полученные данные с результатами эпидрасследования вспышек традиционным методом, установили, что изучение схожести масс-спектров рибосомальных белков штаммов микроорганизмов — возможных этиологических факторов ПТИ — может быть использовано при расследовании вспышек этих заболеваний в качестве предварительного этапа. Данный метод был успешно использован при расследовании трех случаев ПТИ.

При анализе большого массива масс-спектров рибосомальных белков *K. pneumoniae*, выделенных от больных и внешней среды в различных стационарах города с использованием различных методов построения дендрограмм установили, что масс-спектры кластеризуются соответственно лечебным учреждениям. Но при этом отсутствует четкое разбиение на подкластеры, соответствующие конкретным больным или времени выявления штаммов, что, по-видимому, может свидетельствовать о циркуляции в лечебных учреждениях госпитальных штаммов. Работа по подтверждению данного предположения на данный момент продолжается.

МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ФТОРХИНОЛОНАМ И ЦЕФАЛОСПОРИНАМ ШТАММОВ SALMONELLA, ВЫДЕЛЕННЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2014–2016 гг.

И.Б. Блиман¹, С.А. Егорова², Л.А. Кафтырева², Е.В. Войтенкова², Е.В. Смирнова¹, Н.В. Толузакова¹, С.А. Черткова¹

¹ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербурге, филиал № 4, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Сальмонеллезная инфекция у человека, особенно у детей и лиц пожилого возраста часто, протекает тяжело. В качестве препаратов для эмпирической терапии тяжелых, генерализованных и осложненных форм сальмонеллезов у взрослых наиболее часто используются хинолоны (налидиксовая кислота, ципрофлоксацин), у детей — цефалоспорины расширенного спектра (ЦРС) (цефотаксим, цефтриаксон, цефиксим и др.).

Исследования, проведенные в 2014–2016 гг., по изучению чувствительности штаммов *Salmonella*, выделенных от жителей Санкт-Петербурга (378 штаммов), к антимикробным препаратам (АМП) показали, что чувствительность к антибиотикам сохраняли 25,4% штаммов, устойчивость к I и более классу от-

мечена у 74,6% штаммов. Более половины изученных штаммов *Salmonella* (59,0%) характеризовались устойчивостью к хинолонам, наиболее характерна такая резистентность для штаммов сероваров *S. Enteritidis* и *S. Infantis* (66,7 и 88,2% соответственно). Молекулярно-генетические исследования показали, что резистентность была обусловлена хромосомными мутациями в гене *gyrA*: Ser83Phe и Asp87Gly у штаммов *S. Enteritidis*, Asp87Tyr у штаммов *S. Infantis*. В ходе исследования выявлено около 3,0% штаммов, устойчивых к ЦПС (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Coeln*), продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра генетического семейства CTX-M генетических групп CTX-M1, -2, -9. Около 15,0% штаммов обладали множественной устойчивостью к АМП (3 и более класса), наиболее характерна такая резистентность для сероваров *S. Typhimurium* и *S. Infantis* (65,4 и 82,4% соответственно).

В настоящее время в популяции штаммов *Salmonella* выявлена устойчивость к препаратам, рекомендованным для лечения сальмонеллезом: около 60,0% штаммов устойчивы к фторхинолонам, появились штаммы, устойчивые к цефалоспорином 3–4 поколения. Приобретение штаммами возбудителя механизмов резистентности к современным эффективным и безопасным АМП, развивающееся на фоне утраты чувствительности сальмонелл к «старым» антибиотикам (ампициллин, хлорамфеникол, ко-тримоксазол), значительно ограничивает выбор этиотропной терапии. Присутствие на внутреннем рынке различных пищевых продуктов отечественных и импортных, контаминированных резистентными к антибиотикам сальмонеллами, не позволяет эффективно проводить профилактические мероприятия.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР (ГКПМ-ОБОЛЕНСК)

А.Г. Богун, А.А. Кисличкина, Е.В. Галкина, Н.В. Майская, В.И. Соломенцев, Т.Н. Мухина, И.Г. Шемякин

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

ГКПМ-Оболенск является одной из трех Государственных коллекций патогенных микроорганизмов, функционирующих в учреждениях Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Основная функция коллекции заключается в сборе, хранении и изучении штаммов микроорганизмов I–IV групп патогенности. Отдельным видом деятельности является предоставление тестовых штаммов. Коллекция осуществляет депонирование по трем категориям — хранение, депонирование для целей национальной патентной процедуры и ответственное хранение.

При депонировании и выдаче штаммов необходимо осуществлять проверку соответствия заявляемых и реальных свойств депонированных культур. Для этих целей в ГКПМ-Оболенск используются современные технологии идентификации микроорганизмов. Мультилокусный анализ варибельных тандемных повторов (MLVA), анализ единичных полиморфизмов (SNP-типирование) являются моле-

кулярно-генетическими методами, обладающими высокой воспроизводимостью, низкой стоимостью, и позволяют осуществлять дифференциацию близкородственных штаммов. Другой распространенный метод — мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) отличается более высокой стоимостью проведения исследований. Например, стоимость прямых затрат для проведения мультилокусного сиквенс-типирования штаммов патогенных *E. coli* по 15 генам (*aspC*, *clpX*, *fadD*, *icaA*, *lysP*, *mdh*, *uidA*, *arcA*, *aroE*, *cyoA*, *dnaG*, *grpE*, *mltD*, *mutS*, *rpoS*) в настоящее время превышает 10 000 рублей.

Система MALDI-Biotyper, основанная на использовании времяпролетной масс-спектрометрии является основным физико-химическим методом идентификации микроорганизмов. Особенностью данного метода являются универсальность проводимой процедуры, относительная простота, малое время проведения анализа, а также низкая стоимость одного исследования.

Наиболее информативным методом идентификации патогенных бактерий является полногеномное секвенирование (WGS). ГКПМ-Оболенск проводит исследования на оборудовании Ion Torrent PGM, MiSeq и FLX+. Благодаря высокой производительности и возможностям мультиплексирования образцов стоимость полногеномного секвенирования одного штамма бактерий в настоящее время составляет 30 000 рублей. WGS позволяет получить информацию обо всех генах микроорганизма — факторах вирулентности, филогенетически информативных признаках, маркерах лекарственной устойчивости. Полученный архив ридов в формате FASTQ может быть использован для проведения дальнейших биоинформационных исследований.

ДЛИТЕЛЬНЫЙ ОЧАГ ДИЗЕНТЕРИИ ЗОННЕ С АТИПИЧНЫМ ВОЗБУДИТЕЛЕМ В ДЕТСКОМ ДОМЕ-ИНТЕРНАТЕ ДЛЯ ИНВАЛИДОВ

А.П. Бондаренко¹, Т.А. Зайцева², О.Е. Троценко¹, Т.В. Корита¹, Т.Н. Караваянская², Е.Н. Присяжнюк³, Е.В. Голобокова³, К.Ф. Бобова², А.Т. Подколзин⁴, В.А. Шмыленко¹, И.В. Чишагорова³, Т.Н. Тригорлова³, О.Б. Бондарь³

¹ ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск

² Управление Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, г. Хабаровск

³ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае, г. Хабаровск

⁴ ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

В настоящей работе представлены материалы наблюдения за длительным очагом дизентерии Зонне с контактно-бытовым путем распространения инфекции в детском доме-интернате для инвалидов (ДДИ) в г. Бикине (октябрь 2012 г. — сентябрь 2014 г.).

Эпидемиологический фон в Бикинском районе, предшествовавший возникновению очага, был вполне благоприятным.

В ДДИ размещено 210 подопечных в возрасте от 4-х до 26 лет. Обслуживающий персонал насчитывает 201 человек. Дом-интернат расположен в двухэтажном помещении коридорного типа с полным инженерным обеспечением. В здании расположено 6 спальных корпусов, учебные помещения, медицинский блок. Пищеблок расположен в отдельном

отсеке на 1-м этаже здания. Питание организовано в общей столовой. Раздача пищи, кормление лежащих подопечных в палатах проводят санитарки.

Первые случаи заболеваний с признаками острой кишечной инфекции начали регистрироваться с 20.10.2012 г. в корпусе № 5 (дети от 6 до 14 лет). Число больных нарастало постепенно, максимум случаев зарегистрирован 08.11.2012 г. и 09.11.2012 г. (по 15 случаев в день). Наибольшее число заболевших зарегистрировано в корпусах № 2, 3 и 5, где содержатся дети с тяжелой умственной отсталостью, лежащие и колясочники. В других корпусах наблюдались единичные случаи заболеваний.

Заболевания протекали в три волны. В первую волну (октябрь—декабрь 2012 г.) выявлено 45 бактериологически подтвержденных случаев, в т. ч. трое взрослых из обслуживающего персонала. Во вторую волну (январь—март 2013 г.) выявлено 28 новых бактериовыделителей, в т. ч. одна работница медицинского блока. В третью волну (август—сентябрь 2014 г.) выявлено 8 новых случаев. При этом 7 из восьми заболевших поступили в интернат в конце 2013 г. и в 2014 г. и не были участниками первой и второй волн заболеваний. Всего в ДДИ выявлен 81 первичный бактериовыделитель.

Повторные обследования подопечных ДДИ позволили установить кратность и длительность выделения шигелл от одних и тех же лиц. Так, из 81 бактериовыделителя 30 человек (37,0%) выделяли возбудитель повторно, в т. ч. четырехкратно 4,9% человек. Отмечено длительное, до 2-х (8,6% случаев), 3-х (2,5% случаев) и 4-х месяцев (2,5% случаев), бактериовыделение от одних и тех же больных.

В ходе детального изучения выделенных культур шигелл Зонне было выявлено важное отличительное свойство штаммов: все они были маннитнегативными, т. е. атипичными. На территории Дальнего Востока маннитнегативные возбудители не регистрировались в течение 40 лет наблюдения. Другой особенностью этих штаммов явилось то, что по сочетанию фенотипических маркеров (биохимический вариант, колициногенотип, спектр лекарственной устойчивости) шигеллы Зонне были отнесены к двум клонам:

— Клон SHe E+I (CmTcSm)⁺ — шигеллы Зонне, биохимический тип He, колициногенотип E+I, устойчивые к хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину. Выделен от 54-х человек.

— Клон SHe E+I (CmTcSmAmpCtc)⁺ — шигеллы Зонне, биохимический тип He, колициногенотип E+I, устойчивые к хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину, ампициллину, цефотаксиму. Выделен от 27 человек.

С учетом редкого маннитнегативного признака, объединяющего эти две группы культур, было сделано предположение, что в ходе затяжного течения шигеллезной инфекции в очаге ДДИ произошло преобразование клональной структуры шигелл по фенотипическому признаку. Это предположение было подтверждено при молекулярно-биологическом изучении этих двух фенотипов шигелл методом PFGE. Установлено, что шигеллы Зонне, выделенные в ДДИ, вне зависимости от лекарственных маркеров дифференцируются на два типа с высоким уровнем гомологии, что позволяет расценивать вспышку дизентерии Зонне в ДДИ г. Бикина как очаг с единым возбудителем.

Следует отметить, что в г. Хабаровске в тот же период (август 2012 г.) были зарегистрированы 22 случая дизентерии Зонне, обусловленные тем же маннитнегативным вариантом возбудителя с фенотипическим маркером бикинских штаммов (SHe E+I (CmTcSm)⁺). Хабаровские изоляты при изучении продуктов рестрикции ДНК в пульсирующем электрическом поле (PFGE) были отнесены к отдельному геноварианту, отличающемуся от бикинских культур.

Как следует из материалов литературы (А.А. Яковлев, 2013, 2014), ситуация в ДДИ г. Бикина, когда через 2 года от начала вспышки дизентерии вновь возникли заболевания с идентичным атипичным возбудителем, могла найти объяснение в особенностях развития эпидемического процесса (ЭП), реализуемого вследствие перехода скрытого носительства возбудителя у участников первой и второй волны заболеваний в манифестную форму под воздействием каких-либо факторов риска. Активизация ЭП повлекла за собой групповые заболевания среди неиммунных лиц (третья волна).

Таким образом, в ДДИ г. Бикина в период с октября 2012 г. по сентябрь 2014 г. сформировался длительный очаг дизентерии Зонне, обусловленной маннитнегативным возбудителем, с множественными случаями заболеваний. Вероятный источник инфекции — персонал ДДИ. Путь передачи возбудителя — контактно-бытовой. ЭП поддерживался за счет длительного носительства возбудителя у переболевших и особого контингента подопечных ДДИ.

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ЛИСТЕРИОЗА И ВЫДЕЛЕНИЯ ЛИСТЕРИЙ ИЗ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Л.Г. Боронина, Е.В. Саматова, С.М. Блинова

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Екатеринбург

В РФ листериоз официально регистрируется с 1992 г. — заболеваемость составляет 0,02–0,06 на 100 тыс. человек, что на порядок ниже показателей сопредельных европейских стран, и, следовательно, данные официальной статистики не отражают реального уровня заболеваемости в нашей стране. В Екатеринбурге с 2004 по 2014 гг. выявлено 11 штаммов *Listeria monocytogenes* от 6 пациентов; от матерей: 1 штамм из отделяемого цервикального канала и 1 штамм из плаценты; 1 штамм с ушной складки мертворожденного плода; от 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 на сроке 24 нед. перенесла ОРВИ с синдромом менингизма, другая в 12 нед. и 23–24 нед. — ОРЗ с лихорадкой; на листериоз не обследованы. Подтвержденным случаем острого инвазивного листериоза считается культуральное выделение *L. monocytogenes* из стерильных в норме локусов (кровь, спинномозговая жидкость), в случае мертворождения — из плацентарной или эмбриональной ткани. В продуктах питания, исследуемых на территории Свердловской области в 2009–2013 гг., выделено 89 культур *L. monocytogenes*, до этого выделялись *L. innocua*, *L. gray*. Листерии выделяли из сырых мясных и куриных полуфабрикатов, рыбных продуктов (чаще из малосоленой рыбы), пресервов, охлажден-

ной рыбы. Также были выделены культуры из сосисок «Молочные» в вакуумной упаковке, филе индейки, бекона, а также из очищенного картофеля. Среди патогенных культур, выделенных из объектов окружающей среды в 2011–2013 гг., доля *L. monocytogenes* составляла от 0,7 до 1,2%. Из молочных продуктов *L. monocytogenes* не выделялись.

Беременных женщин не обследуют на листериоз согласно приказу МЗ РФ № 572н от 01.11.2012 г., что обусловлено отсутствием осторожности в отношении листериозной инфекции. И только выделение *L. monocytogenes* от новорожденных позволяет ретроспективно диагностировать листериоз у рожениц. Для преодоления сложившейся ситуации необходимо внести неоднократные обследования беременных на листериоз (с учетом бессимптомного носительства) в нормативные документы наиболее эффективным методом. Приоритет в настоящее время у культурального метода с применением отечественных питательных сред накопления (Омарова С.М., 2007), который позволяет надежно выявить возбудителя, и метод ПЦР.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *A. BAUMANNII*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

А.А. Ботян, В.В. Пугач, Ю.А. Шишпоренок,
В.А. Горбунов, А.В. Давыдов, Л.П. Титов

ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Цель: охарактеризовать карбапенем-резистентные штаммы *A. baumannii*, циркулирующие на территории Республики Беларусь.

Материалы и методы. Проанализирована информация о карбапенем-резистентных штаммах грамотрицательных неферментирующих бактерий *A. baumannii* (меропенем, имипенем, дорипенем), полученная при помощи программы WHONET 5.6. Проведено исследование 53 клинических штаммов *A. baumannii*, резистентных к меропенему, выделенных от пациентов учреждений здравоохранения Республики Беларусь. Чувствительность штаммов *A. baumannii* к антибактериальным препаратам определялась диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтон, методом серийных разведений. Видовая идентификация проводилась на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact.

Результаты. На основании кумулятивных данных за период 2011–2014 гг., полученных при помощи программы WHONET 5.6, клинические штаммы *A. baumannii*, циркулирующие на территории Республики Беларусь, резистентны к меропенему в 79,4% случаев ($n = 7156$), к имипенему — в 75,2% случаев ($n = 11907$) и к дорипенему — в 77,7% случаев ($n = 157$). В ходе исследования 53 меропенем-резистентных клинических штаммов *A. baumannii* было установлено, что наибольшее количество устойчивых к меропенему бактерий было выделено в Могилевской (35%) и Минской областях (28%). Наименьшее количество штаммов было получено из Витебской области (2%). Чаще всего меропенем-устойчивые штаммы *A. baumannii* выделялись от пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) (51%) и ожоговых отделений

(19%). Доминирующие локусы выделения — дренаж (50%), кровь (24%), мокрота (22%). Соотношение дети/взрослые среди пациентов составило примерно 1:4 (18 и 82% соответственно). При этом доля лиц старше 65 лет в общей структуре пациентов составила 28%.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о широком распространении клинических штаммов *A. baumannii*, резистентных к карбапенемам, на территории Республики Беларусь. Наиболее актуальна данная проблема для пациентов ОРИТ и ожоговых отделений. Лица в возрасте старше 65 лет являются одной из групп высокого риска развития инфекционных осложнений, обусловленных карбапенем-резистентными штаммами *A. baumannii*.

ПРОБЛЕМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛЕПТОСПИРОЗОВ

Н.В. Бренёва¹, Е.Ю. Киселева¹, Ю.С. Мусатов²,
О.М. Уткина², Т.В. Громова²

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск

² ФКУЗ Хабаровская противочумная станция Роспотребнадзора, г. Хабаровск

Снижение заболеваемости лептоспирозами в России может быть, кроме других причин, следствием неэффективной диагностики. Основная проблема лабораторной диагностики лептоспирозов в настоящее время заключается в отсутствии зарегистрированных диагностических препаратов отечественного производителя. Вступивший в силу в прошлом году запрет на реализацию незарегистрированных тест-систем для медицинских целей лишил клинические лаборатории возможности использования имеющихся на рынке тест-систем ИФА, РНГА и ПЦР. В этом году Постановлением Правительства № 102 от 5 февраля «Об установлении ограничения допуска отдельных видов медицинских изделий...» фактически запрещено использование импортных питательных сред и тест-систем. Два основных регламентированных метода диагностики лептоспирозов — бактериологический и реакция микроагглютинации (РМА) — связаны с культивированием на питательных средах, так как для РМА используются эталонные штаммы лептоспир. В России питательные среды для культивирования лептоспир не производятся, в мире общепризнанна зарегистрированная для применения на территории РФ специальная синтетическая среда Элленгаузена–МакКалоха в модификации Джонсона–Харриса (ЕМЖН), основными производителями которой выступают «Becton Dickinson» (США) и «HiMedia» (Индия). Возникает принципиальный вопрос о разрешении дальнейшего использования импортной ЕМЖН, так как разработка и регистрация отечественных аналогов питательных сред займет значительное время. Наиболее простой и быстрый вариант стандартизации сывороточной среды на настоящий момент — регистрация и производство буферной основы и использование в качестве питательной добавки имеющейся на рынке промышленной фетальной сыворотки. Модификация среды Ферворта–Вольфа с заменой нормальной кроличьей сыворотки на фетальную успешно апробирована в лаборатории ФКУЗ Хабаровская противочумная станция Роспотребнадзора.

Очевидны две основные задачи для обеспечения минимального эффективного уровня диагностики лептоспирозов: 1) в возможно более короткие сроки наладить выпуск отечественных питательных сред для культивирования лептоспир; 2) форсировать регистрацию уже разработанных и имеющихся на медицинском рынке экспрессных тест-систем ПЦР, РНГА и ИФА, так как классические методы РМА и бактериологического анализа доступны только в специализированных лабораториях, трудоемки, длительны по времени и обеспечивают исключительно ретроспективную диагностику.

РЕЗУЛЬТАТЫ НАДЗОРА ЗА ПОЛИОМИЕЛИТОМ И ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Н.М. Варгина¹, Ю.В. Храмова¹, Т.Б. Уголькова¹, В.М. Клещукова¹, О.В. Дегтярёв¹

¹ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

Проведение обследования детей (здоровых и больных с подозрением на инфекцию и контактных из очагов серозного менингита), а также исследование фекально-бытовых сточных вод на полиовирусы (Р1, Р2, Р3) и другие энтеровирусы в 2013–2015 гг.

Лабораторией ООиВИ было выполнено 1068 исследований вирусологическим и серологическим методами на полиовирусы и другие НПЭВ.

Результаты. Различные энтеровирусы (всего 35 штаммов) выделялись от больных, контактных в очагах и здоровых лиц. Выделенные энтеровирусы идентифицированы как Коксаки В (В1 — 2 штамма; В4 — 4 штамма; В5 — 1 штамм; В6 — 1 штамм), ЕСНО: серотипы — 11 (2 штамма); 13 (2 штамма); 30 (16 штаммов), энтеровирусы двух серотипов 68 (1 штамм) и 70 (2 штамма), а также нетипируемые 4 штамма НПЭВ. В 2015 г. была зарегистрирована вспышка серозного менингита среди детей. Высокая восприимчивость неиммунных лиц способствовала формированию групповых очагов в организованных детских коллективах, что особенно актуально в период подготовки к новому учебному году. Очагов с двумя и более случаями, летальных исходов от серозного менингита энтеровирусной этиологии не зарегистрировано. Тем не менее, сохраняется риск завоза инфекции из неблагополучных районов РФ. Вместе с тем, в Санкт-Петербурге в конце июля 2013 г. наметилась тенденция к увеличению регистрации случаев энтеровирусной инфекции, связанная с началом сезонного подъема заболеваемости, в т. ч. серозных менингитов. В 2013 г. при расшифровке вспышки серозного менингита в организованном коллективе от всех обследованных заболевших детей был выделен энтеровирус ЕСНО 30. Впервые в 2013 г. с профилактической целью обследовали здоровых детей на энтеровирусную инфекцию. Вирусологическим методом от 2-х из 105 детей, из организованных коллективов выделены вакцинные штаммы полиовируса 1 и 2 типов, от одного ребенка — энтеровирус ЕСНО 6. Ежегодно в 2013–2015 гг. с целью надзора проводили исследование 135–137 проб сточной воды. В 2015 г. были выделены 6 штаммов энтеровирусов (4,4%), в т. ч. 3 штамма полиовирусов Sabin 1, 2 и 3 типов, 2 штамма Коксаки В, ЕСНО 30 — 1 штамм.

Эпидемиологическая значимость энтеровирусной (неполио) инфекции определяется высокой кон-

тагиозностью, широким распространением возбудителей в объектах внешней среды, возникновением вспышечной заболеваемости, отсутствием средств специфической профилактики, большим числом возбудителей, вызывающих полиморфизм клинических проявлений, возможностью тяжелых последствий вплоть до летальных исходов.

ОЦЕНКА МИКРОБНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА ПОМЕЩЕНИЙ УЧЕБНЫХ КЛАССОВ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ ИМЕНИ С.М. КИРОВА

С.В. Волобуев^{1,2}, Е.В. Богомолова¹, В.Б. Сбойчаков²

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

² Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Цель работы — анализ общей микробной загрязненности и заражения плесневыми грибами воздуха учебных классов ВМедА разными методами, до и после проведения занятий в данных помещениях. Информация может быть полезна для разработки стандартных подходов к профилактической санации такого рода помещений. Отбор проб для исследования проводился в пяти помещениях классов, а также коридоров и улицы (контроль). Отбирали пробы воздуха методом седиментации и при помощи автоматического пробоотборника ПУ-1Б на агаризованные среды МПА и Чапека, до и после занятий в классах. Оценивали показатель ОМЧ — общего микробного числа (грибов и бактерий) и отдельно — численность плесневых грибов и дрожжей. Установлено, что численность микроорганизмов, выявленная методом седиментации, показывает значительный разброс в пределах одного помещения, тогда как отбор автоматическим пробоотборником дает более равномерные результаты. Численность грибов составляла в среднем 75–80 КОЕ (колониеобразующих единиц) на 1 м³ воздуха, однако разброс значений составляет от нулевых и единичных до нескольких сотен КОЕ на 1 м³. Значения ОМЧ варьировали в пределах 273–1172 КОЕ на 1 м³. Наиболее зараженным оказался воздух коридоров после занятий (в среднем 973 КОЕ на 1 м³). Метод седиментации используется многими зарубежными авторами не только для оценки микробной обсемененности воздуха, но также и для оценки скорости оседания КОЕ микроорганизмов на различные поверхности в помещениях. Так, соответствующий стандарт Великобритании подразумевает для ультрачистых помещений концентрацию микроорганизмов 10 КОЕ на 1 м³ воздуха и скорость обсеменения поверхности — не более 350 КОЕ/м²/ч, измеряемую методом седиментации. Известно, что уровни обсемененности воздуха и поверхностей не всегда коррелируют между собой. Учитывая полученные нами результаты с высоким разбросом значений КОЕ, полученных методом седиментации, можно сказать, что данный метод дополняет информацию, получаемую при оценке качества воздуха путем автоматических пробоотборников. Метод седиментации позволяет оценивать скорость загрязнения поверхностей и на основе этого планировать частоту и интенсивность мероприятий по санации поверхностей в общественных помещениях.

Таким образом, можно рекомендовать разработать и внедрить регламент проведения saniрующих обработок в общественно значимых помещениях

на основании данных микробиологического мониторинга, который следует проводить как минимум двумя методами — автоматическим пробоотборником (для оценки качества вдыхаемого человеком воздуха) и методом седиментации (для оценки скорости обсеменения поверхностей).

ВЫДЕЛЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПАТОГЕННЫХ ЭШЕРИХИЙ И КЛЕБСИЕЛЛ

Н.В. Воложанцев, В.П. Мякинина, В.В. Веревкин, Е.В. Комисарова, В.М. Красильникова, Е.А. Денисенко, А.А. Кисличкина, Э.А. Светоч

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболensk, Московская область

К концу XX века, наряду с глобальной проблемой устойчивости микроорганизмов к антибиотикам возникла тревожная тенденция возрастания числа эмерджентных инфекционных заболеваний с необычными проявлениями, вызываемых новыми бактериальными штаммами с ранее не описанными свойствами. Типичными представителями таких бактерий являются шига-токсин-продуцирующие эшерихии серотипов O157:H7 и O104:H4 (возбудители геморрагического колита с гемолитико-уремическим синдромом), а также высоковирулентные гипермукоидные штаммы *Klebsiella pneumoniae* (возбудители внебольничных инфекций, характеризующихся развитием первичных абсцессов печени с метастазированием в другие органы и ткани).

В системе противэпидемических мероприятий, направленных на выявление и предупреждение распространения возбудителей эмерджентных инфекций, позитивную роль могут сыграть литические бактериофаги.

Целью наших исследований является выделение и молекулярно-генетическая характеристика бактериофагов, специфичных для представителей шига-токсин-продуцирующих *E. coli* серогрупп O157, O104 и гипервирулентных (гипермукоидных) штаммов *K. pneumoniae* капсульных типов K1 и K2.

Изучены свойства двух бактериофагов семейства *Myoviridae*, строго специфичных для бактерий *E. coli* серогруппы O157 и миофага, инфицирующего эшерихии серогруппы O104, а также некоторые штаммы других клинически значимых эшерихий и шигелл. Бактериофаги охарактеризованы по морфологии негативных колоний, спектру литического действия, параметрам инфекционного процесса (время адсорбции, единичный цикл развития); определены полные нуклеотидные последовательности фаговых геномов. O157-специфичные бактериофаги предлагается использовать в качестве дополнительного средства для идентификации бактерий *E. coli* серогруппы O157 при проведении бактериологического анализа клинических образцов.

Выделены и охарактеризованы пять бактериофагов семейства *Podoviridae*, подсемейства *Autographivirinae*, рода *Phikmvlikevirus*, специфически инфицирующие *K. pneumoniae* капсульного типа K1, и два фага семейства *Myoviridae*, специфичные для *K. pneumoniae* K2-типа. Определены полные нуклеотидные последовательности геномов бактериофагов. В геномах исследуемых фагов выявлены гены хвостовых структур с предполагаемым доменом полисахарид-деполимеразы. K-специфичные бактериофаги и фаговые депо-

лимеразы, обладающие строгой специфичностью к определенным капсульным полисахаридам, предлагается использовать для идентификации *K. pneumoniae* разных капсульных типов и, в частности, идентификации *K. pneumoniae* K1- и K2-типов, являющихся наиболее вирулентными для человека патогенами.

СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ *Mycobacterium tuberculosis* НА ТЕРРИТОРИИ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

А.А. Вязовая¹, Н.С. Соловьева², Г.М. Ахмедова³, Е.Н. Туркин³, А.А. Герасимова¹, И.В. Мокроусов¹, В.Ю. Журавлев², О.В. Нарвская^{1,2}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург

³ ГБУЗ Противотуберкулезный диспансер Калининградской области, г. Калининград

Возбудителем туберкулеза являются бактерии *Mycobacterium tuberculosis* complex и непосредственно *M. tuberculosis*. Территориально неоднородные популяции *M. tuberculosis* представлены штаммами, которые различаются по профилю лекарственной чувствительности к противотуберкулезным препаратам и генотипу. В этой связи представляет интерес структура популяции возбудителя туберкулеза в Калининградской области, которая, не имея общей сухопутной границы, соединена с основной территорией России Балтийским морем на западе; на юге граничит с Польшей, на севере и востоке — с Литвой. Несмотря на серьезное снижение уровня заболеваемости, в Калининградской области продолжают регистрировать случаи смерти от туберкулеза (48 из 500 больных в 2015 г.).

Целью исследования была генотипическая характеристика 93 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в противотуберкулезном диспансере Калининградской области в 2015 г. от больных, в основном, инфильтративным (57%) и диссеминированным (21,5%) туберкулезом легких (68 мужчин и 25 женщин в возрасте 21–86 лет). Трое больных умерли от ВИЧ-инфекции.

Методом ПЦР была выявлена специфическая вставка элемента IS6110 в локусе генома *dnaA-dnaN* и определена принадлежность к генотипу Beijing 61 штамма *M. tuberculosis*. Из них 22 (36%) штамма, с помощью мультиплексной ПЦР, отнесены к кластеру B0/W148. Штаммы кластера B0/W148 обладали множественной лекарственной устойчивостью (за исключением одного полирезистентного). Исследование структуры хромосомы *M. tuberculosis* в области прямых повторов (Direct Repeats, DR) 32 изолятов non-Beijing и 7 штаммов Beijing с помощью сполитипирования позволило выделить 15 сполитипов, представленных 6 генетическими семействами. Наиболее часто встречаемыми сполитипами среди штаммов non-Beijing были SIT53 (n = 8), SIT42 (n = 7) и SIT444 (n = 3).

В Калининградской области представители семейства *M. tuberculosis* преобладали представители семейства Beijing (65,6%), при этом большинство (83,3%) штаммов были мультирезистентны. У штаммов *M. tuberculosis* non-Beijing (53,1% обладали лекарственной чувствительностью) наиболее распространенными были генотипы T (40%) и LAM (36,7%).

ОБНАРУЖЕНИЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В СМЫВАХ ИЗ ЗЕВА И НОСА У ДЕКРЕТИРОВАННОГО КОНТИНГЕНТА ПРИ УСТРОЙСТВЕ НА РАБОТУ В 2013–2015 гг. В ЛУЖСКОМ РАЙОНЕ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

О.С. Герасимова, О.Е. Самсонова, Н.П. Андреева

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Лужском районе

Введение. *S. aureus* условно-патогенный микроорганизм, распространен повсеместно, часто входит в состав микрофлоры человека. Обычно колонизирует носовые ходы, кожные покровы, кишечник. Микроорганизм достаточно устойчив во внешней среде. Хорошо переносит высушивание, сохраняя вирулентность, устойчив к нагреванию — при 150°C погибает за 10 мин, сухой жар убивает их за 2 ч. Активное размножение *S. aureus* возможно в диапазоне температур 8–43°C. В настоящее время большая часть популяции *S. aureus*, особенно в госпитальных условиях, обладает устойчивостью к противомикробным препаратам. *S. aureus* опасен возникновением гнойно-воспалительных процессов, вызывает пищевые отравления. Способностью вызывать интоксикацию обладают штаммы *S. aureus*, продуцирующие энтеротоксин. Для возникновения пищевого отравления достаточна концентрация микроорганизма 10³ клеток/г, через 2–3 ч продукт опасен для употребления. Приказом Минздравсоцразвития России № 302 от 2011 г. определено обязательное обследование лиц, поступающих на работу, связанную с продуктами питания и медицинской деятельностью на носительство *S. aureus*.

Цель работы: обследование лиц поступающих на работу, связанную с продуктами питания и медицинской деятельностью на носительство *S. aureus* с количественной характеристикой в течение 2013–2015 гг.

Материалы и методы. Лабораторные исследования биоматериала (слизи) из зева и носовых ходов классическим бактериологическим методом за 2013–2015 гг.

Результаты. Всего обследовано за 2013–2015 гг. 2255 лиц (4510 исследований), по 2 исследования от каждого лица (зев-нос). Из числа обследованных лиц у 584 человек выделен золотистый стафилококк, в т. ч. у 143 — из зева и носа.

За три года выделено 727 культур *S. aureus*. По массивности обсеменения слизистой у обследованных, количество *S. aureus* распределились следующим образом: 10¹ КОЕ/тампон — 105 выделений (14,4%); 10² КОЕ/тампон — 265 (36,5%); 10³ КОЕ/тампон — 236 (32,5%); 10⁴ КОЕ/тампон — 121 (16,6%). На сегодняшний день нет нормативных документов, оценивающих количество выделенных *S. aureus* у носителей и определяющих их дальнейшие перспективы при устройстве на работу. Не существует и критериев этого показателя, учитывая, что данный микроорганизм является условно-патогенным. Выделители 10¹–10² КОЕ/тампон и 10³–10⁴ КОЕ/тампон, несмотря на разную опасность для окружающих, подлежат одинаковым ограничениям при трудоустройстве.

Заключение. Необходимо рассмотреть вопрос о целенаправленности при обследовании на носительство золотистого стафилококка декретированного контингента людей при устройстве на работу, связанной с пищевыми продуктами. Разработать ко-

личественные показатели при выполнении данной работы, для рассмотрения дальнейших профилактических мероприятий: санации лиц с выделением *S. aureus* или допуска на работу без ограничений, как не представляющих потенциальную опасность при работе с пищевыми продуктами.

МИКОГЕННАЯ КОНТАМИНАЦИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ИМПОРТНОЙ ПЛОДОВООВОЩНОЙ ПРОДУКЦИИ

Н.И. Глушко, Е.В. Халдева, С.А. Лисовская, В.Р. Паршаков

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань

Плодовоовощная продукция является естественным резервуаром микроскопических грибов. Помимо фитопатогенных, на поверхности фруктов и овощей могут присутствовать разнообразные виды условно-патогенных и аллергенных грибов, способные негативно влиять на организм человека. Увеличение поставок плодовоовощной продукции из различных стран, в т. ч. и с неблагоприятной санитарно-эпидемиологической обстановкой, придает актуальность изучению их микогенной контаминации.

Цель работы: определение состава микобиоты на поверхности овощей и фруктов.

Материалы и методы. Проводили культуральное исследование смывов с поверхности томатов, огурцов и цитрусовых (апельсины, мандарины), которые приобретались в течение года с периодичностью 1 месяц.

Результаты. Исследование томатов, выращенных в России (Казань) выявило присутствие фитопатогенных грибов только в октябре, а основными контаминантами являлись *Candida* spp. и *Rhodotorula mucilaginosa*, условно-патогенный вид *Aspergillus terreus* и аллергенные виды *Rhizopus nigricans*, *Alternaria alternata*, *Penicillium chrysogenum*. На импортных томатах (Узбекистан, Азербайджан, Марокко) выявлены условно-патогенные (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Paecilomyces* spp.), а также фитопатогенные виды (*Alternaria solani*, *Ascochyta lycopersici*, *Verticillium* spp.). В случае огурцов, независимо от страны-производителя, основными фитопатогенами являлись *Ascochyta cucumerium*, *Pythium aphanidermatum* и *Fusarium* spp., реже встречались *Chrysosporium panorum*, *Botrytis cinerea* и *Colletotrichum* spp. Условно-патогенные виды (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*) выявлены в 41,2% проб, дрожжеподобные (*Candida* spp., *Rhodotorula mucilaginosa*) — в 47%. Аллергенные виды на огурцах представлены *Rhizopus nigricans*, *Alternaria alternata*, а также *Cladosporium* spp. Исследование цитрусовых показало, что, в зависимости от страны-производителя основными фитопатогенами являются *Penicillium italicum* (Абхазия, Израиль) и *Alternaria citri* (Египет, Марокко). Условно-патогенные виды *Aspergillus niger* и *A. flavus* выявлены в 30,8% проб, а аллергенные — в 23% проб. Изучение сезонного изменения грибковой контаминации показало, что количество грибов уменьшалось с сентября по декабрь, затем вновь возрастало, достигая максимума в начале марта.

Заключение. Контроль микогенной контаминации плодовоовощной продукции и соблюдение санитарно-гигиенических норм позволит снизить риск распространения, в т. ч. нехарактерных для нашей страны видов грибов, с выраженными аллергенными и патогенными свойствами.

МОНИТОРИНГ САЛЬМОНЕЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ОТКРЫТЫХ ВОДОЕМАХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В 2010–2015 гг.

Т.А. Гречанинова¹, Н.С. Григорьева¹, Е.В. Кича¹,
Н.В. Черепанова¹, Л.А. Кафтырева²

¹ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии
в г. Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

В 2010–2015 гг. заболеваемость сальмонеллезами в Санкт-Петербурге была выше среднереспубликанского уровня. Известно, что бактерии рода *Salmonella* являются бипатогенными бактериями, которые вызывают заболевания человека, различных животных и птиц. Находки сальмонелл в пробах воды открытых водоемов, в которой они могут оставаться жизнеспособными до пяти месяцев, отражают циркуляцию сальмонелл на каждой конкретной территории в природе, объектах внешней среды, основных источниках — животных (сельскохозяйственных и диких), в меньшей степени — у человека. В Санкт-Петербурге ежегодно выделяют штаммы сальмонелл из проб воды открытых водоемов. За последние шесть лет (2010–2015 гг.) проведено более 2000 исследований. Доля ежегодных положительных находок сальмонелл составляла от 0,5% (2014 г.) до 1,5% (2015 г.). Выделенные сальмонеллы принадлежали к 15 серологическим вариантам основных серогрупп В, С, Д и Е. Все идентифицированные сальмонеллы разных сероваров водного происхождения с той или иной частотой выделялись как от людей, так и из пищевых продуктов животного происхождения. По суммарным данным ежегодно и с наибольшей частотой в пробах воды обнаруживались три серовара (78,8%): *S. Typhimurium* — 33,1%, *S. Enteritidis* — 27,9%, *S. Infantis* — 17,8%, но в разные годы их ранговое положение менялось: 2010 г. — лидировали *S. Enteritidis* — 27,9% (34,8%), 2011–2012 гг. — *S. Typhimurium* (65,0 и 26,3% соответственно), 2013 г. — *S. Infantis* не обнаруживались, а *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis* выделялись практически с одинаковой частотой — 25%, третьим сероваром был *S. Isangi* (18,8%), в 2014–2015 гг. — *S. Enteritidis*. По данным эпидемиологического расследования спорадических и групповых случаев заболеваемости, факторами передачи при сальмонеллезах, вызванных тремя вышеперечисленными сероварами, были и остаются продукты промышленного птицеводства (мясо птицы, яйцо, яйцопродукты). Такое проявление эпидемиологического процесса сальмонеллезной инфекции характерно для многих административных территорий РФ. Находки сальмонелл десяти сероваров были единичными, эпизодическими в течение шести лет: *S. Agona* (В), *S. Schwarzengrund* (В), *S. Bredeney* (В), *S. Stanley* (В), *S. Bovis-morbificans* (С), *S. Montevideo* (С), *S. Amsterdam* (Е), *S. Give* (Е), *S. Lexington* (Е), *S. London* (Е). Тем не менее, в сумме на них приходилось почти 10%. По данным литературы большая часть этих сероваров были способны вызывать крупные пищевые вспышки.

ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ, РЕАЛИЗУЕМОЙ НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА БАРНАУЛА

Т.И. Губарева, Е.Н. Волокитина

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае,
г. Барнаул

Безопасность пищевых продуктов — состоятельное обоснованной уверенности в том, что пищевые

продукты при обычных условиях их использования не являются вредными и не представляют опасности для здоровья нынешнего и будущих поколений. Удовлетворение потребностей в высококачественных продуктах питания — одна из основных социально-экономических проблем сегодняшнего дня.

Одним из основных показателей деятельности бактериологической лаборатории является высеваемость патогенной микрофлоры.

В течении трех лет 2014–2016 гг. контролировалось наличие патогенной микрофлоры в пищевых продуктах, которые исследовались на соответствие Техническим регламентам и действующим санитарным правилам.

За данный период на патогенную микрофлору было всего исследовано 41 176 проб пищевых продуктов (2014 г. — 18 326, 2015 г. — 15 210, 5 месяцев 2016 г. — 7640). Исследования были выполнены в соответствии ГОСТ 31659-2012, ГОСТ 32031-2012.

В 2014 г. обнаружено 38 культур патогенных микроорганизмов: *L. monocytogenes* — 19 культур, *Salmonella* группы С1 — 8 культур, *Salmonella* группы В — 7 культур, *Salmonella* группы Д — 4 культуры (в пельменях, мясных полуфабрикатах, рыбных пресервах, яичном порошке).

В 2015 г. обнаружено 22 культур патогенных микроорганизмов: *L. monocytogenes* — 8 культур, *Salmonella* группы С1 — 8 культур, *Salmonella* группы В — 4 культуры, *Salmonella* группы Д — 2 культуры (в мясных субпродуктах, тушке цыпленка, ногах свиных, колбасе, желудках куриных, бедре курином, фарше, пельменях, котлетах, зразях, филе курином, окорочке курином, эскалопе, грудинке свиной).

За 5 месяцев 2016 г. было обнаружено 10 культур: 1 культура *L. monocytogenes*, *Salmonella* группы С1 — 4 культуры, *Salmonella* группа Д1 — 4 культуры, *Salmonella* редких групп — 1 культура (в грудке куриной, пельменях, окорочке, свинине духовой, мясе курином, филе курином, котлетах).

Из приведенной выше информации видно, что в 0,17% проб пищевых продуктов обнаружена патогенная микрофлора и наибольшее ее количество приходится на мясные и куриные полуфабрикаты. Полученные результаты постоянно используются для проведения мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ В ОЧАГАХ ГРУППОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПО ВЫЯВЛЕНИЮ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2014–2015 гг.

Т.Е. Демакова¹, Ч.Б. Улуханов¹, С.Е. Тамбовцев¹,
Е.В. Егорова¹, О.А. Волосевич¹, Е.М. Козлова¹,
Г.Н. Папченко¹, М.А. Макарова²

¹ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии
в г. Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

Введение. В Санкт-Петербурге сохраняется высокий уровень общей заболеваемости ОКИ, превышающий уровень РФ в 1,5–2 раза. Этиологическая расшифровка ОКИ у больных варьирует от 20 до 70%, что осложняет проведение целенаправленных мер профилактики. Особенностью расшифрованных ОКИ является преобладание вирусных патогенов над бактериальными более чем в 10 раз.

Цель: анализ результатов исследований в очагах групповой заболеваемости ОКИ по выявлению вирусных возбудителей ОКИ в группе контактных лиц.

Материалы и методы. Материалом для исследований служили фекалии, полученные от контактных, декретированного персонала и лиц, предполагаемых в качестве источников инфицирования, в очагах групповой заболеваемости ОКИ в Санкт-Петербурге в 2014 г. (578 проб) и в 2015 г. (740 проб). Выполнено исследование материала, полученного от 578 человек в 2014 г. и от 740 — в 2015 г. Применяли метод ОТ-ПЦР в режиме «реального времени».

Результаты. Групповая заболеваемость чаще регистрировались в организованных детских коллективах, образовательных учреждениях и на предприятиях общественного питания. В 2014 г. было обследовано 13 очагов, в 2015 г. — 29; возбудители вирусных ОКИ выявлены в 12 (92,3%) и 22 (75,9%) очагах соответственно. В остальных очагах этиологическим фактором явились сальмонеллы, эшерихии и иерсинии. У 173 человек в 2014 г. и у 219 человек в 2015 г. детектированы РНК ротавирусов, норовирусов и/или астровирусов, что составило 29,9 и 29,6% положительных находок соответственно. В структуре вирусных ОКИ в 2014 г. доминировал норовирус 2 генотипа (97,1%); ротавирусы группы А были детектированы у 1 человека (0,6%), астровирусы — у 4 человек (2,3%). В 2015 г. структура изменилась: наряду с норовирусами (44,8%), возросла доля положительных находок ротавирусов до 47,0%; астровирусы обнаружены в 1,8% и в 6,4% определены вирусные микст-инфекции.

Выводы. При увеличении числа обследованных очагов и объема исследований более чем в 2 раза, доля возбудителей вирусных ОКИ сохранялась на одном уровне: 29,6–29,9%. Этиологический мониторинг синдромально сходной группы заболеваний — ОКИ вирусной этиологии показал, что в формировании эпидемических очагов в Санкт-Петербурге в 2014–2015 гг. ведущими возбудителями были норовирусы 2 генотипа и ротавирусы группы А; астровирусы детектировались в единичных случаях. Применение метода ПЦР и мультиплексных тест-систем позволило в короткие сроки детектировать возбудителей ОКИ вирусной и бактериальной этиологии.

КАРБАПЕНЕАЗЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫЕ ШТАММАМИ *K. PNEUMONIAE* — ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ИСМП В СТАЦИОНАРАХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

С.А. Егорова¹, Л.В. Липская², И.Б. Коноваленко³, Е.В. Оксема³, М.В. Смирнова⁴, Н.Б. Ведерникова⁵, М.Ф. Пясецкая⁶, О.Т. Морозова⁷, О.В. Полухина⁸, Л.А. Кафтырева¹

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² Городская больница № 40, Санкт-Петербург

³ Городская больница № 31, Санкт-Петербург

⁴ Городская Мариинская больница, Санкт-Петербург

⁵ Городская больница святого великомученика Георгия, Санкт-Петербург

⁶ Детская городская клиническая больница № 5 имени Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург

⁷ Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург

⁸ ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий МЗ РФ, Санкт-Петербург

Развитие современных медицинских технологий повышает качество оказания медицинской помощи

в стационарах. В то же время, широкое использование диагностических и лечебных инвазивных процедур сопровождается риском развития инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Широкое использование антимикробных препаратов в условиях стационара приводит к селекции и распространению резистентных штаммов возбудителей ИСМП. В настоящее время для стационаров Санкт-Петербурга актуальна проблема циркуляции возбудителей (*Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.), обладающих устойчивостью к группе наиболее эффективных антимикробных препаратов — карбапенемам.

В 2016 г. изучены механизмы резистентности к карбапенемам у 109 нечувствительных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в 2014–2016 гг. в семи стационарах Санкт-Петербурга из клинического материала госпитализированных пациентов. Проведенные исследования выявили продукцию карбапенемаз различных классов: у 81 штамма *K. pneumoniae* выявлена продукция металло-бета-лактамазы NDM, у 3 штаммов — карбапенемазы KPC, у 13 штаммов — карбапенемазы OXA-48; у 12 штаммов известные гены карбапенемаз (VIM, IMP, NDM, KPC и OXA-48) не выявлены, исследование продолжается.

В настоящее время резистентность возбудителей ИСМП к карбапенемам в стационарах Санкт-Петербурга создает угрозу для здоровья госпитализированных пациентов. Более 70,0% изученных штаммов *K. pneumoniae* продуцируют металло-бета-лактамазу NDM, обуславливающую высокий уровень устойчивости ко всем карбапенемам. Кодированные гены расположены на мобильных генетических элементах, способных к быстрому распространению в условиях стационара. Микробиологический мониторинг должен охватывать не только спектр ведущих микроорганизмов, но и молекулярную характеристику механизмов резистентности к клинически значимым антибиотикам. Выявление карбапенемаз является необходимым условием обеспечения инфекционного контроля и практики рационального использования антибиотиков в стационарах. Профилактика распространения штаммов-продуцентов карбапенемаз в стационаре основана на выявлении носителей и устранении факторов, способствующих селекции и распространению резистентных микроорганизмов. Успешное решение этих задач требует тесного сотрудничества специалистов различного профиля (бактериологов, фармакологов, эпидемиологов), а также оснащения лабораторий современным оборудованием для молекулярно-генетических исследований.

МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ФТОРХИНОЛОНАМ И ЦЕФАЛОСПОРИНАМ ШТАММОВ *SALMONELLA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2014–2016 гг.

С.А. Егорова¹, Л.А. Кафтырева¹, Е.В. Войтенкова¹, Е.В. Смирнова², Н.В. Толузакова², С.А. Черткова²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург, филиал № 4, Санкт-Петербург

В качестве препаратов для эмпирической терапии тяжелых, генерализованных и осложненных форм сальмонеллезов у взрослых наиболее часто используются хинолоны (налиндиксовая кислота, ци-

профлюксацин), у детей — цефалоспорины расширенного спектра (ЦРС) (цефотаксим, цефтриаксон, цефиксим и др.).

Исследования, проведенные в 2014–2016 гг. по изучению чувствительности штаммов *Salmonella*, выделенных от жителей Санкт-Петербурга (378 штаммов), к антимикробным препаратам (АМП) показали, что чувствительность к антибиотикам сохраняли 25,4% штаммов, устойчивости к I и более классу отмечена у 74,6% штаммов. Более половины изученных штаммов *Salmonella* (59,0%) характеризовались устойчивостью к хинолонам, наиболее характерна такая резистентность для штаммов сероваров *S. Enteritidis* и *S. Infantis* (66,7 и 88,2% соответственно). Молекулярно-генетические исследования показали, что резистентность была обусловлена хромосомными мутациями в гене *gyrA*: Ser83Phe и Asp87Gly у штаммов *S. Enteritidis*, Asp87Tyr у штаммов *S. Infantis*. В ходе исследования выявлено около 3,0% штаммов, устойчивых к ЦРС (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Coeln*), продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра генетического семейства СТХ-М генетических групп СТХ-М1, -2, -9. Около 15,0% штаммов обладали множественной устойчивостью к АМП (3 и более класса), наиболее характерна такая резистентность для сероваров *S. Typhimurium* и *S. Infantis* (65,4 и 82,4% соответственно).

В настоящее время в популяции *Salmonella* выявлена устойчивость к препаратам, рекомендованным для лечения сальмонеллезов: около 60,0% штаммов устойчивы к фторхинолонам, появились штаммы, устойчивые к цефалоспорином 3–4 поколения. Приобретение штаммами возбудителя механизмов резистентности к современным эффективным и безопасным АМП, развивающейся на фоне утраты чувствительности сальмонелл к «старым» антибиотикам (ампициллин, хлорамфеникол, котримоксазол), значительно ограничивает выбор этиотропной терапии.

ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ЛАТЕКСНЫЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Б.В. Ерусланов, Э.А. Светоч, В.А. Баннов, Е.В. Мицевич, И.П. Мицевич, Н.К. Фурсова, Н.И. Ажермачева, М.В. Храмов, А.П. Шепелин

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболensk, Московская область

Диагностические латексные тест-системы используются в микробиологической практике для первичной идентификации бактериальных патогенов из исследуемого материала, а также в качестве инструмента контроля при работе с микроорганизмами. Они характеризуются простотой и быстротой постановки реакции, не требуют наличия сложной аппаратуры, достаточно специфичны (> 95%) и чувствительны (> 85%), могут быть использованы в полевых условиях.

На мировом рынке представлены десятки латексных тест-систем (Oxoid, BioRad, bioMerieux и др.) для идентификации большой группы патогенов. В РФ разработка и производство аналогичных диагностических систем находится на начальном этапе.

В ФБУН ГНЦ ПМБ в последние годы разработаны, прошли государственную регистрацию, производятся и реализуются на рынке антителные латексные тест-системы для идентификации *Legionella*

pneumophila серотипа 1 (специфическая мишень — основной мембранный белок p29), *Listeria monocytogenes* (специфическая мишень — белок внешней мембраны p60), шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli* серотипов O157:H7 и O104:H4 (специфические мишени — липополисахариды O157 и O104 и жгутиковые антигены H7 и H4). Зарегистрирована и начата коммерческая реализация диагностической латексной тест-системы для идентификации возбудителей гнойных менингитов: *Haemophilus influenzae* тип b, *Streptococcus pneumoniae* и *Neisseria meningitidis* типов A, B, C и W135, которая может быть использована для обнаружения возбудителей в спинномозговой жидкости, крови и моче при концентрации возбудителей не менее 10⁵ КОЕ/мл или при анализе подозрительных колоний микроорганизмов, выделенных из исследуемых образцов. Специфическими мишенями тест-системы являются полисахаридные антигены капсул возбудителей гнойных бактериальных менингитов.

Созданы комплексные тест-системы для идентификации *Listeria monocytogenes* и *Escherichia coli* O157:H7 в продуктах питания и клиническом материале, позволяющие получить ответ на наличие возбудителя через 3–5 ч. Системы состоят из двух компонентов: латексной иммуномагнитной системы и ПЦР тест-системы, что существенно увеличивает чувствительность диагностикума (~10³ КОЕ/мл) и его специфичность.

Разработаны и проходят испытания две антигенные латексные тест-системы для серологической диагностики лептоспироза у сельскохозяйственных и домашних животных и сальмонеллеза у промышленной птицы.

Наш опыт по разработке и регистрации диагностических латексных тест-систем свидетельствует о реальной возможности в короткие сроки разработать и поставить на производство в РФ необходимые для медицины латексные и комплексные тест-системы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В Г. КЕМЕРОВО

А.Р. Ефимова^{1,2}, О.М. Дроздова², С.А. Рудакова³

¹ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Кемеровской области, г. Кемерово

² ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово

³ ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, г. Омск

Обширные территории РФ являются ареалом клещей *Ixodes persulcatus* — основного переносчика вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), патогенных для человека боррелий, риккетсий, анаплазм, эрлихий, бартоanelл, бабезий и характеризуются сочетанностью природных очагов трансмиссивных инфекций. Несмотря на внедрение передовых технологий лабораторной диагностики, верифицируется лишь часть клещевых инфекций (КИ).

До 2015 г. около 43% КИ, выявленных у населения г. Кемерово, оставались не расшифрованными. Структура КИ была представлена клещевым энцефалитом (КЭ) и иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ), в отдельные годы регистрировали единичные случаи клещевого сыпного тифа. Микстинфекции диагностировали редко (2,0%). В структуре заболеваемости преобладал ИКБ (43,0%).

Для уточнения этиологии КИ в 2015 г. были исследованы 422 сыворотки крови от пациентов с лихорадкой и присасыванием клещей в анамнезе, и 99 суспензий клещей, снятых с населения г. Кемерово. Суспензии и сыворотки были исследованы на наличие генома и антител к возбудителям КЭ, ИКБ, гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) на базе ФБУН Омского НИИ природно-очаговых инфекций. Иммуноферментный метод использован для обнаружения IgM и IgG к возбудителям КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ и антигена ВКЭ в суспензиях с помощью тест-систем ООО «Омникс» и ЗАО «Вектор-Бест». Полимеразная цепная реакция применена для идентификации боррелий, эрлихий и анаплазм в клещевых суспензиях с применением тест-систем «Интерлабсервис» (ЦНИИЭиМ, Москва).

В результате проведенных исследований удалось расшифровать 69% КИ. В структуре выявленных антител большую часть (44,0%) составили антитела к боррелиям. У третьей части выявлены антитела к вирусу КЭ (29,0%), у 26% — к анаплазмам. Антитела к эрлихиям обнаружены у 1% заболевших и только в сочетании с ИКБ.

Среди всех заболевших с лабораторным подтверждением диагноза маркеры только одного возбудителя КИ были выявлены у 68% пациентов. В этой группе больных чаще выявляли антитела к боррелиям (30,0%) и вирусу КЭ (27,0%). ГАЧ как моноинфекция был диагностирован у 11% пациентов. У каждого третьего пациента (32,0%) заболевание было вызвано одновременно двумя или несколькими возбудителями. Преобладало сочетание ИКБ+ГАЧ (19,0%). Доли других (ИКБ+КЭ, ИКБ+КЭ+ГАЧ, КЭ+ГАЧ, ИКБ+МЭЧ) были существенно меньше.

При исследовании суспензий клещей, снятых с пострадавшего населения, маркеры боррелий обнаружены у 31%, антиген ВКЭ — у 18%. Анаплазмы и эрлихии верифицированы у 3% переносчиков и у 4% в сочетании с боррелиями. В 39% проб искомым возбудителями не выявлены.

Таким образом, проведенное исследование позволило уточнить этиологическую структуру КИ у населения, выявить распространение КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ и микстинфекций.

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ МИКРОФЛОРЫ НОВОРОЖДЕННЫХ

Т.П. Желнина¹, Н.И. Брежнева², Н.Ю. Осяев²

¹ ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово

² МАУЗ Детская городская клиническая больница № 5, г. Кемерово

Анализ структуры микрофлоры — важная составляющая обеспечения эпидемиологического благополучия в стационаре.

Цель исследования: изучение структуры микроорганизмов, выделенных от новорожденных.

Материалы и методы. Результаты 394 исследований с конъюнктивы и 85 с кожных покровов новорожденных за период с 2012 по 2014 гг. Идентификацию микрофлоры проводили классическими микробиологическими методами.

Результаты. Установлена высокая частота колонизации конъюнктивы — 74% [ДИ 95% = 34,01–79,93] в 2012 г., 86% [ДИ 95% = 77,51–92,43] в 2013 г. и 72%

[ДИ 95% = 62,13–80,52] в 2014 г. В структуре выделенной микрофлоры преобладали представители рода *Staphylococcus* spp.: в 2012 г. — 73,86% [ДИ 95% = 66,72–80,19], в 2013 г. — 69,31% [ДИ 95% = 59,34–78,30] и в 2014 г. — 71,08% [ДИ 95% = 60,09–80,52]. Основную долю составлял *S. epidermidis*: в 2012 г. — 57,39% [ДИ 95% = 49,72–64,80], в 2013 г. — 46,53% [ДИ 95% = 36,55–56,73] и в 2014 г. — 55,42% [ДИ 95% = 44,10–66,34]. *S. aureus* регистрировался в 2012 г. — в 3,98% [ДИ 95% = 1, 61–8, 02], в 2013 г. — в 9,90% [ДИ 95% = 4, 85–7, 46] и в 2014 г. — в 4,82% [ДИ 95% = 1,33–11,88]. Следующими по частоте встречаемости были *Enterococcus* spp. — 9,66% [ДИ 95% = 5,73–15,01] в 2012 г., 14,85% [ДИ 95% = 8,56–23,31] в 2013 г., 10,84% [ДИ 95% = 5,08–19,59] в 2014 г. Не выявлено большого разнообразия грамотрицательных микроорганизмов: *E. coli* в 2012 г. — 3,98% [ДИ 95% = 1,61–8,02], в 2013 г. — 3,70% [ДИ 95% = 1,09–9,83], в 2014 г. — 4,82% [ДИ 95% = 1,33–11,88] и *E. cloacae* — 0,57% [ДИ 95% = 0,01–3,12], 1,98% [ДИ 95% = 0,24–6,97], 1,20% [ДИ 95% = 0,03–6,53] соответственно. Отмечалась высокая степень колонизации кожных покровов *S. epidermidis*: в 2012 г. — 43,48% [ДИ 95% = 23,19–65,51], в 2013 г. — 50,01% [ДИ 95% = 29,93–70,07], в 2014 г. — 50,02% [ДИ 95% = 26,02–73,98] и *Enterococcus* spp. 17,39% [ДИ 95% = 4,95–38,78], 15,38% [ДИ 95% = 4,36–34,87], 5,56% [ДИ 95% = 0,14–27,29] соответственно. *S. aureus* в 2013 г. выделялся в 15,38% [ДИ 95% = 4,36–34,87], в 2014 г. — в 5,56% [ДИ 95% = 0,14–27,29]. Из грамотрицательных микроорганизмов регистрировалась только *E. coli* — 4,35% [ДИ 95% = 0,11–21,95] в 2012 г., 7,69% [ДИ 95% = 0,95–25,13] в 2013 г. и 5,56% [ДИ 95% = 0,14–27,29] в 2014 г.

Вывод. В структуре выделенной микрофлоры преобладала грамположительная кокковая флора, из эпидемиологически значимых микроорганизмов — *S. aureus*, с увеличением доли в 2013 г.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ *SALMONELLA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2014–2015 гг.

Л.Ю. Жирнова¹, Н.П. Уткина¹, Л.Ю. Сихандо¹, Т.Ф. Пеленко¹, С.А. Егорова², Л.А. Кафтырева², Е.В. Войтенкова²

¹ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии

в г. Санкт-Петербург, филиал № 6, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии

имени Пастера, Санкт-Петербург

Целью проведенной работы стало определение антигенной структуры и чувствительности 378 штаммов *Salmonella*, выделенных от жителей Санкт-Петербурга, в 2014–2016 гг., к антимикробным препаратам (АМП). Около 90,0% изученных штаммов относились к трем сероварам: *S. Enteritidis* (77,8%), *S. Typhimurium* (6,9%) и *S. Infantis* (4,5%), суммарная доля редко встречающихся сероваров составила 10,8%. Чувствительность к антибиотикам сохраняли 25,4% штаммов, устойчивость к I и более классу отмечена у 74,6% штаммов. Более половины изученных штаммов *Salmonella* (59,0%) характеризовались устойчивостью к хинолонам, наиболее характерна такая резистентность для сероваров *S. Enteritidis* и *S. Infantis* (66,7 и 88,2% соответственно). Отмечены выраженные различия в частоте выявления устойчивости к другим группам АМП зависимости от серовара: ампицилли-

ну — 7,7% (*S. Typhimurium* — 53,8%), цефалоспорином расширенного спектра — 2,9% (*S. Typhimurium* — 11,5%), тетрациклину — 13,2% (*S. Typhimurium* — 50,0%, *S. Infantis* — 82,4%), ко-тримоксазолу — 5,3% (*S. Typhimurium* — 19,2%, *S. Infantis* — 58,8%), аминогликозидам — 6,3% (*S. Typhimurium* — 65,4%, *S. Infantis* — 17,6%), хлорамфениколу — 4,0%. Множественной устойчивостью к АМП (3 и более класса) характеризовались 15,8% штаммов, причем высокая доля полирезистентных штаммов наиболее характерна для сероваров *S. Typhimurium* и *S. Infantis* (65,4 и 82,4% соответственно).

Для этиотропной терапии генерализованных и осложненных форм сальмонеллезов используют фторхинолоны, цефалоспорины расширенного спектра и ко-тримоксазол. В то же время наше исследование показало, что более половины штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге, устойчивы к фторхинолонам, что наиболее характерно для ведущего серовара *S. Enteritidis*. Появились штаммы, устойчивые к цефалоспорином расширенного спектра. Около 15,0% штаммов (особенно сероваров *S. Typhimurium* и *S. Infantis*) устойчивы к нескольким классам АМП, включая препараты выбора. Развивающаяся устойчивость к фторхинолонам и ЦРС значительно ограничивает возможности терапии осложненных сальмонеллезов. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга данных по антибиотикорезистентности возбудителей сальмонеллеза в РФ, поскольку это заболевание склонно к эпидемическому распространению, возникновению вспышек, а инфекция резистентными штаммами приводит к достоверному снижению эффективности терапии.

ГРУППОВАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ САЛЬМОНЕЛЛЕЗАМИ НА ТЕРРИТОРИИ КИРИШСКОГО РАЙОНА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ В 2012–2015 гг.

Н.М. Журавлева

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Киришском районе

Сальмонеллез — это полиэтиологическая инфекционная болезнь, вызываемая различными серотипами бактерий рода *Salmonella*, характеризуется разнообразными клиническими проявлениями от бессимптомного носительства до тяжелых септических форм. В большинстве случаев протекает с преимущественным поражением органов пищеварительного тракта (гастроэнтериты, колиты).

Этиология. Возбудитель — большая группа сальмонелл (семейство *Enterobacteriaceae*, род *Salmonella*). Большинство сальмонелл патогенны как для человека, так и для животных и птиц, но в эпидемиологическом отношении наиболее значимы для человека лишь несколько серотипов, которые обуславливают 85–91% сальмонеллез человека на всех континентах мира: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Panama*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. Agona*, *S. Derby*, *S. London* и др. Серотип выделенной сальмонеллы имеет значение для выявления источника инфекции.

Основными факторами патогенности сальмонелл являются холероподобный энтеротоксин и эндотоксин липополисахаридной природы. Штаммы *S. Enteritidis* обладают способностью инвазии в эпителий толстой кишки

Источниками инфекции являются в основном домашние животные и птицы, однако определенное значение играет и человек (больной, носитель) как дополнительный источник. Бактерионоситель может представлять опасность и для взрослых в том случае, если он имеет отношение к приготовлению пищи, раздаче ее или продаже пищевых продуктов.

Основной путь заражения при сальмонеллезе — алиментарный, обусловленный употреблением в пищу продуктов, в которых содержится большое количество сальмонелл. Обычно это наблюдается при неправильной кулинарной обработке, когда инфицированные продукты, находившиеся в условиях, благоприятных для размножения сальмонелл.

Все групповые заболевания сальмонеллезами на территории Киришского района зарегистрированы на базе отдыха «Мечта» ООО «Киришинефтеоргсинтез». Общее количество отдыхающих на момент возникновения вспышки в декабре 2012 г. составляло 123 человека. Было проведено эпидемиологическое обследование эпидемического очага сальмонеллеза с целью установления границ очага, выявления источника возбудителя сальмонеллеза, контактных лиц, а также лиц, подвергшихся риску заражения, определения путей и факторов передачи возбудителя, а также условий, способствовавших возникновению очага. На носительство возбудителей дизентерийной и паратифозной группы обследовано 32 человека, из которых у 1 (повара) выделена *S. Enteritidis*. Наличие заболевания подтверждено серологическим методом — нарастанием титра антител. При обследовании заболевших и контактных лиц выделено 13 культур *S. Enteritidis*, и 1 культура *S. Enteritidis* выделена при исследовании суточных проб их молока из кулера. Культуры были направлены «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», референс-центр по мониторингу за сальмонеллезами. При исследовании установлено, что все культуры являются *S. Enteritidis*, фаготип 1a, а также что все изученные культуры не лизируются О-фагом, что было использовано в качестве эпидемиологической метки.

Вторая вспышка имела место в августе 2013 г. Общее количество отдыхающих — 105 человек. Вследствии того, что персонал пищеблока работал не только на базе отдыха «Мечта», но еще на смежном пищеблоке санатория-профилактория «Приозерный», был обследован весь персонал этих учреждений в количестве 240 человек и все отдыхающие. В результате у 1 повара и у 1 официанта установлено бактерионосительство *S. Enteritidis*; среди отдыхающих и контактных с ними выделено 24 культуры *S. Enteritidis*.

Таким образом, грубые нарушения санитарных норм, недостаточный контроль за персоналом и их лабораторным обследованием спровоцировали групповые заболевания сальмонеллезом. Руководителю данной организации необходимо жестко следить за соблюдением санитарно-гигиенических норм и правил, обеспечить контроль за организацией питания и качеством пищи в соответствии с нормативно-методическими документами; ассортиментом, хранением и сроками реализации продуктов; допуском к работе персонала пищеблока; своевременным и полным медицинским обследованием сотрудников.

LEGIONELLA PNEUMOPHILA В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В 2010–2015 гг.

Г.В. Забалуева¹, Г.В. Макарова¹, Е.М. Сербова¹,
Н.И. Гуц¹, С.М. Богдан¹, Е.А. Золотарёва¹,
Л.А. Кафтырева²

¹ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии
в г. Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

Введение. *Legionella pneumophila* попадая в искусственный резервуар, размножаются при 25–42°C, застое воды, образовании накипей и осадков, а также в присутствии организмов-симбионтов. Более 90% случаев болезни человека ассоциированы с *L. pneumophila*. На долю легионеллезной инфекции приходится 3–15% внебольничных бактериальных пневмоний, они уступают по частоте *S. pneumoniae* и *H. influenzae*.

Цель работы — целенаправленный поиск в течение 2010–2015 гг. *L. pneumophila* в объектах окружающей среды (ООС), представляющих эпидемиологическую опасность (искусственные водные системы, системы кондиционирования, градирни, бассейны, увлажнители воздуха, фонтаны и др.) и определение концентрации возбудителя в исследуемых объектах.

Материалы и методы. Проводили исследование воды, смывов с ООС, воздуха в гостиницах, в ЛПМО, в бассейнах, на кондитерских и прочих промышленных предприятиях классическим бактериологическим методом. Всего за 6 лет исследовано 3694 пробы ООС; в т. ч.: 2816 (76,2%) проб воды, 591 (16,0%) смыв, 287 (7,8%) — проб воздуха.

Результаты. Наиболее контаминированными *L. pneumophila* оказались пробы воды закрытых емкостей (из градирен, танков на кондитерских предприятиях), кондиционеров, бассейнов. Количественная оценка показала, что в 35 из 36 случаев выделения *L. pneumophila* из воды концентрация возбудителя составляла от $2,0 \times 10^2$ до $8,0 \times 10^3$ КОЕ/л, что указывало о колонизации данных объектов легионеллами в концентрации, не представляющей эпидемиологической опасности, но требующей ежемесячного контроля и проведения профилактических мероприятий. Только в одном случае содержание КОЕ *L. pneumophila* в 1 л горячей воды составляло $3,4 \times 10^4$, что представляло эпидемиологическую опасность и требовало проведения дезинфекционных и профилактических мероприятий. Несмотря на то, что содержание *L. pneumophila* в смывах с ООС не нормируется, обнаружение возбудителя в смывах указывает на эпидемиологическое неблагополучие на контролируемом объекте.

Заключение. Для надзора за легионеллезной инфекцией необходимо проводить регулярные лабораторные исследования на предприятиях, представляющих эпидемиологическую опасность, а также контроль за соблюдением требований санитарного законодательства, направленных на предупреждение контаминации легионеллами в эпидемиологически значимых концентрациях потенциально опасных водных объектов.

ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОГЕМОРАГИЧЕСКИХ ЭШЕРИХИЙ ОТ ТЕЛЯТ, БОЛЬНЫХ ДИАРЕЕЙ

А.В. Забровская¹, М.А. Макарова¹, Т.А. Скриплева²,
В.А. Кузьмин², Кафтырева Л.А.¹

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная
академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербург

Нами были исследованы 85 штаммов *E. coli*, выделенных из фекалий 24 телят в возрасте 10–15 дней, больных энтеритом. У телят отмечалась водянистая диарея, угнетение, вялость, повышение температуры тела.

Выделение *E. coli* проводилось при бактериологическом посеве проб фекалий среду Эндо, с последующей идентификацией. Чувствительность к антимикробным препаратам (АМП) определяли диско-диффузионным методом, согласно действующим нормативным документам.

Наличие генов, кодирующих у культур *E. coli* факторы вирулентности (гены *stx1*, *stx2* и *eae*), устанавливали в ПЦР со специфическими праймерами. Продукцию шигаподобного токсина определяли иммунохроматографическим методом с использованием RIDA®QUICK Verotoxin производства R-Biofarm AG согласно инструкции производителя. Из исследованных 85 культур *E. coli* 10 обладали генами, кодирующими факторы вирулентности: *eae* и *stx1*, что позволяет их отнести к энтерогемотоксическим *E. coli* (ЕНЕС). ЕНЕС были выделены от 6 телят, что составило 25% от всего количества обследованных животных. Продукция шигаподобного токсина подтверждена иммунохроматографическим методом у всех 10 штаммов.

При агглютинации с эшерихиозными диагностическими поливалентными ОК-сыворотками и с адсорбированной эшерихиозной групповой и факторной сывороткой О-157, серологическую группу выделенных эшерихий установить не удалось.

При росте на кровяном агаре 7 из 10 культур ЕНЕС вызывали гемолиз эритроцитов, все 10 культур ферментировали лактозу. Штаммы имели разные фенотипы чувствительности к АМП: один штамм был чувствителен, остальные устойчивы к 3–5 АМП. От одного животного были выделены ЕНЕС с различными фенотипами резистентности. Половина устойчивых штаммов (5) была резистентна к 4 АМП: ампициллину, стрептомицину, ко-тримоксазолу и сульфаниламиду. К 5 АМП было устойчиво 2 штамма, каждый со своим фенотипом: налидиксовая кислота, ампициллин, стрептомицин, ко-тримоксазол, сульфаниламид и ампициллин, стрептомицин, ко-тримоксазол, сульфаниламид, нитрофурантоин. К 3 АМП было устойчиво 2 штамма с фенотипом: ампициллин, ко-тримоксазол, сульфаниламид. К этим АМП были устойчивы все резистентные штаммы.

Выводы:

- значительное число телят, больных диареей, выделяют с фекалиями ЕНЕС;
- популяция ЕНЕС в одной группе животных может быть гетерогенна по чувствительности к АМП и способности вызывать гемолиз эритроцитов;
- для предотвращения передачи ЕНЕС от крупного рогатого скота человеку необходим мониторинг выделения ЕНЕС.

ОБСЕМЕНЕННОСТЬ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ИЕРСИНИОЗА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

В.Б. Зиятдинов, Г.Г. Бадамшина, Г.Ш. Исаева,
Л.В. Вакатова, Л.Ф. Гафарова

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан), г. Казань

При разработке мероприятий по обеспечению безопасности пищевых продуктов особое значение имеют бактерии, распространенные во внешней среде и являющиеся комменсалами желудочно-кишечного тракта животных. К числу таких бактерий относятся *Yersinia enterocolitica*, основным источником выделения которых служат сельскохозяйственные животные, а фактором передачи — пищевые продукты.

Цель работы — выявить особенности обсемененности пищевых продуктов возбудителями иерсиниоза в Республике Татарстан.

Санитарно-бактериологическое исследование пищевых продуктов на наличие *Y. enterocolitica* проведено в 2014–2015 гг. (n = 1597 проб), в соответствии с МУ 3.1.1.2438-09 «Профилактика...», с использованием среды с бромтимоловым синим (СБТС) и др.

Установлено, что в 2014–2015 гг. было выделено 14 культур *Y. enterocolitica* (0,9% всех исследованных проб), большая часть обнаруживалась в 2015 г. (71,4%). Основная доля контаминированных пищевых продуктов, находилась в Лениногорском районе Республики (57%). Так, в 2014 г. на данной территории было обсеменено 3 пробы, в 2015 — 5 проб. Указанное, может быть следствием наличия на территории района Республики источников выделения возбудителя иерсиниоза. Контаминированные пищевые продукты, также находились в Бугульминском, Сабинском, Елабужском, Азнакаевском, Актанышевском и Кукморском районах (по 1 пробе).

Исследуя динамику распространенности нестандартных проб по наличию *Y. enterocolitica*, следует отметить, что удельный вес проб к 2015 г. увеличился в 2,5 раза. Так, иерсинии в 2015 г. были выделены в 10 пробах, в 2014 г. — в 4 образцах (Тпр = 160%). Анализируя локализацию возбудителя стоит отметить, что иерсинии выделялись в основном из смывов с картофеля и моркови (50 и 20% исследованных образцов соответственно), отобранных в средней образовательной школе, детском саду, санатории.

Таким образом, динамика обсемененности пищевых продуктов *Y. enterocolitica* в Республике Татарстан характеризуется неблагоприятной тенденцией увеличения количества проб, не соответствующих санитарно-гигиеническим нормативам по наличию возбудителей иерсиниоза. Высокий удельный вес положительных на иерсинии проб в Лениногорском районе, требует разработки дополнительных мер профилактики.

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕМБРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Т.А. Змеева¹, В.В. Малышев¹, В.Б. Сбойчаков¹, С.С. Котов²

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² ФГКУ 985 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора МО РФ, Санкт-Петербург

Проблема загрязнения бактериальными и вирусными контаминантами источников водоснабжения

носит повсеместный характер. Вопросы, требующие внимания при проведении эпидемиологического обследования очагов острых кишечных инфекций с предположительно водным путем передачи: отсутствие достоверной корреляционной связи заболеваемости ОКИ с обнаружением санитарно-показательных микроорганизмов в пробах воды; влияние химических факторов водных объектов и сопутствующей микрофлоры на санитарно-показательные микроорганизмы; более длительная, чем у бактерий, выживаемость вирусов в водных объектах окружающей среды; большая устойчивость кишечных вирусов к дезинфектантам; невозможность оперативного обнаружения вирусных патогенов классическими методами, в итоге анализ таких результатов носит ретроспективный характер; многие вирусы не культивируются или трудно культивируются на культурах клеток. Значительную роль для достоверности и эффективности исследований санитарно-микробиологического и санитарно-вирусологического контроля воды играет этап пробоподготовки, при этом концентрирование вирусных агентов требует проведения пробоподготовки больших объемов воды (10 л и более). Сегодня возрастают возможности концентрирования бактериальных и вирусных контаминантов воды при помощи мембранных технологий.

Цель нашего исследования состояла в повышении эффективности методов санитарно-микробиологического и санитарно-вирусологического контроля воды с использованием современных мембранных технологий. Решались задачи: оценить эффективность различных фильтрующих мембран для пробоподготовки воды и изучения концентрирования бактерий в режиме микрофильтрации; изучить эффективность пробоподготовки и детекции возбудителей острых кишечных вирусных инфекций и (или) их маркеров в водных объектах окружающей среды с использованием различных фильтрующих мембран в режиме микрофильтрации. Исследования проводили на модели кишечной палочки *E. coli* M17-02 и ротавирусов (пул экстрактов антигенположительных фекалий больных ротавирусной инфекцией). Бактериологическую обсемененность проб воды определяли бактериологическим посевом способом мембранной фильтрации. Для детекции вирусных маркеров использовали следующие методы: ОТ-ПЦР в режиме реального времени, иммуноферментный анализ, иммунохроматографический метод, реакцию агглютинации латекса. Для подсчета бактерий в объеме пробы воды применяются фильтрующие мембраны с размером пор > 100 нм (в соответствии со значениями размеров отделяемых частиц в барометрических процессах). Для вирусов высокоэффективны ультрафильтрационные мембраны с размером пор < 100 нм, однако они обладают низкой производительностью. Нами было показано, что при маленьких размерах пор фильтрация на кишечные вирусы большого объема воды (10 л) занимает несколько суток. Эффективная производительность отмечается только у мембран с размером пор > 200 нм. Опыт применения пористых фильтрующих мембран с размером пор 200 нм из различного сырья на основе полиэфирсульфона, смеси эфиров целлюлозы, полиамида, капрона с положительным зарядом (экспериментальный материал) показал, что пористые микрофильтрационные мембраны хорошо удерживают вирусные частицы, обладая высоким потоком

и большой производительностью. Наибольшая эффективность концентрирования кишечных вирусов нами получена на микрофильтрационных капроновых экспериментальных мембранах с положительным зарядом. При оценке эффективности фильтрующих мембран наибольший «процент извлечения» получен нами при использовании полиамидных и нитратцеллюлозных мембран. Высокий «процент извлекаемости» независимо от посевной дозы наблюдался у нитратцеллюлозных мембран.

Таким образом, существующие системы водоподготовки, водоочистки и обеззараживания не позволяют полностью исключить загрязнение поверхностной, подземной, питьевой воды кишечными бактериями и вирусами, и это происходит в условиях увеличения микробной и вирусной нагрузки на водные объекты окружающей среды, становится крайне актуальной задача использования выше перечисленных методов пробоподготовки и детекции.

ТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ ЛЕПТОСПИР МЕТОДОМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Е.В. Зуева, Н.А. Стоянова, Н.К. Токаревич, Арег А. Тотолян

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Лептоспироз — зоонозное заболевание, вызываемое патогенными видами бактерий рода *Leptospira*. Согласно серологической классификации, основанной на структурной неоднородности полисахаридных О-антигенов, представители рода лептоспир подразделяются более чем на 300 сероваров. Серотипирование является специализированной сложной процедурой, но чрезвычайно ценным инструментом эпидемиологических исследований. Цель — определение возможности применения метода MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации изолятов лептоспир на уровне сероваров.

Использовали восемь референсных штаммов *Leptospira* spp., а так же 10 штаммов патогенных лептоспир, выделенных в Северо-Западном регионе России. Эталонные спектры референсных штаммов получены путем объединения отдельных спектров каждого штамма в главный спектральный профиль. Оценку идентификации лептоспир осуществляли путем вычисления коэффициентов совпадения отдельных спектров каждого изолята с эталонными спектрами. Различие между коэффициентами оценивали однофакторным дисперсионным анализом ANOVA.

Анализ отдельных спектров, включенных в состав эталонных спектров референсных штаммов, показал четкое разделение на кластеры соответственно их сероварам. Визуализация главных профилей всех исследуемых штаммов в виде дендрограммы показала наличие трех подгрупп: подгруппа I включала штаммы, относящиеся к серогруппе *Tarassovi*, II включала штаммы серогруппы *Grippotyphosa*, III содержала профили штаммов серогрупп *Pomona*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae* и непатогенного штамма *Ratoc*. Малое различие между спектрами в III подгруппе свидетельствовало о значительной близости между патогенными штаммами и сапрофитом *L. biflexa*. При проведении идентификации для каждого изолята был назначен контрольный эталонный спектр серовара, на уровне которого изолят был предварительно серотипирован. Наиболее

высокие баллы коэффициентов регистрировались у соответствующих контрольных сероваров. В то же время у большинства изолятов не было достоверно значимого различия между оценками совпадения с контрольным сероваром и с сапрофитным штаммом *Ratoc*. Полученные данные свидетельствуют о присутствии в спектрах лептоспир пиков полисахаридных О-антигенов, которые позволяют дифференцировать серовары патогенных штаммов. Таким образом, использование такого показателя как максимальная величина среднего значения коэффициентов совпадения с эталонными спектрами патогенных штаммов в целом позволило правильно идентифицировать изоляты согласно их серологической классификации.

ОПЫТ ОРГАНИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНОГО САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ XVI ЧЕМПИОНАТА МИРА ПО ВОДНЫМ ВИДАМ СПОРТА И В КАТЕГОРИИ «МАСТЕРС» В ГОРОДЕ КАЗАНИ

Г.Ш. Исаева, В.Б. Зиятдинов

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан), г. Казань

Для предупреждения возможного негативного воздействия окружающей среды (ОС) на здоровье гостей и участников при проведении массовых мероприятий (ММ) особое значение приобретает обеспечение биологической безопасности. При этом значительная роль отводится лабораторному контролю за объектами питания и водоснабжения, местами размещения участников и гостей.

В период подготовки и проведения XVI Чемпионата мира по водным видам спорта и в категории «Мастерс» (далее — ЧМ-2015) микробиологический контроль ОС был организован на базе лабораторий отдела микробиологических исследований, включающего лабораторию бактериологических исследований, лабораторию паразитологических исследований и лабораторию диагностики особо опасных и вирусных инфекций с отделением диагностики особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», при круглосуточном графике работы специалистов. Согласно утвержденному Порядку лабораторного обеспечения, микробиологическому мониторингу были подвергнуты объекты проживания и питания спортсменов, личного состава сил МВД, спортивные объекты, объекты массовых посещений (в частности, парк FINA), пищевая продукция поставщиков и производителей, а также объекты ОС (вода водоемов, почва и пр.).

В период проведения ЧМ-2015 было отобрано 3334 проб и проведено 7713 исследований по бактериологическим показателям, 470 проб (693 исследований) — по паразитологическим показателям. Наибольший удельный вес в структуре исследований составили испытания пищевых продуктов (62,5%) и смывов (31,4%). Было выявлено 25 нестандартных проб пищевых продуктов, преимущественно овощные нарезки и салаты, по БГКП и *S. aureus*, 2 пробы бутилированной воды по *P. aeruginosa* и 12 проб смывов с обнаружением БГКП.

Исследования пищевых продуктов проводились с применением автоматических анализаторов «Tempo» и «mini-Vidas» (bioMerieux, Франция), что

позволило значительно сократить сроки выдачи результатов до 24–48 ч в сравнении с «классическими» методами (72–120 ч).

В период подготовки к ЧМ-2015 было обследовано 917 человек декретированного контингента и проведено 2751 исследование с целью выявления носительства норо- и ротавирусов, других возбудителей ОКИ. Кроме того, в подготовительный период было проведено исследование 456 проб смывов, отобранных на объектах общественного питания, на выявление рота-, норо-, астро-, энтеровирусов.

В подготовительный период и во время проведения ЧМ-2015 был организован мониторинг поверхностных водоемов г. Казани в местах проведения соревнований, вблизи мест выпуска сточных вод и в местах несанкционированного купания по бактериологическим, паразитологическим, вирусологическим показателям и на вибриофлору. За период с первого июня по девятнадцатое августа было отобрано 738 проб воды на вибриофлору, из которых в 5-ти пробах обнаружены холероподобные вибрионы 1 группы Хейберга и в 17 пробах — НАГ вибрионы 2 группы Хейберга.

Вывод. Проведение лабораторного контроля ОС при проведении ММ обуславливают необходимость применения экспресс-методов микробиологического анализа.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ У ВЗРОСЛЫХ

О.А. Каменева¹, С.Е. Морозова¹, К.Г. Косякова^{1,2}

¹ Детская городская больница № 22, Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Доминирующим возбудителем инфекций мочевого тракта (ИМП) является *Escherichia coli* (более 75%). В условиях нарастания уровня антибиотикорезистентности энтеробактерий отмечается и увеличение частоты выделения штаммов *E. coli*, нечувствительных к антимикробным препаратам, рекомендованным для терапии ИМП.

Цель — определить чувствительность к антимикробным препаратам (АМП) штаммов *E. coli*, выделенных от взрослых пациентов поликлинических организаций Колпинского района Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. Количественный посев проб и выделение чистых культур возбудителей выполняли традиционными микробиологическими методами. Идентификацию и определение чувствительности к АМП проводили с помощью прибора MicroScan WalkAway Plus System и панелей Neg Breakpoint Combo 41 (Siemens, США) в соответствии с критериями CLSI (2012).

Результаты. Проанализированы данные бактериологического исследования мочи за 2013–2015 гг. Среди 1459 изолятов уропатогенов преобладали энтеробактерии — 77,0%, в т. ч. *E. coli* — 52,1%. Частота обнаружения *E. coli* колебалась от 49,1 до 53,1%. Из 760 штаммов *E. coli* нечувствительными к аминопенициллинам оказались до 45,7% изолятов, в т. ч. к ингибиторозащищенным — от 14,2 до 39,7%. Частота обнаружения штаммов, нечувствительных к цефалоспорином III–IV не превышала 18,7%, имипенему — 0,3%, эртапенему — 1,7%. Доля штаммов,

нечувствительных ципрофлоксацину — 21,7%, нитрофурантоину — 7,0%, гентамицину и амикацину — 10,8 и 4,3% соответственно. Критический уровень резистентности 10–20%, при достижении которого применение АМП для эмпирической терапии считается нецелесообразным, был превышен для аминопенициллинов и ципрофлоксацина.

Таким образом, рекомендованные Европейской урологической ассоциацией препараты выбора — нитрофурантоин, цефалоспорины III и аминогликозиды, исключая ингибиторозащищенные аминопенициллины и фторхинолоны, могут быть использованы для начальной терапии внебольничных ИМП у пациентов Колпинского района Санкт-Петербурга. Принимая во внимание снижение доли *E. coli* в структуре возбудителей ИМП до 52,1% следует уделять особое внимание этиологической расшифровке диагноза и определению чувствительности уропатогенов к АМП.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КИШЕЧНЫХ ПРОТОЗОЙНЫХ ИНВАЗИЙ, ВЫЯВЛЕННЫХ В ГОРОДЕ МИНСКЕ В 2016 г.

Ю.С. Карамышева, В.В. Пугач, А.Е. Якубович, В.Г. Гудков, В.А. Горбунов

ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Цель исследования — дать эпидемиологическую характеристику кишечным протозойным инвазиям, выявленным на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» (РНПЦЭиМ) в период с 01.2016 г. по 05.2016 г.

Материалы и методы. Объект исследования — 716 проб фекального материала пациентов, потенциально инвазированных простейшими. Пробы материала доставлялись в РНПЦЭиМ, где впоследствии они были исследованы на наличие цист патогенных кишечных простейших методом формалин-эфирного осаждения и микроскопии.

Результаты. Показатель пораженности патогенными кишечными простейшими среди обследованных составил 40,36% (n = 289). При этом показатель пораженности *Giardia lamblia* среди обследованных составил 28,91% (n = 207), а *Blastocystis* spp. — 13,13% (n = 94). Микст-инвазия была выявлена у 4,15% (n = 12) инвазированных. Наиболее высокими показателями пораженности характеризовались возрастные группы 7–17 лет (45,86%, n = 157), 3–6 лет (41,88%, n = 117) и 18 лет и старше (38,27%, n = 196). Чаще всего положительные результаты анализа на патогенных кишечных простейших регистрировались в феврале (49,64%, n = 68), реже всего — в апреле (28,47%, n = 39). В возрастной структуре инвазированных лямблиями доминировала группа 3–6 лет (33,82%, n = 70), в то время как среди инвазированных бластоцистами превалировало взрослое население (36,17%, n = 34). 50% (n = 6) случаев микст-инвазии наблюдалось в возрастной группе 7–17 лет. Инвазия малой (+) интенсивности, обусловленная кишечными лямблиями, чаще всего наблюдалась в группе 1–2 года (28,21%, n = 33), а бластоцистами — в группе 18 лет и старше (15,31%, n = 30). При этом массивная (+++) инвазия *G. lamblia* чаще всего наблюдалась в возрастной группе 3–6 лет (5,98%, n = 7), а *Blastocystis* spp. — в возрастной группе 7–17 лет (2,53%, n = 4).

Выводы. Уровень пораженности населения кишечными простейшими *Blastocystis* spp. и *G. lamblia* достаточно высок (около 15 и 30% обследованных, соответственно), что является неблагоприятным обстоятельством ввиду высокой вероятности реализации водного пути заражения данными протозооами. Проблема бластоцистоза наиболее актуальна для взрослого населения, в то время как широкое вовлечение в эпидемический процесс лямблиоза детей дошкольного возраста повышает вероятность развития негативных последствий для их здоровья (например, сенсбилизация детской иммунной системы с последующей ее перестройкой по аллергическому типу). Наличие у 6% детей 3–6 лет массивной инвазии *G. lamblia* является тревожащей тенденцией.

РОЛЬ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ В ПОЛУЧЕНИИ ГЕМОКУЛЬТУРЫ

Н.М. Каргальцева, О.Ю. Борисова, В.И. Кочеровец, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин

ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Цель работы — сравнить эффективность питательных сред для получения гемокультуры. Кровь терапевтических больных кардиологического профиля (инфекционный эндокардит, ревматизм, вторичный инфекционный эндокардит, миокардит, врожденный порок сердца и ишемическая болезнь сердца) была исследована. Виды питательной среды были разделены на три варианта: 1 — сахарный бульон, 2 — двойная питательная среда и 3 — сердечно-мозговая среда. У первой группы больных (36) кровь засеивали на сахарный бульон и получили гемокультуру в 2,8% случаев. Среднее число из всех выполненных исследований крови (70) на одного больного составляло 1,9. Посев крови выполняли однократно (47,2%), повторяли на следующий день (30,5%), повторяли в течение дня (22,2%) и через несколько дней (13,9%). Гемокультура была получена только в виде моно возбуздителя. У второй группы больных (60) было выполнено 145 исследований крови с использованием «среды для контроля стерильности» согласно приказу № 535 и получены гемокультуры в 16,7% случаев. Среднее число анализов крови на одного больного составляло 2,4. Практически у всех больных осуществляли два посева крови в течение дня (96,7%), не делали на следующий день и в 15% случаев — через несколько дней. Одна гемокультура была полимикробная (1,7%). Наиболее многочисленной группой больных была третья группа больных (695) и выполнено 1257 посевов крови на сердечно-мозговой среде, приготовленной в условиях лаборатории, разлитой по флаконам с резиновой пробкой и завальцованными колпачками, загазованной инертным газом. Гемокультуры были получены в 37,6% случаев. Среднее число микробиологического исследования крови на одного больного составляло 1,8. Один посев крови был проведен у 64,2% больных, несколько посевов в течение дня — у 43,2% и в 11,7% случаев отбирали кровь через несколько дней. Полимикробные гемокультуры были получены в 7,3% случаев. Таким образом, среднее количество проб крови на микробиологическое исследование равнялось двум во всех группах больных. Эффективность получения гемокультур имела значительные отличия. Так, применение «среды для контроля стерильности» в сравнении с посевом в сахарный бульон повысило на 14% полу-

чение гемокультур, а сердечно-мозговая среда по отношению к «среде для контроля стерильности» была эффективнее почти на 21%. Одноразовый посев крови на сердечно-мозговую среду был преобладающим (64,2%), что не повлияло на получение гемокультур (37,6%) в моно- и поливариантах (7,3%) у терапевтических больных данного профиля.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДИАРЕЕГЕННЫХ ЭШЕРИХИЙ ОТ ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ДО 5 ЛЕТ

Н.Н. Карцев¹, М.Г. Ершова², А.С. Пинчук¹, Е.С. Леонова¹, Г.Н. Абросимова², Н.К. Фурсова¹, Э.А. Светоч¹

¹ ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

² ГУЗ Ярославская областная Инфекционная клиническая больница № 1, г. Ярославль

В составе бактериальных возбудителей ОКИ у детей до 5 лет, значимое место занимают диареегенные *E. coli* (ДЕС), такие как энтерогеморрагические — ЕНЕС, энтеропатогенные — ЕРЕС, энтеротоксигенные — ЕТЕС, энтероинвазивные ЕИЕС и энтероагрегативные — ЕАгЕС. Среди них наибольшую опасность представляют ЕНЕС, ЕРЕС и ЕАгЕС, вызывая энтериты, энтероколиты, сопровождающиеся острой персистирующей диареей, и такие тяжелые состояния как геморрагический колит, осложнением которого является гемолитико-уремический синдром.

Целью данной работы является изучение штаммов *E. coli* (n = 65), выделенных от детей в возрасте до 5 лет, в течение 2015–2016 гг. в некоторых лечебных учреждениях г. Ярославля.

Первичную серологическую идентификацию штаммов *E. coli* проводили с помощью диагностических эшерихиозных сывороток, с последующим отнесением культур к соответствующим патогруппам. В результате к ЕРЕС отнесено 50 штаммов (77%), к ЕИЕС 14 (21%), к ЕНЕС 1 штамм *E. coli* серогруппы O157 (1,5%). Далее все штаммы тестировали с помощью набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК диарогенных *E. coli* «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL». В результате чего патогруппы определены у 15 (22%) из 65 штаммов *E. coli*, среди них к ЕНЕС отнесены 8 штаммов (53%), к ЕРЕС — 6 штаммов (40%) и один штамм серогруппы O25 определен как ЕАгЕС. Выделенные ЕРЕС и ЕНЕС штаммы тестировали на наличие генов вирулентности: интимина *eae* и шига-токсинов *stx1*, *stx2* и энтерогемолизина *ehxA* с помощью ПЦР-РВ со специфичными праймерами и зондами.

По результатам проведенных исследований удалось идентифицировать диареегенные эшерихии различных серогрупп, с генотипами вирулентности ЕРЕС: O26 *eae*⁺ n = 3; O111 *eae*⁺ n = 1; O127 *eae*⁺ n = 1; O128 *eae*⁺ n = 1; и ЕНЕС: O26 *eae*⁺, *stx1*⁺, *ehxA*⁺ n = 4; O111 *eae*⁺, *stx2*⁺ n = 1; O119 *stx2*⁺ n = 1; O127 *eae*⁺, *stx2*⁺ n = 1; O157:H7 *eae*⁺, *stx2*⁺, *ehxA*⁺ n = 1. У изучаемых штаммов была определена чувствительность к антимикробным препаратам (АМП) на автоматическом биохимическом анализаторе Vitek-2 Compact. В результате штамм ЕАгЕС серогруппы O25, выделенный от ребенка трех месяцев, определен как мультирезистентный патоген, устойчивый к АМП пяти разных функциональных классов. Остальные диарогенные штаммы *E. coli* проявляли устойчивость к АМП не более двух функциональных классов.

В ходе проведенного исследования показана роль *E. coli* серогруппы O26 в качестве доминирующей среди ЕРЕС и ЕНЕС, выделенных от детей до 5 лет. В связи с этим считаем необходимым проявлять осторожность при выделении *E. coli* данной серогруппы и определять гены вирулентности и патогенности с помощью ПЦР-РВ. Особую обеспокоенность вызывает выделение МЛУ EAgEC от трехмесячного ребенка.

ВЛИЯНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ НА БЕЗОПАСНОСТЬ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Л.А. Кафтырева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Доступность полноценного питания и безопасных пищевых продуктов (ПП) является правом каждого человека, гарантированным Конституцией. Несмотря на улучшения в системах безопасности ПП во многих странах, проблема заболеваний, обусловленных контаминированными ПП, остается актуальной. Изменение климата и резистентность к антимикробным препаратам (АМП) — глобальные нарастающие проблемы, оказывающие негативное влияние на уровень безопасности ПП. Широкое применение АМП для лечения, профилактики заболеваний, стимуляции роста у животных, позволяет устойчивым бактериям колонизировать ЖКТ человека при попадании с ПП. Торговля животными, ПП животного происхождения осуществляется в глобальных масштабах, что приводит к быстрому глобальному распространению устойчивых бактерий в различных странах. Примерами служат многократно документированные вспышки с пищевым путем передачи и широкое распространение сальмонелл, кампилобактерий, эшерихий и энтерококков, резистентных к АМП, через инфицированные ПП животного и растительного происхождения. Применение фторхинолонов у сельскохозяйственных животных привело к появлению соответствующей устойчивости в штаммах сальмонелл и кампилобактеров (возбудители ОКИ у людей). При заболеваниях, обусловленных полирезистентными штаммами *S. Typhimurium* фаготипа 104, отмечена высокая частота госпитализации и высокий риск смертельного исхода по сравнению с заболеваниями, вызванными чувствительными бактериями. Резистентные к макролидам кампилобактерии часто вызывали инвазивные инфекции и летальные исходы. Масштабы применения АМП в рыбоводстве весьма значительные. В ряде стран АМП используют в борьбе с болезнями растений. Есть данные о том, что носительство *E. coli*, резистентных к тетрациклину, среди домашней птицы возрастает почти в 20 раз (с 3,5 до 63,2%) после четырех лет применения АМП. Применение авопарцина как стимулятора роста у сельскохозяйственных животных в Европе привело к появлению и распространению устойчивых к ванкомицину энтерококков как нормальной микрофлоры этих животных, так и на ПП, полученных из этих животных. Одновременно было отмечено появление у людей устойчивых к ванкомицину энтерококков в составе нормальной микрофлоры, хотя ванкомицин в стационарах применялся в очень ограниченных случаях. Это произошло в результате формирования перекрестной резистентности к аво-

парцину и ванкомицину и переноса устойчивых к ванкомицину энтерококков от животных к человеку через ПП, полученные из животных, которые получали авопарцин. Практически во всех странах ПП животного происхождения контаминированы бактериями, в результате чего формируется основной путь передачи устойчивых бактерий и генов резистентности от сельскохозяйственных животных к человеку. В настоящее время такие ПП, являются важным резервуаром резистентных к АМП сальмонелл, а факторами передачи резистентных сальмонелл служат говядина, свинина, птица и молочные продукты, а также яйца и плодоовощная продукция.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРЮШНОГО ТИФА К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, Е.В. Войтенкова

Референс-центр по мониторингу за возбудителями брюшного тифа, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В настоящее время для этиотропного лечения брюшного тифа используют фторхинолоны, цефалоспорины расширенного спектра (ЦРС) и азитромицин. Определение чувствительности *S. Typhi* и интерпретация результатов тестирования к этим антимикробным препаратам (АМП) имеет ряд особенностей.

Чувствительность штаммов *S. Typhi* к фторхинолонам (ципрофлоксацину) следует определять только методами, позволяющими оценить МИК цiproфлоксацина (методом серийных разведений или Е-тестом), к категории чувствительных следует относить штаммы с МИК цiproфлоксацина не выше 0,06 мг/л. Не следует использовать диско-диффузионный метод, который не обладает достаточной точностью, для определения чувствительности *S. Typhi* к фторхинолонам. Для определения чувствительности к фторхинолонам диско-диффузионным методом следует использовать диск с пefлоксацином, 5 мкг при строгом внутреннем контроле качества. Кроме того, для повышения чувствительности исследования можно включить в тестирование диск с налидиксовой кислотой как индикатор развития устойчивости к хинолонам; штаммы, устойчивые к налидиксовой кислоте, следует расценивать как устойчивые ко всем фторхинолонам.

Определение чувствительности к ЦРС не вызывает методических затруднений при условии тестирование двух препаратов из этой группы — цефтазидима и цефотаксима (цефтриаксона) и постановки подтверждающего теста на продукцию БЛРС. Результаты тестирования распространяются на все препараты этой группы, в т. ч. цефиксим, цефтриаксон и цефотаксим, используемые для лечения брюшного тифа.

Из-за отсутствия критериев интерпретации к азитромицину чувствительность штаммов *S. Typhi* к этому препарату можно оценить только ориентировочно, сравнивая МИК изучаемого штамма со значениями МИК, полученными для «дикой» популяции *Salmonella* (штаммы возбудителя, которые не приобрели механизмов резистентности). По данным Европейского Комитета по определению чувствительности к антибиотикам большая часть популяции *S. Typhi* имеет диапазон МИК азитромицина

4–16 мг/л. Штаммы *S. Typhi*, у которых МИК азитромицина не превышает 16 мг/л, не имеют приобретенных механизмов резистентности к азитромицину, что позволяет считать их чувствительными к этому препарату. Для определения чувствительности к азитромицину следует использовать Е-тест или метод серийных разведений.

Назначение АМП для эмпирической терапии брюшного тифа должно сопровождаться определением чувствительности к препаратам выбора с учетом методических особенностей тестирования возбудителя.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ *SALMONELLA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И ТАШКЕНТЕ В 2014–2015 гг.

Л.А. Кафтырева¹, С.А. Егорова¹, Г. Абдухалилова², А.М. Бектимиров², И.Ф. Ахмедов²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург.

² НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

Сальмонеллез является глобально распространенным инфекционным заболеванием, связанным в последние десятилетия с пищевыми продуктами промышленного птицеводства (мясом куры и яйцо-продуктами), которые во многих странах включаются в цепочку распространения резистентности от сельскохозяйственной фермы до обеденного стола потребителя. Антибиотики широко применяют во многих странах в здравоохранении, ветеринарии и сельском хозяйстве, поэтому резистентность в штаммах сальмонелл разных сероваров растет, негативным фактом является распространение ее быстрыми темпами на всех континентах. Глобализация торговли пищевыми продуктами способствует распространению устойчивых штаммов сальмонелл между различными странами. Проведено сравнительное изучение чувствительности к антимикробным препаратам штаммов *Salmonella*, выделенных от больных ОКИ в России в Санкт-Петербурге (378 штаммов) и Узбекистане в Ташкенте (25 штаммов). Тестирование и интерпретацию результатов проводили согласно международным рекомендациям EUCAST.

В Санкт-Петербурге около 80,0% изученных штаммов относились к серовару *S. Enteritidis*, в Ташкенте ведущие серовары не выявлены. Чувствительность к антибиотикам сохраняли 25,4% штаммов, выделенных в Санкт-Петербурге, и 13,7% штаммов, выделенных в Ташкенте. Устойчивость к I и более классу отмечена у 74,6% штаммов в Санкт-Петербурге и 86,3% — в Ташкенте. Множественной устойчивостью к АМП (3 и более класса) характеризовались 15,8% штаммов, выделенных в Санкт-Петербурге, и 22,8% — в Ташкенте. Как в Санкт-Петербурге, так и в Ташкенте у штаммов *Salmonella* наиболее часто отмечена устойчивость к хинолонам: 59,0 и 90,9% соответственно. Доли штаммов, устойчивых к другим АМП, в Ташкенте были значительно выше, чем в Санкт-Петербурге: к тетрациклину — 90,9 и 13,2% соответственно; к ампициллину — 59,1 и 7,7%; к ко-тримоксазолу — 45,5 и 5,3%; к хлорамфениколу — 22,7 и 4,0%. Половина штаммов *Salmonella*, выделенных в Ташкенте, характеризовались устойчи-

чивостью к цефалоспорином расширенного спектра и продуцировала БЛРС; в Санкт-Петербурге доля таких штаммов не превышала 3,0%.

Проведенное исследование выявило устойчивость к антибиотикам, в т. ч. рекомендованным для лечения сальмонеллезом: фторхинолонам и цефалоспорином 3–4 поколения. Отмечены различия в антибиотикорезистентности у штаммов, выделенных в Санкт-Петербурге и Ташкенте, что свидетельствует о различиях в государственной политике использования антимикробных препаратов.

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ РАЗНОГО РАЗМЕРА И АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ АНТИГЕНОВ БАКТЕРИЙ

М.Н. Киреев, Д.В. Уткин, П.С. Ерохин, Н.А. Шарпова, О.А. Волох

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов

Современная бактериология требует разработки быстрых и чувствительных методов для индикации и идентификации возбудителей. Выявление бактерий и их антигенов включает в себя маркировку клеток различными видами меток, которые определяются методами оптической или электронной микроскопии, иммунохимическими методами или методом флуоресцирующих антител. В случае иммуноэлектронной микроскопии применяются специфические антитела, конъюгированные с электронно-плотными частицами, такими как коллоидное золото. Значительный прогресс в методах микроскопии был достигнут с изобретением атомно-силового микроскопа (АСМ). Тем не менее, в настоящее время еще находятся в стадии разработки адекватные подходы для использования АСМ в выявлении маркеров.

В своей работе мы использовали наночастицы коллоидного золота разного диаметра, приготовленные по методу Г. Френса. Золь готовили с использованием цитрата натрия в качестве восстановителя золотохлористоводородной кислоты при температуре 100°C, были получены стабильные и гомодисперсные золи золота с частицами диаметром 17, 50 и 90 нм. При конструировании конъюгатов в качестве биологической составляющей использовали противочумную сыворотку.

Используемые в работе сыворотки конъюгировали с коллоидной меткой согласно Р. Жигмонди. Объектом исследования служили клетки бактерий возбудителя чумы *Yersinia pestis* штаммов EV НИИЭГ, И-2638, А-1726 и псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* 847. Бактерии выращивали при температуре 37°C на агаризованной среде Хоттингера. Клетки в стационарной фазе роста суспендировали в 2,5% растворе глутарового альдегида в 0,2 молярном какодилатном буфере pH 7,2–7,4 в концентрации, соответствующей 10 ед. отраслевого стандартного образца мутности и инкубировали в соответствии с МУ 1.3.3103-13 в течение 2 ч при температуре 4°C. Для проведения атомно-силового микроскопии полученную суспензию клеток в объеме 4 мкл помещали на поверхность покровного стекла. Все штаммы чумного микроба были определены, а при инкубации противочумной сыворотки с бактериями псевдотуберкулеза наночастицы золота на поверхности клеток не наблюдали.

В результате проведенных исследований показано, что наночастицы золота диаметром 17 нм практически не дифференцируются т.к. находятся в пределах разрешения метода. Наночастицы золота диаметром 50 и 90 нм хорошо визуализируются методом АСМ и могут быть использованы в качестве маркеров антител для специфического узнавания эпитопов на поверхности клеток. Наилучшая визуализация наблюдалась при использовании наночастиц диаметром 90 нм.

Таким образом, показана возможность использования наночастиц золота разного размера для выявления бактериальных клеток и их антигенов с помощью зондовой микроскопии. Предложенная методика позволяет определять одновременно несколько антигенов.

РОЛЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕМОТРАНСФУЗИЙ В УЧРЕЖДЕНИЯХ СЛУЖБЫ КРОВИ РОССИИ

**Е.Е. Киселева, В.В. Бурyleв, В.Н. Чеботкевич,
А.В. Четкин**

*ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии
ФМБА, Санкт-Петербург*

Использование серологических методов с применением диагностикумов 4-го поколения в совокупности с молекулярно-биологическими методами привело к радикальному снижению риска вирусных гемотрансмиссивных инфекций (гепатитов В, С и ВИЧ). В связи с этим бактериальная контаминация гемокомпонентов становится наиболее важным вопросом клинической трансфузиологии. Опасность развития тяжелых бактериальных осложнений при переливании контаминированной донорской крови была известна уже давно. Однако особую остроту эта проблема приобрела в середине 80-х гг. прошлого века в связи с началом широкого применения тромбоцитного концентрата (ТК). Так, бактериальная контаминация ТК (наиболее частого источника бактериального заражения реципиентов) оценивается как 1:2000, а у иммуносупрессивных пациентов даже 1:200–250 трансфузий. Для детекции бактерий в ТК разработаны автоматические методы культивирования, такие как система VacT/Alert (bioMerieux) и Vactec (Becton Dickinson). Они нашли широкое применение в мире, в т.ч. и в России. Определенным недостатком микробиологических методов является необходимость культивирования до 7 сут и невозможность выявления некультивируемых и длительно культивируемых микроорганизмов. Несмотря на указанные ограничения, на сегодняшний день автоматические системы культивирования применяются более чем в 35 странах, и многие эксперты считают данный метод «золотым стандартом». Решение проблемы бактериальной безопасности гемотрансфузий требует комплексного подхода и контроля всех этапов заготовки крови от отбора доноров до переливания гемокомпонентов реципиентам. Все медицинские изделия, предназначенные для взятия донорской крови, должны быть одноразового применения. Однако действующая «Инструкция по контролю стерильности консервированной крови и ее компонентов», утвержденная МЗ РФ в 1995 г., предусматривающая применения стеклянных емкостей,

устарела и требует пересмотра. Таким образом на-сущной задачей является разработка нормативно-методической документации, соответствующей современным реалиям и учитывающей особенности Службы крови России.

БАКТЕРИОФАГИ В ПРОФИЛАКТИКЕ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ: ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ

**И.А. Киселева¹, А.В. Алешкин¹, О.Н. Ершова²,
Н.В. Воложанцев³, Э.А. Светоч³, Л.И. Новикова¹,
С.С. Бочкарева¹**

*¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва*

*² ФГБНУ НИИ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко
МЗ РФ, Москва*

*³ ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область*

Целью исследования была оценка влияния использования лечебно-профилактического продукта (ЛПП) на основе коктейля бактериофагов у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) на циркуляцию госпитальных патогенов. 42 пациента, находящиеся на продленной ИВЛ в ОРИТ получали бактериофаг через внутрижелудочный зонд трехдневным курсом, в т.ч. ряд пациентов повторно. В состав ЛПП включили по два штамма фага на каждый из видов бактерий: *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, обладающих широким спектром литической активности на антибиотикорезистентных штаммах 73%. Титр каждого фага в ЛПП составлял 10⁸ БОЕ/мл. Уникальность, вирулентная природа и отсутствие нежелательных генов в ДНК фагов были подтверждены полногеномным секвенированием и последующим биоинформационным анализом. Доклинические испытания на двух видах животных продемонстрировали безопасность и высокую эффективность ЛПП. Из проб эндотрахеального аспирата (ЭТА), крови, мочи и кала пациентов выделяли грамотрицательные патогены (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) в доле до 87,5%. Первичный прием ЛПП показал эффективную санацию в 54–62,5% случаях. Фармакокинетические исследования указывали на системный механизм действия пероральной формы бактериофагов, проникавших через ЖКТ в кровь, мочу и ЭТА пациентов. Повторные курсы ЛПП в ОРИТ не привели к существенной эрадикации патогенов. Влияние антибиотиков и дезинфектантов на патогенные микроорганизмы в замкнутой экологической нише ЛПУ ускоряет эволюционный процесс в направлении формирования все новых штаммов, в т.ч. обладающих множественной лекарственной резистентностью. Снижение эффективности бактериофага возникает также при его повторном применении у одного и того же пациента за счет образования специфических антител к данному штамму фага. Антифаговый иммунитет после однократного применения коктейля бактериофагов конкретного штаммового состава детектировали с помощью сконструированной ИФА тест-системы по наличию титра специфических IgG-антител от 1:16 до 1:4096 (у пациентов, не принимавших коктейль бактериофагов, титр антител отсутствовал). Направлением для использования бактериофаговых препаратов в ОРИТ будет закрепление видового состава коктейля с последующим подбором (или

обязательной сменой на новые, в случае повторного применения у одного и того же пациента) фаговых штаммов, активных в отношении актуальных для ЛПУ в каждый момент времени патогенов, из имеющейся фено- и генотипически охарактеризованной коллекции бактериофагов.

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ШТАММОВ *FRANCISELLA TULARENSIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ВО ВРЕМЯ ЭПИДЕМИИ ТУЛЯРЕМИИ В ХАНТЫ-МАНСКИЙСКОМ РАЙОНЕ В 2013 г.

А.А. Кисличкина, Л.А. Кадникова, Н.В. Майская, В.И. Соломенцев, Т.Н. Мухина, С.А. Благодатских, А.Г. Богун, Т.Ю. Кудрявцева, Р.И. Миронова, В.С. Тимофеев, В.М. Павлов, А.Н. Мокриевич, И.Г. Шемякин

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Туляремия — острое инфекционное заболевание животных и человека, вызывается бактериями *Francisella tularensis*. В 2013 г. произошло резкое обострение эпизоотической ситуации по туляремии на территории Ханты-Мансийского автономного округа. Обширная эпизоотия в пойменных очагах Округа способствовала массовому заражению туляремией жителей Ханты-Мансийска. Масштабы эпидемии заставили объявить в городе и на прилегающих территориях режим чрезвычайной ситуации.

Для полногеномного секвенирования были отобраны четыре штамма *F. tularensis*: X-3, X-10 и X-7, высеянные из плевральных экссудатов с диагнозом «туляремия», и X-23/1, выделенный из селезенки бурозубки во время эпидемии. Для данных штаммов был выполнен анализ MLVA по 25 локусам. Они были генетически идентичными по 24 локусам и отличались между собой по гипервариабельному локусу Ft-M3. Различия в длине данного локуса позволили разделить изучаемые штаммы на 4 индивидуальных генотипа, содержащих 9 (*F. tularensis* X-3), 10 (*F. tularensis* X-10), 15 (*F. tularensis* X-7) и 17 (*F. tularensis* X-23/1) повторов.

Полногеномное секвенирование штаммов было осуществлено на платформе Illumina MiSeq, с использованием наборов Nextera DNA Library Preparation Kit и MiSeq Reagent Kits v2, согласно рекомендациям производителя. Полученные единичные прочтения были собраны в контиги при помощи программы Newbler Assembler 2.9 (Roche). Сборка штамма *F. tularensis* X-3 составила 120 контигов, с общей длиной 1 767 943 п.н.; сборка штамма *F. tularensis* X-10 — 133 контига (1 769 431 п.н.); сборка штамма *F. tularensis* X-7 — 115 контигов (1 767 469 п.н.); сборка штамма *F. tularensis* X-23/1 — 179 контигов (1 781 464 п.н.).

Для сравнения генетического различия использовали программу Wombac 2.0 (<http://www.bioinformatics.net.au/software.wombac.shtml>). Данная программа позволяет находить коровые SNP в нуклеотидных последовательностях и производить выравнивание этих полиморфизмов, которые могут быть использованы для построения филогенетических деревьев. С помощью данной программы выявлено 126 сайтов SNP. У штаммов *F. tularensis* X-3 и X-7 выявлено по 17 индивидуальных SNP, у штамма *F. tularensis* X-10 — 23 SNP, у штамма *F. tularensis* X-23/1 — 63 SNP. Выявлено 5 общих SNP — для штаммов *F. tularensis* X-7 и *F. tularensis* X-3 и один общий SNP у штаммов *F. tularensis* X-3 и *F. tularensis* X-10.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ КЛАССИФИКАЦИИ *YERSINIA PESTIS* НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

А.А. Кисличкина, Л.А. Кадникова, Н.В. Майская, М.Е. Платонов, С.А. Благодатских, Т.Н. Мухина, В.И. Соломенцев, А.Г. Богун, А.П. Анисимов

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Несмотря на давнюю историю изучения *Yersinia pestis*, возбудителя особо опасной природно-очаговой болезни — чумы, до сих пор отсутствует его общепринятая внутривидовая классификация.

Цель работы — совершенствование внутривидовой таксономии *Y. pestis* на основе данных полногеномного секвенирования.

Полногеномные последовательности 60 штаммов *Y. pestis* из базы данных NCBI Genome анализировали с помощью программы Wombac 2.0 (<http://www.bioinformatics.net.au/software.shtml>), позволяющей находить коровые SNP.

Штаммы *Y. pestis* сформировали пять кластеров, содержащих по одному SNP-типу: 0.PE7, 0.PE2, 0.PE4, 0.PE3, 0.PE5. В первый кластер, ближе всего расположенный к *Y. pseudotuberculosis* IP32953 (референс), вошли штаммы SNP-типа 0.PE7. Во второй кластер вошли штаммы, относящиеся к SNP-типу 0.PE2 (*bv. saucasica*). В этом кластере выделяются три ветви, соответствующие природным очагам 39, 04 и группе очагов 05–07. Третий кластер представлен всего одним штаммом — Angola (0.PE3). В четвертый кластер вошли штаммы, относящиеся к SNP-типу 0.PE4. Эти штаммы образуют три группы — А, В (*bvv. altaica*, *hissarica*, *talassica*) и С (*bvv. xilingolensis*, *qinghaiensis*). В пятый кластер вошли штаммы, относящиеся к SNP-типу 0.PE5 (*bv. uleigeica*). Еще один кластер сформирован SNP-типами 0.ANT1, 0.ANT2, 0.ANT3, 1.ANT1, 2.ANT1, 2.ANT2, 2.ANT3, 3.ANT1, 3.ANT2, 4.ANT1, 2.MED1, 1.IN2, 1.IN3, 1.ORI1 (*bvv. antiqua*, *medievalis*, *orientalis*). Эти штаммы высоковирулентны и высококонтагиозны для широкого круга млекопитающих. Штаммы остальных SNP-типов циркулируют в популяциях полевок разных видов, как правило, слабовирулентные для морских свинок и людей. Они могут являться причиной редких заболеваний людей, не сопровождающихся передачей инфекции от человека к человеку.

Расположение на дендрограмме филогенетических групп чумного микроба кластера, включающего эпидемиологически значимые штаммы *Y. pestis* с универсальной вирулентностью, напоминает таковое для всех штаммов возбудителя чумы на дендрограмме SNP-типов его прародителя — *Y. pseudotuberculosis*. Принципиальным отличием, послужившем основанием для выделения чумного микроба в отдельный вид, были эпидемиологические особенности и несхожесть клинических картин вызываемых ими заболеваний. Мы предлагаем на основании медицинской значимости различий и по аналогии с выделением возбудителя чумы в отдельный вид разделить вид *Y. pestis* на два подвида *subsp. microti* и *subsp. pestis*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-15-00599).

РАСШИФРОВКА ГРИППА И ОРВИ В ТИХВИНСКОМ РАЙОНЕ В 2015–2016 гг.

Е.Е. Козлова, Н.Д. Курочкина

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Тихвинском районе

Введение. В Тихвинском районе ежегодно наблюдается высокая заболеваемость острыми респираторными инфекциями (грипп+ОРВИ). Доля детей в возрасте до 17 лет среди заболевших составляет более половины случаев.

В 2015 г. в Тихвине и Тихвинском районе заболели 25 144 человек (поставлен диагноз «ОРВИ»), 538 человек заболели пневмонией и у одного больного зарегистрирован грипп.

В 2016 г. (данные по май включительно) диагноз «ОРВИ» поставлен 6871 человеку, «пневмония» — 26-ти, «грипп» — 6-ти.

С уверенностью отличить грипп от ОРВИ, поставить диагноз «грипп» по клинической картине невозможно. Для подтверждения диагноза требуются лабораторные методы исследования.

В нашем районе серологическое исследование гриппа не проводится, вирусологический метод также труднодоступный и дорогостоящий, иммуноферментным методом диагностики гриппа в ЛПУ не владеют.

В лаборатории Филиала подобные исследования проводятся методом ПЦР.

Цель: исследование клинического материала на РНК вирусов гриппа А (в т.ч. АН1N1, АН3N2), вирусов гриппа В, РНК вируса гриппа свиней А/Н1, РНК респираторно-синтициального вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавируса, риновирусов, ДНК аденовирусов групп В, Си Е и бокавируса для постановки в кратчайшие сроки диагноза и назначения больному соответствующего лечения.

Материалы и методы. Для диагностики и расшифровки ОРВИ в бактериологической лаборатории Филиала применяется метод ПЦР (полимеразная цепная реакция) в режиме реального времени. Метод высокочувствителен и позволяет выявлять генетический материал вирусов в тех случаях, когда другими методами это сделать еще невозможно — даже до первых симптомов заболевания. Этот метод специфичен, и если его выполнять правильно, ложных результатов не будет. Анализ выполняется за 3–4 ч. Для проведения ПЦР используется набор реагентов серии «Мультипрайм»: «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» — набор реагентов для выявления возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека (ОРВИ): РНК респираторно-синтициального вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавируса, риновирусов, ДНК аденовирусов групп В, С и Е и бокавируса в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией; набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А и гриппа В в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией «АмплиСенс». Для исследования необходим биологический материал: мазки из носа и ротоглотки.

Результаты. В 2015 и 2016 гг. (по май включительно) было обследовано 263 больных с предварительными диагнозами «ОРВИ», «острый трахеит», «пневмония», «грипп».

Из них: в 2015 г. — 81 человек (в основном исследования проводились в рамках эпидмониторинга), в 2016 г. обследованы 162 человека (37 человек — в рамках эпидмониторинга и 125 лиц по договору с ГБУЗ ЛО «Тихвинская межрайонная больница»).

В ходе проведенных исследований выделено 27 РНК вирусов гриппа АН1N1, 2 РНК вирусов гриппа В, 10 РНК риновирусов, 1 РНК респираторно-синтициальный вирус, 1 ДНК бокавируса). В ходе лабораторного мониторинга преимущественно выделены вирусы гриппа АН1N1, из них 6 — от детей до 5 лет. В 50% случаев риновирусы выделены от детей. Обследовались в основном лица с тяжелым течением заболевания и дети, а также контактные с больными свиным гриппом. Работа велась в тесном взаимодействии с врачами отделений ЛПУ, особенно с врачами-инфекционистами и реаниматологами.

По мере получения результатов исследований, корректировалось лечение больных.

Заключение. С целью усовершенствования диагностики гриппа, ОРВИ, во время подъема заболеваемости острыми респираторными заболеваниями необходимо проводить лабораторную диагностику и взаимодействовать с врачами-клиницистами с целью повышения эффективности лечения больных с ОРВИ.

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ КЛЕБСИЕЛЛ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Н.С. Козлова¹, Н.Е. Баранцевич², Е.П. Баранцевич², В.Г. Гоик²

¹Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

²Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр, Санкт-Петербург

Цель исследования — определение устойчивости к антибиотикам клебсиелл, выделенных от пациентов многопрофильного стационара.

Материалы и методы. Методом серийных разведений в агаре Мюллера–Хинтон определяли чувствительность 111 штаммов клебсиелл, выделенных из мочи и респираторного тракта (РТ) больных многопрофильного стационара, к 16 антибактериальным препаратам (АБП): ампициллину (Ар), цефотаксиму (Сtx), цефепиму (Срm), цефиксиму (Сfx), цефтриаксону (Сta), комбинациям амоксициллин/клавуланат (Аm/cl), пиперациллин/тазобактам (Pi/tz), цефоперазон/сульбактам (Сfp/sb), ципрофлоксацину (Сip), моксифлоксацину (Мох), имипенему (Im), меропенему (Mr), эртапенему (Ert), гентамицину (Gm), амикацину (Ak), фосфомицину (F).

Результаты. Все изученные культуры оказались устойчивы хотя бы к одному АБП, при этом преобладали штаммы, устойчивые к ампициллину (природная резистентность — 100%), цефалоспорином III поколения (по 66,7%) и цефепиму (64,9%). Меньшая часть клебсиелл была устойчива к Gm (59,5%), Сip (58,6%), Мох (46,8%), комбинациям Аm/cl (61,3%), Pi/tz (44,1%) и Сfp/sb (41,4%), Ak (35,1%) и F (30,6%). Наибольшую активность в отношении клебсиелл проявляли карбапенемы (устойчивость к Ert составила 15,3%, к Mr 4,5%, к Im — 0,9%). Среди клебсиелл был выявлен очень высокий удельный вес по-

лирезистентных культур, он составил более двух третей от общего числа штаммов (67,6%). Один штамм, выделенный из мочи, оказался устойчивым одновременно к 15 из изученных 16 препаратов, в т. ч. ко всем карбапенемам, и проявлял чувствительность только к фосфомицину. Интересно отметить, что устойчивость клебсиелл различного происхождения несколько отличалась. Так, среди клебсиелл, выделенных из РТ, удельных вес культур, устойчивых к F (50,0%), Мох (60,9%) и Мг (8,7%), был значительно выше, чем у выделенных из мочи (16,9; 36,4 и 1,5% соответственно). В отношении Ак картина была противоположна — резистентных к нему культур было выявлено почти в 2 раза больше в моче (43,1%), чем в РТ (23,9%). Удельный вес штаммов с устойчивостью к остальным АБП, был практически одинаков в обоих биотопах, так же как и число полирезистентных культур (67,4% в РТ и 67,7% в моче).

Выводы. Среди клебсиелл, выделенных в многопрофильном стационаре, преобладали антибиотикорезистентные культуры с высоким удельным весом полирезистентных штаммов. Устойчивость клебсиелл различного происхождения несколько отличалась, что может быть связано с особенностями антибиотикотерапии инфекций различной локализации. Наибольшую активность в отношении клебсиелл проявляли карбапенемы, особенно имипенем и меропенем. Появление культур, устойчивых к карбапенемам, подтверждает необходимость проведения постоянного мониторинга антибиотикорезистентности микроорганизмов в стационарах с анализом механизмов их устойчивости.

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ *HELICOBACTER PYLORI* ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НР-АССОЦИИРОВАННОЙ ПАТОЛОГИИ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ

И.С. Кормщиков², Е.М. Спивак², Р.М. Левит², Г.В. Кузьмина¹, Д.Л. Мордашев¹, Т.Н. Барановская¹, М.Ю. Деменчук¹

¹ Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области, г. Ярославль

² Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль

Цель работы — дать характеристику клинических особенностей и патоморфологии слизистой оболочки желудка (СОЖ) при хроническом гастродуодените у детей в зависимости от генотипа *Helicobacter pylori* (Нр).

Пациенты и методы. Обследовано 292 ребенка с хроническим гастродуоденитом. С помощью полимеразной цепной реакции определяли наличие штаммов Нр, имеющих следующие факторы патогенности: вакуолизирующий цитотоксин А (VacA), цитотоксин-ассоциированный ген (CagA), ген цитотоксичности IceA (induced by contact with epithelium), BabA (blood-group-associated binding adhesion), а также субъединицу уреазы Ure I (использованы тест-системы фирм «Синтол» и «Литех», Россия).

Результаты. При типировании Нр в 54,4% случаев выявлены высокопатогенные штаммы, имеющие один или несколько вышеперечисленных факторов (основная группа). В остальных случаях Нр не содержал указанных генов (группа сравнения). Характеристика молекулярно-генетической структуры Нр больных основной группы показала, что

чаще всего регистрировались штаммы Нр, содержащие Ure I (37,8%). Несколько реже (30%) обнаруживались штаммы с VacA, каждый четвертый ребенок имел Нр с IceA и CagA, 10% — BabA. Сочетание двух и более факторов патогенности зафиксировано в 2/3 случаев.

В ходе клинического обследования пациентов не выявлено достоверных межгрупповых различий. Установлено, что колонизация СОЖ высокопатогенными штаммами Нр сопровождается увеличением площади и выраженности воспаления, у 20% больных основной группы обнаружены визуальные признаки атрофии СОЖ. В группе сравнения, напротив, доминирует незначительное поверхностное воспаление без признаков атрофии. Вовлечение в процесс слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки имело место у 66,6% детей основной группы и только у 27,5% в группе сравнения, $p < 0,005$.

Заключение. При Нр-ассоциированной форме хронического гастродуоденита у детей наличие Нр с факторами высокой патогенности ассоциируется с расширением зоны воспаления СОЖ, увеличением его выраженности, формированием гиперпластического процесса и появлением макроскопических признаков атрофии.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АГАРА МЮЛЛЕРА–ХИНТОН II

И.С. Косилова¹, Л.В. Домотенко¹, А.П. Шепелин¹, М.Г. Ершова², С.Н. Ангелова², Е.Д. Полетаева²

¹ ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

² ГУЗ Ярославской области инфекционная клиническая больница № 1, г. Ярославль

Цель: оценить агар Мюллера–Хинтон II (Оболенск) в сравнительных испытаниях по определению антибиотикочувствительности клинических штаммов бактерий к антибактериальным препаратам (АБП) диско-диффузионным методом (ДДМ).

Материалы и методы. В работе использовали 37 клинических штаммов, из них *K. pneumoniae* — 5, *P. aeruginosa* — 7, *A. baumannii* — 5, *S. aureus* — 7, *E. coli* — 6; *E. faecalis* — 6 и *E. faecium* — 1. Для постановки теста использовали диски с 38 АБП разных групп производства BD и Mast Group, причем для анализа *E. faecalis* и *E. faecium* использовали 6 дисков, *K. pneumoniae*, *E. coli* и *S. aureus* — 8 дисков, а *P. aeruginosa* и *A. baumannii* — 11 дисков.

Для ДДМ использовали находящийся на стадии госрегистрации агар Мюллера–Хинтон II (МХА–Оболенск) и в качестве контрольной среды Mueller Hinton Agar (МХА–Bio-Rad).

Результаты. Всего выполнено по 318 тестов на каждой питательной среде. Значения диаметров зон ингибиции на обеих средах совпадали между собой практически для всех АБП, отличаясь максимално на 1–2 мм, что не влияло на определение клинических категорий чувствительности анализируемых штаммов. Обнаружено пять (1,6%) несоответствующих результатов.

Три несоответствия (0,9%) отмечены при определении чувствительности *Escherichia coli* 1887/8 к аугментину, нетилмицину и цефуроксиму. Анализ результатов показал, что несоответствия связаны с технической ошибкой при постановке теста и после переконтроля результаты тестирования на обеих средах совпадали.

Несовпадение диаметров зон ингибиций также отмечено при тестировании чувствительности *Acinetobacter baumannii* 2101 к тигециклину. Поскольку в требованиях EUCAST отсутствуют интерпретационные характеристики для определения чувствительности *Acinetobacter* к тигециклину, то для оценки чувствительности использовали таблицу *Enterobacteriaceae*, по которой штамм отнесли к устойчивому на МХА–Оболенск и к умеренно устойчивому на МХА–Bio-Rad.

Еще одно несовпадение (0,3%) отмечено при анализе чувствительности *Pseudomonas aeruginosa* 780 к ципрофлоксацину, что привело к отнесению штамма к устойчивому на МХА–Bio-Rad и к чувствительному на МХА–Оболенск. В процессе переконтроля результаты на обеих средах совпадали и соответствовали данным, полученным на МХА–Bio-Rad.

Вывод. При определении антибиотикоустойчивости клинических штаммов микроорганизмов на МХА–Оболенск и МХА–Bio-Rad получено хорошее совпадение результатов. Для валидирования МХА–Оболенск будут проведены дальнейшие исследования.

ИЗМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Л.А. Краева^{1,2}, О.В. Григорьев¹, Е.С. Кунилова², Д.А. Баулин¹

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

При всех прочих преимуществах классического метода посевов при исследовании на микробную флору он имеет существенный недостаток — длительность выполнения. Результативность лечения во многом зависит от своевременности выявления этиологически значимого микроорганизма и назначения адекватной противомикробной терапии. Известно, что инфракрасное излучение характеризуется стимулирующим эффектом в отношении обменных процессов, протекающих в клетках человека и животных. Влияние длинноволнового инфракрасного излучения на микроорганизмы слабо изучено, однако, по аналогии с любой живой клеткой, можно ожидать изменение их биологических свойств.

Поэтому целью исследования стало: изучить влияние инфракрасного излучения низкой интенсивности на рост микроорганизмов и их отношение к антимикробным препаратам. В работе использованы музейные штаммы микроорганизмов различных групп: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Candida albicans*. Источником инфракрасного излучения служила матрица с длиной волны 5 мкм и мощностью плотности излучения 5 мВт/см². Изучали количество выросших через 24 ч на плотной среде колоний микробов, скорость их формирования, а также чувствительность бактерий к противомикробным препаратам до и после облучения в течение 5 мин с расстояния 5 см.

Установлено, что после воздействия инфракрасным излучением количество выросших колоний *S. aureus* увеличилось в 8 раз по сравнению с контролем, а *K. pneumoniae* — в 14 раз. Количество корин-

бактерий и кандид в результате эксперимента не изменилось. Скорость роста *S. aureus* и *K. pneumoniae* в опыте увеличилась в 4 и 6 раз соответственно. После облучения штаммов *S. aureus* увеличилась их чувствительность к целому ряду антибиотиков: пенициллинам, аминогликозидам, тетрациклинам, цефалоспорином, фторхинолонам (в среднем на 10%). В то же время чувствительность коринбактерий и клебсиелл к антибиотикам, а грибов *Candida* — к антимикотикам после воздействия инфракрасного излучения не изменилась.

Полученный значительный отклик на инфракрасное излучение со стороны штаммов *S. aureus* может быть использован для ускорения роста, а значит, и диагностики инфекционных процессов, обусловленных ими, особенно при выявлении штаммов, циркулирующих в лечебных учреждениях. Повышение чувствительности *S. aureus* к антибиотикам требует дальнейшего глубокого изучения, направленного на реализацию возможной коррекции дозы антибактериального препарата без снижения его терапевтического эффекта.

СОЗДАНИЕ БАЗЫ ДАННЫХ ВИЗУАЛЬНЫХ ОБРАЗОВ МАКРО- И МИКРОКОЛОНИЙ И ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК БАКТЕРИЙ

Л.А. Краева^{1,2}, Г.Н. Хамдулаева¹, А.Л. Панин², А.А. Новицкий², В.С. Проскурин²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Первичная идентификация микроорганизмов при классическом бактериологическом исследовании начинается на этапе изучения выросших на плотной среде колоний. При этом опыт микробиолога позволяет различать микроорганизмы разных видов, относящихся даже к одному роду. Также большое значение имеет микроскопия окрашенных мазков выросших бактерий. Однако эти отличия можно заметить после формирования макроколоний, т. е. не менее, чем через сутки после посева материала на питательную среду. Тем не менее, колонии микроорганизмов начинают формироваться уже через несколько часов и могут быть рассмотрены при достаточном увеличении.

Поэтому целью работы стало: изучить визуальные образы микроорганизмов на уровне микро- и макроколоний, а также в окрашенных мазках бактерий с последующим созданием базы данных и шаблона оценки бактерий. Для получения достоверных шаблонов образов в базу данных были помещены изображения 16-ти видов микроорганизмов. Визуальные образы колоний, выросших через 24 ч инкубации, изучали с помощью стереоскопического микроскопа Stemi 2000-C при увеличении в 40 раз. Запись изображений производили с помощью встроенной цифровой видеокамеры AxioCam HRC Rev3 и программы для обработки изображений. Макроколонии описывали по 14 параметрам. Визуальные образы микроколоний, формирующихся на поверхности плотной питательной среды уже через 3–4 ч, можно было наблюдать с помощью микроскопа Axio Scope A1 («Zeiss») и специальных объективов N-achroplan для работы с объемным изображением при увеличении в 630 раз. Образы микро-

колоний описывали по 8 параметрам. Параметры макро- и микроколоний учитывались при создании цифровых шаблонов каждого вида микроорганизма. Микроскопия окрашенных мазков также производилась на микроскопе с цифровой камерой при увеличении в 1000 раз.

В результате была создана начальная база визуальных образов микроорганизмов по трем категориям, с помощью которой при достаточном ее наполнении можно будет получать представление о виде микроорганизма с высокой степенью достоверности. Через 3–4 ч после посева материала на плотную среду снимается изображение микроколоний, через 24 ч — изображение макроколоний и микроскопия окрашенных мазков из суточной культуры. На каждом этапе проводится цифровая обработка изображений и сравнение полученного образа с шаблонами базы данных визуальных образов. Таким образом, через 24 ч можно получить предварительный результат о видовой принадлежности выделенного микроорганизма.

ВЛИЯНИЕ ПЕРСИСТЕНЦИИ ГЕРПЕСВИРУСОВ НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА У ДЕТЕЙ

Г.В. Кузьмина¹, Д.Л. Мордашев¹, Е.М. Спивак², Р.М. Левит², Т.Н. Барановская¹, М.Ю. Деменчук¹

¹ Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области, г. Ярославль

² Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль

Цель работы — установить влияние вирусов семейства *Herpesviridae* на основные характеристики воспаления в слизистой оболочке желудка (СОЖ) при хроническом гастродуодените у детей.

Пациенты и методы. Обследовано 224 ребенка 7–16 лет с хроническим гастродуоденитом. Факт персистенции вирусов герпеса человека (ВГЧ) 4, 6 и 8 типов в СОЖ устанавливали полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с использованием комплекса реагентов для ПЦР-амплификации ДНК с флуоресцентной детекцией по конечной точке (тест-системы фирм «ДНК-Технология» и «Синтол», Россия).

Результаты. ВГЧ 8 типа не был обнаружен ни в одном случае, но одновременно имела место высокая частота регистрации ВГЧ 6 (63,4%) и ВГЧ 4 (49,2%) типов. Доли пациентов, у которых выявлялась персистенция ВГЧ 6, были практически равными при различных степенях воспаления в СОЖ. Сравнение подгрупп больных, позитивных и негативных в отношении ВГЧ 6, не позволило выявить различий в клинической, эндоскопической и морфологической картине заболевания. Таким образом, значимое влияние персистенции ВГЧ 6 типа на течение хронического воспаления в СОЖ у детей отсутствует.

Персистенция ВГЧ 4 типа (вирус Эпштейна–Барр) сопровождается распространением воспаления вплоть до пангастрита (52%), с усилением его выраженности и активности. Макроскопически для такого варианта заболевания характерно формирование гиперпластического процесса (76%) с частым появлением очаговой гиперплазии лимфоидной ткани (37%) и микроэрозий (15%). Персистенция вируса Эпштейна–Барр в СОЖ у детей способствует ее колонизации высокопатогенными

штаммами *Helicobacter pylori*, а также является одной из причин неэффективности антихеликобактерной терапии.

Заключение. Таким образом, наличие вируса герпеса человека 6 типа в СОЖ у детей не оказывает влияния на характеристики воспаления в ней. Персистенция вируса герпеса человека 4 типа (Эпштейна–Барр) способствует формированию распространенного выраженного активного воспаления, торпидного к стандартной эрадикационной терапии. Вирус герпеса человека 8 типа в СОЖ у детей с хроническим гастродуоденитом не обнаруживается.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ (LAMP) ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ *FRANCISELLA TULARENSIS*

Е.С. Куликалова¹, С.В. Балахонов¹, А.К. Сынгеева¹, Р.В. Адельшин¹, С.Ф. Бикетов², И.Ю. Шит², А.В. Мазепа¹, Л.В. Миронова¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, г. Иркутск

² ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболонск, Московская область

В последние годы разработана новая молекулярно-генетическая амплификационная технология — loop-mediate isothermal amplification (LAMP) — показала высокую чувствительность и специфичность, а также высокую амплификационную эффективность при изотермальных условиях реакции (Kaneko H., 2007; Soto E., 2009). За это время разработаны LAMP-тесты для диагностики более 100 возбудителей различных заболеваний человека и животных. Однако для патогенных видов *Francisella tularensis* готовые к использованию диагностические LAMP-тесты отсутствуют.

Цель работы — определить и отработать оптимальные условия проведения, чувствительность и специфичность LAMP для выявления ДНК штаммов *F. tularensis*.

Испытания проводили с использованием 10 штаммов туляремийного микроба разных подвидов: *F. tularensis* spp. *holarctica*, *mediasiatica*, *tularensis* и *novicida*. Для проверки специфичности реагентов для амплификации при проведении реакции применили пять гетерологичных к *F. tularensis* видов — *Yersinia pestis* ssp. *pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*. Для проверки чувствительности предложенных наборов праймеров к ДНК штаммов *F. tularensis* испытаны два метода выделения ДНК.

Подобрана оптимальная температура отжига (60°C) для трех наборов праймеров в термоциклере «Термик», что обеспечило высокие показатели чувствительности и специфичности для трех наборов праймеров. Для выявления искомым фрагментов наборами праймеров Ft28, Ft35 и Ft40 в LAMP возможно выделение ДНК из штаммов туляремийного микроба как методом термоэкстракции, так и с помощью коммерческого набора «Рибопреп» с максимальными показателями специфичности. Концентрационная чувствительность для набора Ft28 установлена до разведений 10² мк/мл в 100% образцов, 10¹ мк/мл — 50%; Ft40: до разведения 1 × 10³ мк/мл — 100% положительных результатов, 1 ×

10^2 мк/мл — 77,8% и 1×10^1 мк/мл — 55,5%, что позволяет сделать вывод о пригодности этих мишеней для детекции *F. tularensis* в термоэкстрактах штаммов. Способность набора праймеров Ft35 выявлять ДНК туляремийного микроба в разведениях 1×10^5 мк/мл (75%), 1×10^4 мк/мл и 1×10^3 мк/мл (0,17%) значительно ниже в сравнении с чувствительностью коммерческих наборов для выявления ДНК.

Таким образом, апробация наборов праймеров для выявления возбудителя туляремии показала высокую специфичность, чувствительность и работоспособность рекомендованных условий реакции.

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ БИОПЛЕНКИ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА: ПОЛУЧЕНИЕ, ПОДГОТОВКА ПРЕПАРАТА И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЦИТОАРХИТЕКТониКИ

Е.С. Куликалова¹, Л.Я. Урбанович¹, С.Г. Саппо¹, Л.В. Миронова¹, В.В. Мальник², С.В. Балахонов¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, г. Иркутск

² ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

Для исследования биопленки в сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) требуется шадящая процедура фиксации препаратов с максимальным сохранением ее строения. Обязательное требование при подготовке этих препаратов — обеззараживание материала. Сложности с материалом, содержащим биопленку *V. cholerae eltor* в шероховатой R-форме и биопленку *V. cholerae* O139 связаны в первом случае с образованием экзополисахарида и наличием капсулы — во втором.

Цель работы — получение, подбор сохраняющих целостность биопленки холерного вибриона условий фиксации и обеззараживания, их изучение в СЭМ.

Культура холерного вибриона (четыре штамма O1 и O139 серогрупп в S- и R-форме) в конечной концентрации 10^7 мк/мл помещается во флаконы с автоклавированной речной водой со стерильными покровными стеклами для инкубации при 18–22°C. В определенные сроки покровные стекла укладываются в чашки Петри материалом вверх, промываются дистиллированной водой, фиксируются 2,5% раствором глутарового альдегида и проводятся через серию спиртов восходящей концентрации (от 50 до 100%) и ацетон (Кузнецов О.С., 2010, в нашей модификации) с контролем их специфической стерильности. После напыления золотом образцы исследуются в СЭМ Philips SEM525M.

Электронно-микроскопическое изучение препаратов выявило особенности цитоархитектоники полученной в эксперименте (30–150 сут) биопленки указанных штаммов. Установлено, что в первые 30 сут морфология вибрионов представлена в виде типичной и полой формы клеток (иногда делящихся) с дальнейшим образованием (60 сут) тяжелей из этих клеток, а также (у вибрионов O139 серогруппы в R-форме) — округлой формы с отчетливо выраженными пиллями и соединительными тяжами клетки, объединенные между собой в виде микроколонии, нередко многослойные, иногда с сетчатой структурой матрикса и немногочисленными в нем вибрионами. Отмечены погруженные в плотный матрикс гроздевидные скопления из клеток округлой формы, вновь формирующиеся из типичных форм вибриона

микроколонии (120 сут), а также клеточный детрит. В отдаленный срок (150 сут) морфология биопленки представлена подвергшимися лизису конгломератами, изолированными клетками типичной и кокковидной формы, для штаммов в R-форме — микроколониями из типичных вибрионов и единичных округлой формы клеток.

Таким образом, особенностью цитоархитектоники биопленки холерного вибриона O1 и O139 серогрупп и их R-вариантов является формирование микроколоний с участием межклеточных связей, пилей, а также экстрацеллюлярного материала.

ВОЗМОЖНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКЛЮША

Н.Н. Курова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В 2008–2015 гг. уровень официально регистрируемой заболеваемости коклюшем снизился и составлял в РФ от 2,5 до 5,1, а в Санкт-Петербурге от 8,3 до 20,8 на 100 000 населения — самые низкие показатели за весь период регистрации заболеваемости. От коклюша привито более 95% детей. В сложившихся условиях болеют преимущественно дети младше 1 года и школьники, утратившие поствакцинальный иммунитет. Дети школьного возраста переносят заболевание преимущественно в легкой форме, нередко родители поздно обращаются к врачу, и лабораторная диагностика проводится ретроспективно, на фоне антибактериальной терапии.

Бактериологический метод всегда считался «золотым стандартом» лабораторной диагностики коклюша, однако он эффективен только в первые три недели от начала заболевания, до начала приема антибиотиков, а у привитых детей среднего и старшего школьного возраста продромальный период может затягиваться до трех недель, диагноз редко устанавливается до начала периода судорожного кашля, и эффективность метода у этой возрастной группы резко снижается. Наиболее эффективен бактериологический метод у детей первого года жизни.

Диагностика методом ПЦР эффективна до четырех–пяти недель от начала заболевания даже на фоне проводимой антибиотикотерапии, кроме того, при транспортировке взятого материала не требуется соблюдения сжатых сроков и удобнее температурный режим. Метод наиболее эффективен у детей первого года жизни, однако успешно применяется у пациентов любого возраста.

Серологическая диагностика может применяться, начиная с третьей недели болезни, но более эффективной становится на четвертой–пятой неделе. Метод ИФА значительно превосходит по чувствительности реакцию агглютинации. Коклюшный токсин является единственным антигеном, специфичным для *Bordetella pertussis*. У непривитых пациентов на ранних сроках возможно обнаружение IgM, однако более универсально и эффективно как у непривитых, так и у привитых выявление высокого уровня IgG в сочетании с IgA.

Таким образом, необходим индивидуальный подход к назначению лабораторного обследования при диагностике коклюша, учитывающий возраст и вакцинальный статус пациента, а также срок от начала заболевания.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДВУХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА МУРОПЕПТИДОВ ИЗ *SALMONELLA TYPHI* 4446

В.П. Левчук¹, Н.И. Лунева¹, В.В. Перелыгин¹, М.В. Храмов¹, И.К. Вернер², А.В. Кечик²

¹ ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

² ООО «Корус Фарм», Москва

Биомасса *Salmonella typhi* 4446 служит основой для выделения комплекса муропептидов с целью получения иммуномодулятора «Полимурамил». В настоящей работе проводили сравнение эффективности двух питательных сред по выходу биомассы на начальной стационарной фазы роста. В работе использовали штамм *Salmonella typhi* 4446 из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ — Оболенск». Идентичность культуры подтверждена на анализаторе Bruker Daltonics MALDI Biotyper и реакции агглютинации с сывороткой на Vi-антиген. Культивирование штамма во всех экспериментах проводили на ферментере Bioflo 110 NBS общим объемом 7,5 л с коэффициентом заполнения 0,67 при следующих параметрах: температура 37°C, аэрация от 1 до 2 л/мин, обороты мешалки регулировали в автоматическом режиме системой обратной связи КАСКАД по концентрации растворенного кислорода рО₂ (20%).

Инокулят в объеме 10% от конечного объема питательной среды выращивали в качалочных колбах объемом по 0,75 л, содержащих по 0,25 л питательной среды. Среда № 1 на основе панкреатического гидролизата рыбной муки (производство ФБУН ГНЦ ПМБ): гидролизат рыбной муки — 8 г/л; пептон — 8 г/л; NaCl — 4 г/л, с добавками глюкозы — 5 г/л и дрожжевого экстракта — 5 г/л. В ходе ферментации добавляли дрожжевой экстракт — 5 г/л и дважды — раствор глюкозы — 5 г/л. Среда сравнения № 2: Na₂HPO₄ × 12H₂O — 7,57 г/л; K₂HPO₄ — 3,95 г/л; NaCl — 2,0 г/л; MgSO₄ × 7H₂O — 0,0002 г/л; глюкоза — 7,0 г/л; пептон — 10,0 г/л; дрожжевой экстракт — 7,0 г/л.

В результате проведенной работы показана эффективность сред по выходу сырой биомассы и по КОЕ (колониеобразующие единицы). При культивировании штамма *S. typhi* 4446 в течение 6 ч при температуре 37°C выход культуры по оптической плотности на начало стационарной фазы роста составил на среде № 2 от 3,2 до 3,4 единиц, а на среде № 1 — в 2–3 раза больше. Выход сырой биомассы составляет 11 г/л со среды № 2 и до 20 г/л со среды № 1.

Таким образом, предлагаемая нами среда № 1 и процесс культивирования являются более эффективными при глубинном культивировании штамма *S. typhi* 4446 по параметру выхода КОЕ и сырой биомассы для получения комплекса муропептидов.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ *CANDIDA ALBICANS* С ЦЕЛЬЮ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИИ

С.А. Лисовская, Е.В. Халдеева

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань

В настоящее время получено значительное количество данных о том, что микроорганизмы в составе биопленки влияют на течение хронических

воспалительных заболеваний. Среди грибов особое место занимают инфекции, вызываемые *Candida* spp. и, прежде всего, *Candida albicans*, на долю которого приходится ведущее место среди возбудителей хронических форм заболеваний. Известно, что грибы *C. albicans* образуют биопленки на медицинских приборах, искусственных протезах, а также на поверхности эпителиальных клеток восприимчивого организма. Биопленки обладают высоким уровнем толерантности к антителам, антимикотикам, антисептикам, дезинфектантам. К сожалению, стандартные методы противогрибкового лечения направлены на отдельно существующие планктонные клетки, тогда как клетки внутри биопленки размножаются и вновь диссеминируют после завершения курса лечения, часто формируя очаги хронической персистирующей инфекции, способствуя рецидивированию заболевания.

Цель работы: изучить влияние противогрибковых препаратов (тербинафин, флуконазол и нистатин) на рост и процесс формирования биопленок клиническими штаммами *C. albicans*, выделенных от больных с различными формами кандидозов на модели *in vitro*.

Материалы и методы. Объектами исследования служили 9 штаммов *C. albicans*, выделенные от пациентов с клиническими признаками поверхностной кандидозной инфекции различной локализации (слизистых зева, кожных покровов и ногтевых пластин), находящихся на амбулаторном лечении. Определение чувствительности *C. albicans* в составе биопленок проводили методом, предложенным Ramage et al.

Результаты. Действие препаратов изучали в концентрациях от 0,19 до 200 мкг/мл. В ходе исследования выявлена способность тербинафина и флуконазола подавлять образование биопленок в низких концентрациях. Флуконазол в ходе всего исследования подавлял формирование биопленки. Однако тербинафин в концентрации 100 мкг/мл стимулировал процесс пленкообразования трех клинических штаммов в 1,5 раза. Биопленкообразование штаммами, выделенными с кожи, под воздействием нистатина в концентрациях 6,2 и 12,5 мкг/мл увеличивалось более чем в 3 раза по сравнению с контролем (0,31±0,01 и 0,07±0,01 соответственно).

Заключение. Использование низких концентраций флуконазола и тербинафина значительно снижает интенсивность процесса формирования биопленки клетками *C. albicans*. Это может быть использовано для лечения больных с целью предотвращения возникновения хронических очагов инфекции.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДЕТЕКЦИИ КРИПТОСПОРИДИЙ ПРИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ОСТРЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.И. Лиханская, В.С. Филиппов, Н.И. Леонтьева, И.Т. Щербаков, В.В. Яний, А.В. Галеев

ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва

В настоящее время диагностика криптоспориоза представляет определенные трудности из-за несовершенства методов лабораторной диагностики, в связи с чем, заболевание часто своевременно не диагностируется, что вызывает ряд осложнений при

развитии болезни. Наиболее часто применяемым методом обнаружения криптоспоридий является специальная модифицированная окраска кислотоустойчивых микроорганизмов в мазках фекалий больных. В последнее время предлагается множество различных тест-систем, обладающих высокой специфичностью и чувствительностью.

Цель работы: оценить эффективность различных неинвазивных методов определения криптоспориоза у больных.

Материалы и методы. Наблюдались 234 пациента с острыми инфекционными и неинфекционными заболеваниями в возрасте от 18 до 50 лет со среднетяжелым течением заболевания. Диагностика криптоспоридий осуществлялась комплексными исследованиями: определение ооцист в кале — классическим микроскопическим методом модифицированной окраски мазков фекалий по Цилю–Нильсену; качественное определение антигенов — иммунохроматографическим тестом RIDA®Quick Cryptosporidium parvum (ИХА) и иммунологическим анализом Cryptosporidium Antigen (Stool) ELISA (ИФА). В диагностически сложных случаях исследовался биоптат слизистой оболочки толстой кишки (СОТК).

Результаты. Комплексными исследованиями в 22,65% случаев был диагностирован криптоспориоз, из них с использованием микроскопии фекалий — в 17,52%, ИХА — в 10,68% и ИФА — в 7,69%. Совпадение положительных результатов при использовании одновременно трех методов отмечено в 29,64%, одновременно двух методов — в 41,5% случаев.

Исследованиями биоптатов СОТК у больных криптоспориозом выявлены некоторые морфологические особенности: неоднородность участков инфицирования слизистой оболочки с атрофией ворсинок; гипертрофия крипт и моноклеарная/полиморфноядерная инфильтрация базальной мембраны собственной пластинки.

Выводы. Сравнительный анализ разных методов диагностики криптоспориоза выявил наибольшую информативность классического метода модифицированной окраски мазков по Цилю–Нильсену. Использование комплекса методов (микроскопия, иммунохроматография, иммуноферментный анализ), а в диагностически сложных случаях инструментальных методов с бактериоскопией биоптатов позволит улучшить диагностику криптоспориоза. Также показана целесообразность использования иммунохроматографического теста для экспресс-диагностики криптоспориоза, особенно при скрининговых исследованиях.

ДИАГНОСТИКА ЭНТЕРОПАТОГЕННЫХ *E. COLI* ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ

М.А. Макарова², И.Н. Журавлева¹, О.Ю. Лигорова¹, Л.А. Кафтырева²

¹ ГБУЗ Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Известно, что дети младшего возраста часто болеют эшерихиозами, обусловленными энтеропатогенными *E. coli* (ЕРЕС). Возбудители этой группы хорошо изучены по фенотипическим свойствам, факторам/генам вирулентности, антигенной характеристике, чувствительности к антибиотикам. Также

установлены клинические и эпидемиологические особенности вызываемых ими ОКИ. «Колиэнтерит» детей раннего возраста как нозологическая форма ОКИ известен с 1945 г. и до настоящего времени является одной из важных форм инфекционных заболеваний детей первых лет жизни. В настоящее время вспышки ЕРЕС-инфекции регистрируются в развивающихся странах, однако носительство и спорадические случаи диагностируются повсеместно. В течение 3 лет (2013–2015 гг.) от 64 пациентов, госпитализированных с симптомами ОКИ, при проведении традиционного бактериологического исследования проб испражнений выделены штаммы *E. coli*, которые на основании антигенной характеристики (положительные результаты в реакции агглютинации с отечественными наборами сывороток) принадлежали к девяти серологическим группам (O25, O26, O44, O75, O27, O55, O111, O126, O128) и были отнесены к энтеропатогенным *E. coli*. Большая часть выделенных штаммов *E. coli* (85,9%) принадлежала к трем серологическим группам: *E. coli* O26 (42,2%), O25 (28,1%), O55 (15,6%). На остальные *E. coli* шести серогрупп приходилось 14,1%. *E. coli* O26 выделялись ежегодно, по ферментативным признакам они были гетерогенны и принадлежали к двум известным биовариантам по отношению к рамнозе и дульциту (быстро ферментирующие рамнозу и дульцит и не ферментирующие эти субстраты). В настоящее время установлено, что штаммы серогруппы *E. coli* O26, O55 и O111 могут относиться как к энтеропатогенным (ЕРЕС), так и к энтерогеморрагическим (ЕНЕС), а идентифицировать «патогруппу» возможно только по наличию генов вирулентности. По данным НИИЭМ имени Пастера штаммы *E. coli* O26, циркулирующие в Санкт-Петербурге, принадлежат и к ЕРЕС и к ЕНЕС. Как ЕНЕС они характеризуются наличием генов, кодирующих продукцию интимина (ген *eae*) и шигаподобного токсина I (ген *stx1*), как ЕРЕС они содержат ген адгезии *eae*, *bfp* ген отсутствует, и по этой характеристике относятся к «атипичным» ЕРЕС. В соответствии с современными знаниями факторов вирулентности диареогенных *E. coli*, неоднородность по факторам вирулентности штаммов, принадлежащих к одной серогруппе, а также принципиальные патогенетические, клинические и эпидемиологические различия заболеваний, вызываемых ими, диктуют необходимость отдельного учета заболеваний ОКИ, вызванных штаммами *E. coli* O26.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* O26, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ 2014–2015 гг.

М.А. Макарова¹, З.Н. Матвеева¹, Л.А. Кафтырева¹, Е.В. Смирнова², Н.В. Толузакова², С.А. Черткова², Л.Ю. Жирнова³, Н.П. Уткина³, Л.Ю. Сихандо³, Т.Ф. Пеленко³

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург, филиал № 4, Санкт-Петербург

³ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург, филиал № 6, Санкт-Петербург

Согласно современной классификации диареогенных *E. coli*, штаммы серогруппы O26 в зависимости от факторов патогенности могут принадлежать к двум патогруппам: энтеропатогенным (ЕРЕС)

как возбудители гастроэнтеритов у детей раннего возраста и к энтерогемотоксическим (ЕНЕС) как возбудители гемоколитов. *E. coli* O26:H11 часто являются причиной вспышек гемоколитов в Европе, Южной Америке и Японии. В Канаде, Австралии и Соединенных Штатах они регистрируются в виде спорадических случаев. В Российской Федерации, штаммы *E. coli* O26 регистрируются как ЕРЕС. В системе надзора и контроля за возбудителями, способными вызывать вспышки острых кишечных инфекций (ОКИ), особое место занимает группа ЕНЕС. Особенностью клинического течения ЕНЕС-инфекции является риск развития осложнений в виде гемолитической анемии, тромбоцитопении и гемолитико-уремического синдрома (ГУС), развивающегося на фоне или в пределах 10 дней после острой фазы заболевания, наиболее часто проявляющейся в форме гемоколита. ГУС развивается у 5–20% пациентов с ЕНЕС-инфекцией и может приводить к необратимому нарушению функций почек.

В течение последних трех лет в лаборатории кишечных инфекций НИИЭМ имени Пастера идентифицировано 38 штаммов *E. coli* O26, выделенных от детей с ОКИ. Серологическая принадлежность была подтверждена молекулярно-генетическими методами. Все штаммы имели ген *rfb* O26 и только пять штаммов (13%) ген *fliC* H11, кодирующий продукцию H-антигена H11. Методом ПЦР в реальном времени *E. coli* O26:H11 давали флюоресцентный сигнал как ЕНЕС. Так как результаты ПЦР-РТ дают суммарные данные в отношении ЕНЕС (нет визуальных отличий по типу продуцируемого токсина), дальнейшее изучение штаммов проводилось методом ПЦР со специфическими праймерами и электрофоретической детекцией. Все пять штаммов имели ген *stx1*, кодирующий продукцию шигаподобного токсина 1 (STX 1), в сочетании с фактором адгезии — белком интимином, кодируемым геном *eae*. Продукция токсинов была подтверждена иммунохроматографическим методом в тесте RIDA Quick Verotoxin. Полученные данные позволили отнести штаммы *E. coli* O26, зарегистрированные как ЕРЕС, к группе ЕНЕС.

Методы детекции шигаподобных токсинов/генов, ответственных за их продукцию, необходимо внедрять в клиническую практику врачей-бактериологов для диагностики ЕНЕС-инфекции. При ранней этиологической диагностике ЕНЕС-ассоциированных гемоколитов возможна коррекция терапии пациентов для снижения риска развития ГУС как инвалидизирующего осложнения, исключение/ограничение применения антибактериальных препаратов бактерицидного действия.

ИННОВАЦИИ В ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

В.В. Малышев¹, Т.А. Змеева¹, В.Б. Сбойчаков¹,
С.С. Котов², Т.В. Носкова¹

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург

² ФГКУ 985 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Минобороны России,
Санкт-Петербург

В структуре заболеваемости населения острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают одно из ведущих ранговых мест. Значительная часть за-

болеваний связана с контаминацией факторов передачи, кишечными бактериями и вирусами. Установление этиологии ОКИ в современных условиях в базовых лабораториях медицинских учреждений Минздрава, МО РФ, в лабораториях Роспотребнадзора и других проводится с учетом единых требований Санитарного законодательства Российской Федерации, с использованием современных методов диагностики, включая бактериологический метод, метод иммуноферментного анализа и метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, с использованием современных мультиплексных диагностических тест-систем. Особенности географического положения регионов, климатические условия, отсутствие эффективной логистики доставки проб и др. влечет за собой избирательный характер применения имеющихся сил и средств медицинской службы при проведении микробиологической диагностики в полевых условиях. В последние годы для этих целей внедряются устройства, укладки, диагностикумы и тест-системы, изготовленные в России, некоторые из них проходят тестирование в настоящее время.

Цель работы состояла в оценке возможности и диагностической ценности, имеющихся у отечественного производителя средств пробоподготовки и детекции кишечных бактерий и вирусов. При этом, основной задачей было совершенствование пробоподготовки и отбор специфических микробиологических методов диагностики ОКИ бактериальной и вирусной этиологии в полевых условиях и чрезвычайных ситуациях.

Нами при проведении полевых исследований максимально использовались современные мембранные технологии для пробоподготовки, при этом, за счет концентрирования кишечных патогенов стандартными и экспериментальными мембранами, было уменьшено количество ложноотрицательных результатов при расшифровке структуры возбудителей ОКИ в пробах из объектов внешней среды. Использование новых подходов к пробоподготовке при оценке образцов из объектов внешней среды экспериментальными мембранами, мембранами с наведенным зарядом, мембранами из инновационных материалов, значительно повысило результативность, кроме того, возможность применять простые экспресс-тесты, такие как иммунохроматографический метод, реакция агглютинации латекса, метод иммунофлюоресценции. В работе был применен метод мембранной фильтрации в тангенциальном потоке, что позволило увеличить количество детектируемых патогенов. В настоящее время отечественной промышленностью выпускается комплект мобильной лаборатории ПЦР для работы в полевых условиях, который был нами так же использован в наших исследованиях. Нами использовалась укладка дот-ИФА (точечный иммуноферментный анализ), предназначенная для детекции бактериальных и вирусных маркеров в готовой жидкой пробе в полевых условиях, где в качестве твердой фазы используется пористая микрофильтрационная ацетатцеллюлозная мембрана.

Мы протестировали иммунохроматографические тесты, выпускаемые отечественной промышленностью, и были получены репрезентативные результаты, подтвержденные методом ПЦР.

Таким образом, была оценена возможность использования реакции агглютинации латекса (РАЛ) для обнаружения ротавирусов, аденовирусов и др. в объектах окружающей среды. Были получены положительные результаты в элюатах воды. Кроме того, нами были апробированы отдельные элементы разрабатываемой авторской укладки универсальной для пробоподготовки и детекции кишечных патогенов бактериальной и вирусной природы, позволяющей работать в экстремальных условиях при отсутствии электричества, средств стерилизации и наличия других неудобств. Для оперативной оценки эпидемиологической безопасности водных объектов окружающей среды, питьевой воды, продовольствия и другого материала, а также для установления этиологии ОКИ в полевых условиях требуется внедрение перспективных, простых, специфических методов пробоподготовки и детекции с применением отечественных устройств, средств, способов, универсальных упаковок и реагентов.

КАЧЕСТВО ВОДЫ И ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ В РОССИИ

В.В. Малышев, Т.А. Змеева, Т.В. Носкова

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Проблема острых кишечных инфекций (ОКИ) среди населения Российской Федерации остается актуальной и в настоящее время. В ряде регионов страны соотношение этиологически установленных ОКИ и ОКИ неустановленной этиологии (ОКИНЭ) составляет 1:4–1:10. Проводимые, особенно в последнее время, специфические лабораторные исследования свидетельствуют о доминировании в этиологической структуре ОКИНЭ кишечных вирусов, наиболее значимые из которых вирусы, вызывающие энтериты и гастроэнтериты: ротавирусы, калицивирусы, включая норовирусы и родственные им вирусы, астровирусы.

Кишечные вирусы хорошо сохраняются в объектах внешней среды. Имеются данные об обнаружении кишечных вирусов в воде источников питьевого водоснабжения — как поверхностных, так и подземных, сточных водах. Проводимые в разных регионах исследования свидетельствуют о большой значимости водного пути передачи кишечных вирусов, указывают на сильную зависимость заболеваемости ротавирусной и норовирусной инфекцией на конкретных территориях от состояния систем водоподготовки и обеззараживания воды.

В то же время контактно-бытовой путь передачи кишечных вирусных патогенов является ведущим при гастроэнтеритах вирусной этиологии. В последние годы все большее значение среди этиологических факторов вирусных гастроэнтеритов имеют продукты питания, салаты, полуфабрикаты, контаминированные кишечными вирусами.

Цель исследования состояла в оценке водного фактора передачи вирусных патогенов (рота-, норовирусов) и изучении проблем совершенствования эпидемиологического надзора за острыми кишечными вирусными инфекциями в отдельных регионах России.

Материал был собран во время проведения полевых исследований в Ямало-Ненецком автоном-

ном округе (ЯНАО); в Республике Саха (Якутия); в Чукотском автономном округе (ЧАО); в Ханты-Мансийском автономном округе — Югра (ХМАО-Югра); в г. Череповце Вологодской области; в г. Рыбинске Ярославской области; в г. Каменске-Уральском Свердловской области. Анализировались данные из эпидемических очагов ОКИНЭ, где детекция материала проводилась лабораторными рутинными методами. Для более полной этиологической расшифровки использовались иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Использовали тест-системы ИФА «Ротаантиген» (Вектор-Бест, НПО Аквапаст), для обнаружения норовирусов и астровирусов — RIDASCREEN® Norovirus, RIDASCREEN® Astrovirus и ПЦР-системы «АмплиСенс Ротавирусы группы А» (Интер-ЛабСервис).

Нами установлено доминирование в структуре ОКВИ ротавирусов в ЯНАО (53,2%); Республике Саха (Якутия) (85,9%); ЧАО (84,4%); г. Череповце, Вологодской области (82,3%); г. Каменске-Уральском Свердловской области (76,1%). В то же время норовирусная инфекция превалировала в структуре кишечных вирусов в ХМАО-Югра (58,1%) и г. Рыбинске Ярославской области (56,4%). Кроме указанных выше ротавирусов и норовирусов, определялись астровирусы. Доля положительных находок астровирусов составила 12,8% в г. Рыбинске Ярославской области, 8,5% — в ЯНАО, 4,4% — в г. Череповце Вологодской области, 2,35% — в Республике Саха (Якутия).

Установлена базисная роль воды в процессе передачи возбудителей кишечных вирусных инфекций. Эпидемический процесс ОКВИ, в т. ч. ротавирусной, норовирусной и астровирусной инфекций наиболее интенсивно протекает среди детей в возрасте до 2-х лет. Показатели заболеваемости в этой группе превышали таковую у более старших детей и взрослых в сотни раз (в Калининградской области в 800 раз, в Новгородской области — в 500 раз и в Республике Карелия — в 300 раз).

Очень важным при организации противоэпидемических мероприятий является этиологическая расшифровка ОКВИ. Отсюда и наши рекомендации в развитии эшелонированной системы лабораторной диагностики вирусных маркеров, включая и использование быстрых тестов.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ, В УСЛОВИЯХ МЕДИЦИНСКОГО УЧРЕЖДЕНИЯ

В.В. Малышев¹, Д.В. Разумова¹, Т.А. Змеева¹, Т.В. Носкова¹, Е.А. Аверина²

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, г. Белгород

Задачей здравоохранения является обеспечение качества медицинской помощи и создание безопасной среды пребывания для пациентов и персонала в учреждениях, осуществляющих медицинскую деятельность. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), являются важнейшей составляющей этой проблемы в силу широкого распространения, негативных последствий для здоро-

вья пациентов, персонала и экономики государства. Общим критерием для отнесения случаев инфекций к ИСМП является непосредственная связь их возникновения с оказанием медицинской помощи (лечением, диагностическими исследованиями, иммунизацией и т.д.).

Отдельным вопросом рассматривается в национальной концепции профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, совершенствование лабораторной диагностики и мониторинга возбудителей ИСМП. Лабораторная диагностика и мониторинг возбудителей ИСМП — важнейшие компоненты системы эпидемиологического надзора за ИСМП. Микробиологический мониторинг возбудителей ИСМП предусматривает: обязательное микробиологическое обеспечение системы эпидемиологического надзора за ИСМП; этиологическую расшифровку ИСМП у пациентов и медицинского персонала, внутривидовую идентификацию возбудителей ИСМП; исследование объектов больничной среды; определение чувствительности выделенных штаммов микроорганизмов к антимикробным средствам; создание и ведение баз данных о возбудителях ИСМП; эффективный контроль качества микробиологических исследований в организациях здравоохранения; статистический анализ результатов исследований.

Результаты оценки санитарно-эпидемиологического состояния стационаров СЗФО (выборочно), ЦФО (выборочно), ДВФО (выборочно) и связанные с этим регистрируемые ИСМП. Кроме этого, нами проводился микробиологический мониторинг и оценка доминирующих штаммов микроорганизмов в медицинском стационаре. Использовался клинический материал от больных; смывы с инструментария, устройств и аппаратов; с рук медицинского персонала; исследования воздуха; смывов с поверхности стен, панелей и др.

Современные возможности лабораторного контроля расширены за счет применения методов ПЦР, ИФА, иммунохроматографии, реакции агглютинации латекса. Исследования методами ПЦР в реальном времени, ИФА дают возможность выявления широкого спектра инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной этиологии, аутоиммунной патологии, паразитарных болезней и др. Анализ циркулирующих штаммов возбудителей в медицинских стационарах позволил обрисовать структуру микробного пейзажа: у больных отделения гнойной хирургии доминировала грамположительная микрофлора — 54,7%, доля грамотрицательной микрофлоры составляла 45,3%. В этиологии ИСМП преобладали представители семейств *Micrococcaceae* (41,3%), *Enterobacteriaceae* (35,8%) и *Pseudomonadaceae* (9,5%). В клиническом материале больных ОРИТ № 1 на 17,6% увеличился удельный вес грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и на 13,7% — семейства *Pseudomonadaceae*, в то же время на 22,1% снизилась доля грамположительных бактерий семейства *Micrococcaceae*. Выделенные штаммы микроорганизмов характеризовались полирезистентностью к большинству используемых в стационаре антимикробных препаратов: выявлены стафилококки со сниженной чувствительностью к ванкомицину; ванкомицин-резистентные энтерококки; энтеробактерии, резистентные к карбапенемам.

Таким образом, ввиду увеличения удельного веса полирезистентных к антибактериальным препаратам микроорганизмов, спектр средств лечения и профилактики инфекционных заболеваний, в т. ч. ИСМП, постепенно уменьшается. Проблема антибиотикорезистентности может быть преодолена следующим образом: отказ от лечения колонизации, сокращение длительности курсов антибиотикотерапии, интраоперационная профилактика в хирургии, своевременное удаление инородных тел (катетеры), усиление эпидемиологического и бактериологического контроля за ИСМП, и, конечно же, внедрение современных методов для микробиологического контроля циркулирующих доминирующих штаммов возбудителей.

РЕЗУЛЬТАТЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО И САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА АКВАТОРИЙ НЕВСКОЙ ГУБЫ И ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ ФИНСКОГО ЗАЛИВА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

В.В. Малышев^{1,2}, Т.А. Змеева¹, Р.Р. Михайленко³, Т.В. Носкова¹

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² Научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук, Санкт-Петербург

³ ФКП Дирекция комплекса защитных сооружений г. Санкт-Петербурга Минстроя России, Санкт-Петербург

В последние годы в акватории Невской губы проводится большой объем гидротехнических работ по намыву территорий и строительству порта Бронка, прокладыванию новых подходов к порту. Для анализируемого района высокий уровень взвешенных веществ, в большинстве своем, связывают с техногенными воздействиями, хотя определенную лепту в поддержание высокой концентрации частиц вносят и канализационные очистные сооружения города. Происходит загрязнение акватории, заиление донных осадков и создаются благоприятные условия для длительной циркуляции кишечных микроорганизмов (кишечная палочка, сальмонеллы, шигеллы и др.) и вирусов (вирус гепатита А, ротавирусы и др.).

Цель работы состояла в оценке многолетних данных санитарно-бактериологических и санитарно-вирусологических показателей в акватории Невской губы и восточной части Финского залива.

Ежемесячно, в течение более 10 лет, в акватории Невской губы нами проводились санитарно-микробиологические исследования. Анализ результатов лабораторных исследований за последние годы свидетельствует о перераспределении загрязнений в зону повышенного содержания взвешенных веществ в этих местах, а это означает наличие рисков контаминации участков изучаемой акватории непатогенными и патогенными микроорганизмами, что сопровождается строительством портовых комплексов, связанное с намывом территорий в районе Бронки и Ломоносова, на участке Лисий Нос — Сестрорецк и др. Основные особенности работы заключаются в комплексном характере обнаружения маркеров бактериального и вирусного загрязнения воды в районе КЗС и Невской губы.

Установлено, что акватории в районе КЗС и Невской губы характеризуются средним уровнем фе-

кального загрязнения, о чем свидетельствует показатели индекса ОКБ, ТКБ, уровня коли-фагов, обнаружение патогенной микрофлоры и кишечных вирусов. Значительная обсемененность проб воды кишечными патогенами как бактериального, так и вирусного происхождения на ст. 1, ст. 2, ст. В-6 свидетельствуют о загрязнении Невы фекальными стоками, не прошедшими полную очистку. Особую обеспокоенность вызывает контаминация бактериальными и вирусными патогенами южной, конкретнее — юго-западной (ст. 17 и ст. В-1) и северной (ст. В-6) частей КЗС, северной части акватории Невской губы (ст. 42, ст. 1 и ст. 2).

Таким образом, проведение больших по объему гидротехнических работ, влечет за собой значительное техногенное воздействие на акваторию. Если к этому добавить сбросы станций аэрации, где несмотря на значительные усилия по очистке и обеззараживанию сточных вод, еще имеются находки и кишечных микроорганизмов, и кишечных вирусов. Полученные результаты еще раз свидетельствуют о необходимости комплексных мер по снижению и техногенной, и антропогенной нагрузки на Невскую губу и восточную часть Финского залива, что должно привести к предотвращению дальнейшего ухудшения экологического состояния изучаемых акваторий. В течение всего периода проведения гидротехнических работ, связанных в первую очередь с намывом территорий, экологический мониторинг должен быть объективным, соответствующим международным нормам и правилам.

РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРОТЕЕВ И КЛЕБСИЕЛЛ

М.Н. Марговецкий, А.П. Шепелин, И.И. Марчихина,
Л.П. Шолохова, О.В. Полосенко

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора, п. Оболонск, Московская область

Важное значение в современной лабораторной диагностике токсикоинфекций имеет выделение условно-патогенных микроорганизмов, таких как протей и клебсиелла. В составе питательных сред для выделения и дифференциации этих микроорганизмов в качестве ингибирующих компонентов используются антибиотики и соли желчных кислот. В ГНЦ ПМБ была разработана технология получения отечественных солей желчных кислот, необходимых при создании питательных сред для выделения протей и клебсиелл. Полученные препараты содержали более 80% желчных кислот с сохранением соотношения холевой и дезоксихолевой кислот 4:1.

Питательная среда для выделения протеев на основе панкреатического гидролизата рыбной муки обеспечивает рост всех видов протеев через 24 ч культивирования без роения в виде светло-желтых или бесцветных колоний диаметром 2–3 мм с черным центром. Добавление глюкозы и цистеина способствует образованию сероводорода и улучшению дифференцирующих свойств среды. Соли желчных кислот, полученные по модифицированной технологии, и полимиксин М в составе среды ингибируют рост микробов ассоциантов — стафилококков и большинства энтеробактерий.

Питательная среда для выделения клебсиелл с использованием панкреатического гидролизата рыбной муки, солей желчных кислот производства

ГНЦ ПМБ, инозита, карбенициллина обеспечивает рост клебсиелл в виде блестящих колоний ярко розового цвета диаметром 2–3 мм. На питательной среде рост сопутствующей микрофлоры — сальмонелл, шигелл, эшерихий — отсутствует.

Новые отечественные питательные среды для выделения протеев и клебсиелл прошли испытания на расширенном наборе музейных тест-штаммов и рекомендованы для проведения клинико-лабораторных испытаний.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА К ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Н.В. Медведева, Е.В. Говязина, Ю.С. Чухров,
Е.Б. Брусина

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Кемеровской
области, г. Кемерово

ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская
академия МЗ РФ, г. Кемерово

Цель исследования — изучить биологические свойства циркулирующих на территории Кемеровской области *Salmonella* spp.

Материалы и методы. В работу включены результаты лабораторного исследования устойчивости к нагреванию 41 культуры *Salmonella* spp.

Приготовленную микробную взвесь штаммов *Salmonella* spp. в концентрации 10^{10} микробных клеток в 1,0 см³ помещали в пробирки с 9,0 см³ физраствора. В водяной бане нагревали до заданной температуры пробирки, содержащие питательный бульон (ПБ), затем помещали в них взвесь сальмонелл и выдерживали экспозицию. Далее пробирки вынимали и помещали в термостат для культивирования при температуре 37°C в течение 18–20 ч. Из пробирок с бактериальным ростом проводили высеивание на плотную селективную среду для сальмонелл XLD-агар. Выросшие типичные для сальмонелл колонии идентифицировали на среде Олькеницкого.

Результаты и обсуждение. Установлено, что большинство исследуемых культур сальмонелл устойчивы к нагреванию и проявили способность сохраняться в условиях экстремально высоких температур (80°C и выше). Так, в течение 30 мин сохранили жизнеспособность 95% культур *Salmonella* spp. при t 60°C; 59% — при t 70°C; 46% — при t 80°C; 25% — при t = 85°C; 5% — при t = 90°C и одна культура инактивировалась только через 10 мин при нагревании 95°C.

Установлено, что *S. Typhimurium* оказались способны выживать 30 мин при 80°C. Высокую устойчивость к нагреву продемонстрировали *S. Agama* и *S. Bsilla*, сохраняя жизнеспособность при t = 85°C 10 и 30 мин соответственно; в меньшей степени устойчивыми оказались *S. Massena* и *S. Infantis* (при t = 80°C 5 и 15 мин). Однако максимальная устойчивость к воздействию высоких и экстремально высоких температур нами установлена у культур *S. Enteritidis*, поскольку более половины из них (54%) оставались жизнеспособными спустя 30 мин по достижении 80°C; 25% выжили столько же времени при температуре 85°C; 7% — при t = 90°C, а одна культура — 5 мин при t = 95°C.

Выводы. Циркулирующие на территории Кемеровской области *Salmonella* spp. устойчивы к воздействию высоких температур.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ НА ОСНОВЕ ВНЕДРЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Л.В. Миронова¹, Ж.Ю. Хунхеева¹, Е.А. Басов¹, И.Ю. Щит², Е.В. Баранова², А.С. Пономарева¹, С.Ф. Бикетов², Л.Я. Урбанович¹, С.В. Балахонов¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск

² ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Холера, в соответствии с информацией ВОЗ, отнесена к одной из инфекционных угроз XXI века, что обусловлено высокими показателями заболеваемости в мире, вовлечением в эпидемический процесс новых территорий, изменчивостью биологических свойств возбудителя с формированием атипичных патогенных клонов. С учетом этого актуальна интеграция в систему лабораторной диагностики современных молекулярных технологий, направленных на ускоренную высокочувствительную и специфичную детекцию *V. cholerae* в клиническом материале и объектах окружающей среды и идентификацию изолированных культур.

Метод ПЦР, успешно применяющийся для выявления генов *V. cholerae* в клиническом материале, зарекомендовал себя и при мониторинговых исследованиях вибриофлоры поверхностных водоемов. Информативность ПЦР-скрининга обогащенных проб воды существенно превышает такую бактериологического анализа, что определяет целесообразность его применения для сигнальной оценки присутствия возбудителя в пробе и оптимизации объемов бактериологических исследований. В последние годы в практику лабораторной диагностики внедряются «point-of-care-тесты», преимущества которых заключаются в скорости постановки, низкой стоимости, возможности бесприборного анализа и др. К категории «point-of-care» технологий относится реакция петлевой изотермической амплификации. Апробация метода на основе сконструированных праймеров и отечественной рекомбинантной Taq-полимеразы с высокой цепьзамещающей активностью показала возможность выявления низких концентраций *V. cholerae* в исследуемом материале с высокой специфичностью и воспроизводимостью.

В качестве перспективного метода идентификации микроорганизмов рассматривается MALDI-ToF масс-спектрометрия. Разработанные методологические подходы к масс-спектрометрическому анализу *V. cholerae* показали высокую диагностическую ценность метода при оперативной и ретроспективной идентификации культур. Кроме того, установлена возможность масс-спектрометрической детекции генетически измененных вариантов возбудителя холеры на основе реакции минисеквенирования, позволяющей определить нуклеотидный контекст гена субъединицы В холерного токсина.

Дополнительно для оперативной идентификации и оценки токсигенности изолированной культуры применяются иммунохроматографические тесты.

Таким образом, внедрение комплекса высокотехнологичных молекулярных методов в схему исследования на холеру обеспечивает повышение качества и информативности диагностической подсистемы эпидемиологического надзора за холерой.

ГЛОБАЛЬНАЯ ФИЛОГЕОГРАФИЯ ЛАТИНОАМЕРИКАНСКО-СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ ЛИНИИ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

И.В. Мокроусов

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Латиноамериканско-Средиземноморская (LAM, Latin American Mediterranean) филогенетическая линия *Mycobacterium tuberculosis* является одной из наиболее распространенных и значимых линий в пределах этого биологического вида. В настоящее время ее штаммы циркулируют далеко за пределами тех географических регионов, которые определили ее название 15 лет назад. Целью мультицентрического исследования была разработка глобальной филогении LAM и оценка его филогеографии в свете известных миграций населения и демографии.

Коллекции ДНК *M. tuberculosis* и опубликованные статьи были использованы для выявления изолятов LAM на основе однонуклеотидных полиморфизмов, анализа минисателлитной ДНК (локусы VNTR), сполитотипирования. Данные были подвергнуты геномному, филогенетическому и филогеографическому анализу.

Филогенетический анализ более 1000 изолятов LAM со всех континентов выявил наличие трех глобальных сублиний, определяемых крупными геномными делециями RD115, RD174 и сполитотипом SIT33. Также сублиния, определяемая сполитотипом SIT388 является эндемической для Японии. Выявленные маркеры на основе локусов VNTR были использованы для анализа опубликованных данных и географического картирования сублиний.

На основании результатов, полученных с помощью различных видов анализа, мы предполагаем, что генотип LAM *Mycobacterium tuberculosis* возник в западной части Средиземноморья. Наиболее распространенная сублиния RD115 представляется наиболее эволюционно древней; она охватывает генетически и географически удаленные изоляты на всех континентах, в т. ч. мультирезистентные изоляты подсемейств KZN в Южной Африке и LAM-RUS в Северной Евразии. Сублиния RD174 вероятно начала свое активное распространение в Бразилии. Сублиния SIT33 характеризуется необычным градиентом в Северной и Южной Америке, а также включает в себя вторичную подгруппу F11/RD761 в Южной Африке. Помимо специфической для Японии сублинии SIT388, могут существовать и другие, эволюционно глубоко укорененные, эндемические сублинии LAM. Анализ древней ДНК представляется наиболее оптимальным (хотя и затруднительным) подходом для верификации гипотез о времени и месте происхождения тех или иных геновариантов возбудителя.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ТРАНСПОРТНЫХ СРЕД

Т.П. Морозова, В.А. Андреева, Л.В. Домотенко, А.П. Шепелин, Е.Н. Миронова, И.Н. Шамичева

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

В РФ контроль качества транспортных сред рекомендуется проводить в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред». За рубежом для контроля транспорт-

ных сред недавно внедрен стандарт M40-A2 «Quality Control of Microbiological Transport Systems», CLSI, 2014, который рекомендует использование двух методов контроля: полуколичественного Roll plate и количественного Swab Elution.

Цель работы: оценить эффективность трех методов для оценки качества транспортной среды Эймса.

Материалы и методы. Тестируемая среда: транспортная среда Эймса (ТС) без угля, сухая, разработанная в ФБУН ГНЦПМБ.

Тест-штаммы: *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 10211, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *S. pyogenes* Dick 1, *S. aureus* ATCC 25923, *S. flexneri* 1a8516, *E. coli* ATCC 25922.

Среду тестировали на способность сохранять и высвобождать в жизнеспособном состоянии культуры тест-штаммов после выдерживания ТС при комнатной температуре в течение 48 ч. По МУК тестирование проводили путем посева 1 мл суспензии каждой культуры в пробирки с ТС и по окончании экспозиции последующего высева по 0,1 мл содержимого пробирки на Шоколадный агар и среду № 1 ГРМ. Посев культур по стандарту M40-A2 проводили путем внесения в пробирку с ТС тампона-зонда, пропитанного 0,1 мл суспензии, и высева на Шоколадный агар и среду № 1 ГРМ после экспозиции, прокатывая тампон по всей площади чашки со средой для Roll plate метода или экстрагируя культуры из тампона в 1 мл физиологического раствора при Swab Elution методе и последующего высева на те же среды.

Результаты и обсуждения. Выполнение методики, рекомендованной МУК, вызывает ряд трудностей, связанных с невозможностью равномерно перемешать ТС с суспензией тест-штаммов и отобрать пробу для посева из-за высокого содержания агара в среде. Поэтому не удалось получить воспроизводимые результаты. Контроль ТС по Roll plate методу дает стабильные результаты, но он очень трудоемкий и требует большого количества ТС и других расходных материалов. Метод Swab Elution менее трудоемкий и позволяет определить точную концентрацию тест-штаммов. Результаты исследований тестируемой ТС двумя последними методами показали снижение концентрации *S. pneumoniae* и *H. influenzae* в 20 раз, *S. pyogenes* и *S. aureus* в 4,5 раза, а для *S. flexneri*, *E. coli* увеличение концентрации микробных клеток на 2 порядка.

Выводы. Методики, рекомендованные стандартом M40-A2, позволяют объективно оценить качество транспортных сред для исследованных микроорганизмов. Метод, рекомендованный МУК 4.2.2316-08, не отвечает международным требованиям по контролю агаризованных ТС.

ГРИБЫ CANDIDA И ASPERGILLUS: СОПУТСТВУЮЩИЕ ИЛИ ОДНИ ИЗ ОСНОВНЫХ ФАКТОРОВ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ДВЕНАДАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У ЛИЦ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ НАРУШЕНИЯМИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

А.В. Москалев, А.С. Рудой

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Введение. Проблему язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБДК), несмотря на достижения последних лет в диагностике и терапии, по-прежнему, следует признать недостаточно изу-

ченной, а отдельные ее аспекты — весьма далекими от разрешения. Особенно сложной эта проблема выглядит у лиц с наследственными нарушениями соединительной ткани (ННСТ) различной степени выраженности. Как показывают исследования, несмотря на то, что *H. pylori* остается в настоящее время одним из ведущих инфекционных этиологических факторов, но далеко не единственным. К тому же маркеры его присутствия у больных ЯБДК выявляются реже, чем в целом в популяции. Видимо, роль других этиологических факторов может быть недостаточно изучена.

Цель: уточнить иммунопатогенетическую взаимосвязь условнопатогенных грибов с состоянием механизмов фагоцитоза у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с наследственными нарушениями соединительной ткани различной степени выраженности.

Материалы и методы. Обследовано 78 мужчин молодого возраста (21,3±1,6 год) с ЯБДК, которые по выраженности признаков соединительно-тканых нарушений были распределены на две группы по 29 человек. Контрольную группу (n = 20) составили больные с ЯБДК без признаков дисморфогенеза. Маркеры кандидоза и аспергиллеза (IgG) выявляли с помощью диагностических тест-систем фирмы «Вектор-Бест».

Результаты. У больных с ЯБДК с выраженными формами ННСТ IgG к антигенам грибов *Candida* были выявлены достоверно чаще по сравнению с показателями больных с незначительной диспластической стигматизацией ($p < 0,01$) и группой контроля ($p < 0,05$). Маркеры аспергиллеза выявлялись достоверно чаще только по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Оценка состояния механизмов фагоцитоза позволила установить следующее: у лиц с выраженными формами ННСТ было достоверно снижено количество фагоцитирующих клеток, микробное число и показатель завершенности фагоцитоза по сравнению как с показателями контрольной группы, так и с данными больных с незначительными ННСТ ($p < 0,05$). Кроме того, у всех лиц с грибковой сенсбилизацией выявлено достоверное увеличение количества эозинофилов. Установленные факторы позволяют сделать вывод, что грибы родов *Candida* и *Aspergillus*, оказывают иммуносупрессивное влияние на функциональную активность фагоцитов, тем самым способствуя периодическому обострению и хроническому течению заболевания.

НЕОПТЕРИН — МАРКЕР ВОСПАЛЕНИЯ, ОПТИМИЗИРУЮЩИЙ ВЫЯВЛЕНИЕ ЛАТЕНТНЫХ ФОРМ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В И С

А.В. Москалев, П.В. Астапенко, А.С. Рудой

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Введение. В России в настоящее время число больных хроническими формами и носителей вирусных гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) составляет не менее 2 млн человек. ВГВ и ВГС включены в перечень социально значимых заболеваний, утвержденный постановлением Правительства РФ от 01.12.2004 г. № 715. Для гемоконтактных гепатитов, особенно ВГС, характерно преимущественно скрытое (латентное) течение. Даже острый гепатит С протекает, как правило, в безжелтушной, малосимптомной форме, а выявление латентных

форм ВГВ и ВГС часто носит случайный характер. Поэтому дополнительные маркеры, свидетельствующие о скрытом воспалении, могут существенно оптимизировать диагностику вирусных гепатитов.

Материалы и методы. При первичном (скрининговом) лабораторном обследовании на наличие специфических серологических маркеров ВГВ (HBsAg) и ВГС (Anti-HCV-IgG) обследовано 2644 мужчин из центральных областей РФ, средний возраст — 20,1±2,9 года. У 22 человек был выявлен HBsAg, у 30 — Anti-HCV-IgG. В течение последующих 13 месяцев при повторном обследовании данной группы HBsAg был обнаружен еще у 26, а Anti-HCV-IgG у 24 человек. Контрольная группа включала 26 условно здоровых лиц мужского пола в возрасте 21,2±1,8 года. Лабораторные исследования включали: общий анализ крови, количественное определение глюкозы, общего белка, креатинина, фибриногена, общего билирубина, С-реактивного белка, альфа-амилазы, АЛАТ, АсАТ. Белки системы комплемента С3, С5, уровни неоптерина определяли с помощью наборов ИФА фирмы «IBL» (Германия). Профили цитокинов: TNF α , IFN γ , IL-1 β , IL-4, IL-6 и IL-8 изучали с помощью тест-систем ТОО «Цитокин», (Санкт-Петербург) и ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) в ИФА.

Результаты и обсуждение. При скрининговом лабораторном обследовании в большинстве случаев были определены низкие концентрации HBsAg (от 0,5 до 15,8 нг/мл). У пациентов с латентной формой течения ВГС, выявленной при скрининге, были обнаружены высокие уровни IgG к структурным и неструктурным белкам вируса (значение оптической плотности более 2,0), а показатели авидности суммарных антител к HCV выше 70%. У пациентов с серологическими маркерами ВГС, выявленными в течение последующих 13 мес., содержание в крови антител к различным индивидуальным белкам HCV и показатель авидности были значительно ниже. Среднее значение индекса IFN γ /IL-4 у пациентов этих групп было 0,5±0,1 и 1,7±0,3, а в контрольной группе — 5,5±0,4. Показатели лейкоцитарной формулы крови больных с латентными формами ВГВ и ВГС находились в пределах нормальных значений. Однако в сравнении с группой контроля количество лейкоцитов, лимфоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, СОЭ были достоверно увеличены, а сегментоядерных нейтрофилов — снижены. Среди изученных биохимических показателей за пределы доверительных границ нормальных значений у пациентов с латентными формами ВГВ и ВГС, выявленных при скрининге, незначительно выходили уровни АЛАТ, АсАТ. Средние концентрации цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α и особенно IL-4 в сыворотке крови пациентов с латентными формами ВГВ и ВГС всех групп были достоверно выше аналогичных показателей лиц контрольной группы. Однако только содержание сывороточного IL-4 превышало верхние границы нормальных значений. Средние концентрации неоптерина у пациентов с латентными формами ВГВ и ВГС всех групп с высокой достоверностью превышали его средний уровень у лиц контрольной группы. Проведенное исследование показало, что дефицит IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-6, IL-8, при избытке IL-4 играет ключевую роль в регуляции интенсивности воспаления и эффективности иммунной защиты

и свидетельствует о недостаточности противовирусной активности клеточного звена иммунитета, что можно использовать в оптимизации лабораторной диагностики латентно протекающих вирусных гепатитов В и С.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ОДОНТОГЕННОГО ОСТЕОМИЕЛИТА ЧЕЛЮСТЕЙ

А.В. Москалев, О.В. Галкина

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург

Введение. Показано, что этиологической причиной одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний у человека чаще всего являются неспорообразующие анаэробы родов *Bacteroides* (*B. fragilis*), *Prevotella* (*P. melaninogenica*), *Porphyromonas* (*P. saccharolytica*), *Fusobacterium* (*F. nucleatum*), *Peptococcus* (*P. asaccharolyticus*) и *Peptostreptococcus* (*P. anaerobius*). Превалирующего влияния какого-либо одного из них на частоту возникновения одонтогенного остеомиелита челюстей (ООЧ) не выявлено. Поэтому важнейшее значение для определения стадии и прогноза дальнейшего развития ООЧ, выбора тактики и стратегии его терапии приобретают результаты исследования иммунного гомеостаза больных и, в первую очередь, показателей врожденного иммунитета.

Цель исследования: оценка некоторых показателей врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с одонтогенным остеомиелитом челюстей, как факторов, позволяющих выявить раннее воспаление.

Материалы и методы. Группу исследования составили 70 пациентов в возрасте от 23 до 67 лет (средний возраст 42±5 лет) с острыми инфекционно-воспалительными одонтогенными заболеваниями челюстно-лицевой области с преимущественным поражением костной ткани. Контрольную группу составили 29 здоровых добровольцев в возрасте от 22 до 62 лет (средний возраст 41±8 лет). Изучали механизмы фагоцитоза в НСТ- и ЛКТ-тестах, определяли С3- и С5-компоненты комплемента; продукцию цитокинов — фактора некроза опухолей-альфа (TNF α), интерферона-гамма (IFN γ), интерлейкинов (IL) 1 β , 2, 6, 8, 10 — исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), используя соответствующих наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Результаты и обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют об имеющихся существенных уменьшениях резервной метаболической емкости нейтрофилов у больных с ООЧ. Индекс завершенности фагоцитоза подтверждал снижение киллинговой активности нейтрофилов в отношении микроорганизмов. При анализе параметров фагоцитоза, несмотря на достоверные различия по ряду показателей, необходимо отметить имеющуюся неоднородность и глубину изменений. Процесс поглощения тест-культуры *S. aureus* сохранялся в пределах нормы у 78% лиц, а вот показатель завершенности их переваривания был снижен более чем в половине случаев. Профили основных провоспалительных цитокинов у больных с ООЧ лишь незначительно превышали границы доверительной нормы или находились в ее пределах. Неэффективность иммунного ответа может быть связана и с отсутствием увеличения концентрации

IL-2. Оценка активности Th1/Th2-ответа по индексу соотношения IFN γ /IL-10 показала отсутствие выраженного развития иммуно-воспалительного ответа, что в итоге объясняет неэффективность механизмов фагоцитоза. В крови обследованных пациентов с одонтогенным остеомиелитом концентрация TRAP (маркера нарушения скорости ремоделирования костной ткани) ни в одном случае не выходила за пределы референтного интервала и составила от 1,2 до 3,9 Е/л. Это, скорее всего, свидетельствует об отсутствии патогенетической взаимосвязи между одонтогенным остеомиелитом и нарушением костного метаболизма. При поступлении в клинику у пациентов с одонтогенным остеомиелитом концентрация IL-8 в ротовой жидкости и назальных смывах достоверно превышала уровень данного цитокина пациентов контрольной группы, и была в пределах от 56 до 1910 пг/мл (среднее значение 476 ± 75 пг/мл), а после лечения достоверно снижалась в 7–10 раз и составляет от 10,5 до 400 пг/мл (среднее значение $82,1 \pm 17$ пг/мл). Повышенный уровень IL-8 через 7 дней после начала терапии свидетельствовал о продолжении воспалительных реакций на слизистой оболочке и после исчезновения клинических признаков воспаления.

Проведенное исследование позволило установить, что течение ООЧ протекает на фоне выраженной иммуносупрессии, что подтверждают профили IL-10 и результаты комплексного определения профилей цитокинов и основных белков (C3 и C5) компонента.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ МИКОЗОВ СРЕДИ ОБСЛЕДУЕМЫХ ЖЕНЩИН В ПОЛИКЛИНИЧЕСКОМ ЗВЕНЕ

А.В. Москалев, А.Н. Буйнова, М.В. Еремينا

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

В настоящее время отмечается неуклонный рост контаминации условно-патогенными грибами лиц не только с выраженными иммунодефицитными состояниями, но и среди посетителей амбулаторно-поликлинического звена. На основании 13-летнего анализа установлен рост заболеваемости микозами в 2,3 раза. Среди микозов, наиболее часто выявляемых на амбулаторном приеме, наряду с дерматофитией все чаще выделяются инфекции, вызванные условно-патогенными грибами *Candida u Malassezia*. К наиболее частым вариантам оппортунистических микозов кожи относится кандидоз крупных и мелких складок, гладкой кожи, кандидные паронихии, а также хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек. Среди форм поверхностного кандидоза в целом традиционно преобладает вульвовагинальный кандидоз. За указанный период зарегистрированная распространенность вульвовагинального кандидоза возросла в 7 раз: с 0,9 до 9,2 на 1000 обследуемых, при этом прирост выявленных *Malassezia*-инфекций составил 1,1 раза: с 2,8 до 4,3 на 1000 в год. Эти данные свидетельствуют о росте регистрируемых и вновь выявленных случаев микозов. Среди причин оппортунистических микозов могут быть названы, в первую очередь, длительное и бесконтрольное применение антибиотиков и кортикостероидов, некомпенсированные эндокринологические заболевания. Типичными клиническими формами являются кандидоз полости рта, пищевода, кожных

складок и кишечника. Среди факторов иммунного гомеостаза, ограничивающих распространение вагинального кандидоза, особо следует выделить те, которые непосредственно взаимодействуют с клетками оппортунистических дрожжей — это фагоциты, иммуноглобулины и антимикробные пептиды.

Было обследовано 35 женщин в возрасте 22–35 лет, разделенных на группы: с хроническим вульвовагинальным кандидозом в стадии обострения и ремиссии, с острым вульвовагинальным кандидозом и без типичных признаков кандидоза. Устанавливали противогрибковую активность вагинального секрета путем инкубации культур *C. albicans* и последующим высевом на плотную среду. Показатель активности выражали отношением клеток, убитых в процессе инкубации в течение 2 ч, к соответствующему контролю. Установлена сильная и достоверная корреляция противогрибковой активности вагинального секрета с тяжестью течения. При этом частота обнаружения иммуноглобулинов изотипа G и секреторных иммуноглобулинов A к *C. albicans* в изучаемом локусе варьировала и коррелировала с медианами обсемененности вагинального секрета. Не обнаружено корреляции между медианами противогрибковой активности секрета и эффективностью фагоцитоза ($r = -0,117$). Таким образом, можно предположить, что наиболее значимым звеном местного иммунитета является совокупная активность растворимых противогрибковых компонентов вагинального секрета. При их дефиците, отмечающемся при хронических формах урогенитального кандидоза, макроорганизм вынужден активизировать альтернативные механизмы: местную фагоцитарную функцию и синтез специфических секреторных иммуноглобулинов. Оценка этих показателей позволяет составить примерный прогноз течения вагинального кандидоза в современной популяции.

Ранее проведенный анализ общей выборки женщин с вагинальным кандидозом (средний возраст $26,5 \pm 6$ лет) показал, что среди предрасполагающих к рецидивам кандидоза факторов до 5% отмечают беременность, 29% — лечение с антибиотиками, 7% — гормональную контрацепцию, 31% — другие причины. Об эпизодах лабиального герпеса в течение года сообщило 34,9%. Приблизительно 19% отметили присутствие атопического состояния и 2% — наличие разных аллергических реакций. Эти данные позволяют предположить наличие иммунных дисфункций у обследуемых пациентов.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

А.В. Москалев, А.Н. Буйнова, М.В. Еремينا

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Предрасположенность новорожденных к возникновению инфекционных осложнений может быть обусловлена как особенностями госпитальных штаммов микроорганизмов, так и сопутствующими неинфекционными осложнениями: внутриутробной гипоксией и асфиксией при рождении, врожденными аномалиями и респираторными нарушениями. Такие новорожденные рождаются у женщин с отягощенным соматическим и акушерско-гинекологическим анамнезом (анемия, гестоз, угроза прерывания). Все перечисленное способствует ко-

лонизации дыхательных путей штаммами бактерий нозокомиальной микрофлоры. Эффективная и достоверная лабораторная диагностика возбудителей инфекционных осложнений является актуальным и перспективным направлением современной микробиологии и педиатрии.

У большинства новорожденных были выделены грамотрицательные бактерии (94%), среди которых преобладали энтеробактерии (79%). Энтеробактерии чаще всего были представлены *Pseudomonas aeruginosa* (39%), *Escherichia coli* (28%) и *Klebsiella pneumoniae* (26%). Грамположительные бактерии были представлены в основном стафилококками, среди которых преобладали *Staphylococcus epidermidis*, обладающие гемолитическими свойствами (36%). При остром развитии пневмоний среди грамотрицательных штаммов преобладали *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, а среди грамположительных — *Staphylococcus epidermidis*. При затяжном течении пневмоний основным возбудителем являлась *Stenotrophomonas maltophilia*. У 7 из 19 новорожденных с аспирационным синдромом при рождении в этиологической структуре встречалось сочетание *K. pneumoniae* с микоплазмами. Изучение антибиотикограмм возбудителей пневмоний показало, что большинство микроорганизмов были полирезистентными к антибиотикам.

Таким образом, этиологическая структура пневмоний у детей первого года жизни, находящихся в отделении реанимации, представлена широким спектром возбудителей с высокой резистентностью к антибиотикам. Широкий спектр микроорганизмов и тяжелое течение заболевания могут быть связаны с иммунодефицитным состоянием детей первого года жизни.

ОБЩЕСОМАТИЧЕСКАЯ ФОРМА ИЕРСИНИОЗА — НОВАЯ «ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ» ИНФЕКЦИЯ В ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ?

В.Е. Назаров¹, Е.А. Воскресенская², Г.Я. Ценева², Г.И. Кокорина², Е.А. Богумильчик²

¹Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Цель исследования — оценить распространенность иерсиниозных инфекций среди больных гастроэнтерологического профиля, определить особенности клинической картины, диагностики и лечения вызванных ими заболеваний.

Материал и методы. В работе использованы результаты углубленного обследования и лечения 263 гастроэнтерологических больных. Комплекс обследования включал оценку клинико-anamnestических данных, анализы клинического минимума, биохимические показатели, УЗИ органов брюшной полости, ФГДС с проведением хелпил-теста. Для выявления ДНК *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в образцах кала и крови использовали метод ПЦР. Определение специфических антител в образцах сыворотки крови выполняли в реакции агглютинации с корпускулярными антигенами патогенных иерсиний: *Y. pseudotuberculosis* серотипа O:1 и *Y. enterocolitica* серотипов O:3; O:9. У 36 больных при отрицательных результатах дополнительно определяли наличие специфических антител классов IgA и IgG к факторам вирулентности иерсиний методом иммуноблота.

Результаты. Результаты проведенного исследования показали, что иерсиниозные инфекции обнаруживаются более чем у трети пациентов (36,5% случаев) гастроэнтерологического профиля. На основании подробного описания клинической картины и вариантов течения общесоматических заболеваний (панкреатита, гепатита, синдрома раздраженной кишки и т.д.), вызываемых патогенными иерсиниями, предлагается выделить особую форму течения иерсиниозов — общесоматическую. В результате оценки эффективности различных методов лабораторной диагностики общесоматической формы иерсиниозов предлагается оптимальный диагностический алгоритм. Излагаются основные принципы и приводятся результаты лечения общесоматической формы заболевания.

Вывод. Общесоматическая форма течения иерсиниозов — это форма, при которой в клиническом течении болезни преобладают проявления хирургического или терапевтического заболевания, тогда как типичные проявления инфекционного процесса отсутствуют или он характеризуется стертой симптоматикой.

БЕССИМПТОМНАЯ БАКТЕРИУРИЯ И СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОЛОВЫХ ПУТЕЙ У БЕРЕМЕННЫХ

Е.В. Наумкина^{1,2}, О.А. Абросимова², С.Ф. Иванова²

¹Омский государственный медицинский университет, г. Омск

²БУЗ Омской области Городской клинический перинатальный центр, г. Омск

Бессимптомная бактериурия является серьезной проблемой в период беременности в связи с высоким риском развития инфекций верхних отделов мочевыводящих путей, возникновения перинатальных осложнений, возможностью негативного влияния на плод. Источниками инфицирования патогенными микроорганизмами могут являться близлежащие биотопы, населенные микроорганизмами (кишечник, половые пути, кожные покровы).

Цель исследования: выявление взаимосвязи между составом микробиоты вагинального биотопа и спектром возбудителей бессимптомной бактериурии у беременных.

Материалы и методы. Проанализированы результаты бактериологического исследования мочи и отделяемого половых путей 478 беременных, обследованных в течение первого триместра с профилактической целью. Исследование включало определение качественного и количественного состава микроорганизмов мочи, а также содержимого влагалища и отделяемого цервикального канала.

Результаты. Высев микроорганизмов из мочи в клинически значимых концентрациях отмечался у 15,6% женщин. Среди возбудителей преобладали *E. coli* (42,5%), *E. faecalis* (37,5%) и коагулазонегативные стафилококки (5,5%), реже встречались другие виды микроорганизмов. Изменения вагинальной микробиоты по типу неспецифического вагинита у этой категории пациенток отмечались в 55,5% случаев. Более чем у половины из них отмечался высев из половых путей тех же видов микроорганизмов — *E. coli*, *E. faecalis*, коагулазонегативных стафилококков изолированно или в составе ассоциаций. У 10,5% и 12,6% пациенток соответственно были выявлены бактериальный вагиноз и урогенитальный кандидоз; нормоценоз отмечался в 21,4% случаев.

При отсутствии клинически значимой бактериурии доля нарушений вагинального микробиоценоза по типу неспецифического вагинита составила лишь 25,9% случаев; нормоценоз отмечался у 34,6%, дрожжеподобные грибы рода *Candida* высевались у 16,1% обследованных и в 23,4% случаев отмечалась картина бактериального вагиноза.

Выводы. Таким образом, отмечается явная взаимосвязь между наличием потенциальных уропатогенов в составе вагинальной микробиоты и бессимптомной бактериурией у беременных, что может служить обоснованием необходимости обязательной коррекции вагинального микробиоценоза в составе комплексной терапии инфекций мочевыводящих путей у данной категории пациенток.

РОЛЬ СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ В ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ МОЧЕПОЛОВОЙ СФЕРЫ

Т.Н. Николаева, Е.А. Дуванова, Е.Ю. Смирнова

ООО «Центр лабораторной диагностики», г. Вологда

Группа В – это стрептококки, которые впервые были обнаружены у коров при хронических маститах. Этот факт и послужил основанием для их видового названия *Streptococcus agalactiae*. Сейчас данная группа стрептококков становится объектом пристального внимания исследователей в качестве возбудителей мочеполовых инфекций человека.

Цель исследования: выяснить частоту выделения стрептококков группы В (СГВ) при воспалительных процессах мочеполовой сферы различной локализации.

Материалы и методы. Исследовали 2426 проб биологического материала от амбулаторных пациентов: отделяемое вагины и цервикального канала — 1430, отделяемое мужской уретры — 245, сок простаты — 70, эякулят — 58, моча — 623 пробы. Посев производили на кровяной агар, в качестве основы которого служил БРУЦЕЛЛАГАР производства ФБГУН ГНЦПМБ (п. Оболенск). Культивировали посевы при 37°C 18–20 ч, отбирали круглые, серовато-белые колонии, до 2 мм в диаметре с зоной альфа-гемолиза. Чистую культуру агглютинировали на стекле с жидким диагностиком «СТРЕПТО-ТЕСТ А, В, С, G» производства «НПО АКВАПАСТ» (Санкт-Петербург).

Результаты. В пробах отделяемого слизистых мочеполовых органов ведущая роль принадлежала энтеробактериям (25% в структуре), а среди них — *E. coli* (79%). Чуть меньшую долю занимали стрептококки (23%), среди которых лидировал стрептококк группы В (57,5%). Высеваемость СГВ среди пациентов с установленной этиологией воспаления составила 15,2%. Среди прочих патогенов выделены грибы *Candida*, коринебактерии, гемофилы, псевдомонады и др. При исследовании мочи в 61% проб обнаружены микроорганизмы более 10³ КОЕ/мл. В этиологической структуре традиционно преобладали энтеробактерии (61%) с ведущей ролью *E. coli* (84%). Выделение энтерококков и стрептококков в моче составило 15 и 14% соответственно. На долю СГВ пришлось 95% всех идентифицированных стрептококков. Концентрация его в моче была невысокой и составила 10³–10⁴ КОЕ/мл в 76,4% проб. И только 13,6% проб содержали данного возбудителя в количестве 10⁵ КОЕ и выше.

Выводы. Установлено значимое присутствие стрептококков группы В при мочеполовых инфекциях женщин и мужчин. Изучение его роли в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний требует дальнейшей совместной работы клиницистов и бактериологов.

КОНСТРУИРОВАНИЕ И ОЧИСТКА ИММУНОПЕРОКСИДАЗНЫХ КОНЪЮГАТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИММУНОФЕРМЕНТНОМ АНАЛИЗЕ

И.В. Новицкая, Ю.С. Татаренко, И.И. Корсакова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград

Иммуноферментный анализ зарекомендовал себя как один из наиболее перспективных экспрессных методов некультуральной диагностики особо опасных инфекций, в частности, сапа и мелиоидоза. За рубежом для производства иммуноферментных тест-систем используют аффинно очищенные (Rugdech, 1995) поли- и моноклональные антитела против капсульных полисахаридов особо опасных буркхольдериозов (Nuti, 2011; Burtnick, 2012), LPS клеточной стенки (Desacorn, 1994; Maldonado, 2016), комплекса поверхностных антигенов возбудителей (Wuthiekanun, 2005; Amornchai, 2012), рекомбинантных антигенов (Nara, 2013) и т.д. При этом чувствительность и специфичность иммуноанализа напрямую зависят от степени очистки используемых ингредиентов реакции.

Нами проведено конструирование иммунопероксидазных конъюгатов для сэндвич-варианта ИФА как на основе иммуноглобулинов, выделенных из гипериммунной козьей сапной и мелиоидозной сыворотки, так и на основе моноклональных антител против капсульного антигена 8 возбудителя мелиоидоза. Метку ферментом (пероксидазой хрена, Sigma, США) осуществляли методом перйодатного окисления его углеводных остатков с последующим ковалентным связыванием образовавшихся альдегидных групп с аминокетонами иммуноглобулинов под влиянием этиленгликоля (Mathiesen et al., 1978). От непрореагировавших компонентов (около 10% иммуноглобулинов и 30% пероксидазы не вступают в реакцию), образующихся Шиффовых оснований, альдегидных групп фермента и других побочных продуктов полученные конъюгаты очищали методом диализа против 0,1 М ФБР pH 7,4 при +4°C в течение 48 ч с 8-кратной сменой буфера, а также гель-хроматографией на колонке HiperGel 16/60 (Швеция) с использованием Sephadex G-100 и Sephacryl S-200 HR. Скорость элюции через сефакрил, обладающий более «жесткой» структурой, возрастала. Фракции с RZ (D (403)/D(280)) от 0,3 до 0,4 объединяли.

Оказалось, конъюгаты, полученные с помощью диализа, в отдельных случаях требовали повторной очистки, что приводило к снижению чувствительности реакции. По результатам ОП (< 0,06) в лунках с контролями конъюгатов, полученными на колонке, показано преимущество хроматографического метода очистки меченных пероксидазой поли- и моноклональных иммуноглобулинов для ИФА.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2015 г.

И.В. Овсянникова¹, Л.Н. Пожидаева²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии
в г. Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

Совершенствование методов лабораторной диагностики кампилобактериоза способствует уточнению эпидемиологических особенностей этой инфекции. Число больных кампилобактериозными энтеритами в Санкт-Петербурге в последние годы существенно возросло. В 2015 г. число случаев этой инфекции увеличилось на $\frac{1}{3}$ по сравнению с 2014 г., показатель заболеваемости составил 19,49 на 100 000; у детей до 14 лет — 66,1 на 100 000.

Цель исследования состояла в изучении эпидемиологических особенностей очагов кампилобактериоза, зарегистрированных в Санкт-Петербурге в 2015 г.

Эпидемиологический анализ 1073 случаев кампилобактериозной инфекции, зарегистрированных в Санкт-Петербурге в 2015 г. на основе данных автоматизированного учета инфекционных и паразитарных заболеваний, показал, что 946 из них (88,0%) выявлены у госпитализированных больных. В условиях инфекционных стационаров, как детских, так и взрослых, имеющаяся лабораторная база способствует лучшей этиологической расшивке острых кишечных заболеваний (ОКЗ). Из числа заболевших этой инфекцией 57,0% составили взрослые, в основном активного возраста от 20 до 50 лет. У детей до 14 лет кампилобактериоз выявлялся в 41,0% случаев. Дети в возрасте 0–2 лет, заболевшие кампилобактериозом, составили 23,0%. Анализ социально-профессиональной структуры больных кампилобактериозом показал, что у лиц, работающих в общественном питании, торговле и пищевой промышленности эта инфекция регистрировалась в 3,0% случаев. Болели кампилобактериозом также сотрудники детских учреждений и ЛПУ — 1,3%.

Большинство случаев кампилобактериоза закончилось выздоровлением больных. У троих пациентов, имевших также тяжелую сопутствующую патологию (ВИЧ, гепатит и соматические расстройства), зафиксирован летальный исход.

Кампилобактериозная инфекция в 40,0% случаев выявлялась одновременно с другими возбудителями вирусной и бактериальной природы. Отмечено два вида ассоциаций: бактериально-вирусные — 341 случай (82,0% от числа всех микст-очагов кампилобактериоза) и бактериально-бактериальные — 74 случая (18%), в т. ч. выявлено 44 случая тройных ассоциаций (одновременное обнаружение трех различных возбудителей у больного в пределах срока одного инкубационного периода). Подавляющее большинство из них составили бактериально-вирусные ассоциации — 42 случая (12,3% от всех бактериально-вирусных очагов с выявлением кампилобактерий) и только в двух случаях (0,6%) тройные бактериально-бактериальные очаги. Чаще всего кампилобактерии обнаруживались одновременно с ротавирусами — 273 случая (65,7%). Из них у 55 больных выявлены тройные ассоциации: кампилобактерии и ротавирусы в сочетании с другими вирусами (адено-, норо-, астро-

вирусами и др.) и у 10 больных обнаружены кампилобактерии, ротавирусы и другие бактериальные возбудители.

Нередкими были одновременные находки кампилобактерий и норовирусов — 41 случай (9,8%). Из бактериально-бактериальных ассоциаций чаще других регистрировались кампилобактериоз и эшерихиоз — 23 случая (5,5%); кампилобактериоз и сальмонеллез — 18 случаев (4,3%); кампилобактериоз и шигеллез — 12 (2,9%).

Таким образом, настоящее исследование подтвердило актуальность кампилобактериоза для мегаполиса Санкт-Петербург, подверженность этой инфекции всех возрастных групп населения и выявило моно- и микст-очаги с участием различных вирусных и бактериальных возбудителей. Одновременное обнаружение нескольких возбудителей ОКИ у одного больного затрудняет эпидемиологическую и клиническую диагностику и должно учитываться при выборе тактики лечения и организации профилактических мероприятий в очагах.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ И ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ ЗА РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ НАСЕЛЕНИЯ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В КИНГИСЕППСКОМ РАЙОНЕ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА 2012–2015 гг.

Н.Н. Окунева, Н.М. Караулова, Н.А. Попова,
О.Б. Зайцев, М.А. Панькина, О.С. Бывальцева

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской
области в Кингисеппском районе

Введение. Основным источником ротавирусной инфекции (РВ) является человек: лица, переносящие манифестные или субманифестные формы заболевания. В настоящее время ведущая роль принадлежит контактно-бытовому пути передачи возбудителя.

В 2015 г. в Ленинградской области наблюдается снижение на 14,3% ОКИ вирусной этиологии в сравнении с 2013 и 2014 гг. Зарегистрировано 1646 случаев заболеваний. Показатель заболеваемости составил 99,58 на 100 тыс. населения. В 2014 г. он составлял 116,5. Случаи заболеваний регистрировались во всех районах ЛО. Зарегистрированы групповые заболевания ОКИ в детских дошкольных учреждениях, пострадали 32 человека. Как и в 2014 г. доминировали ОКИ вирусной этиологии: ротавирусной — 40,6% (13 случаев) и норовирусной — 59,3% (19 случаев).

По данным анализа заболеваемости система надзора за РВИ в Кингисеппском районе адаптирована к существующей системе надзора за ОКИ и базируется на данных эпидемиологического анализа лабораторно подтвержденных случаев заболевания. Лабораторным подтверждением диагноза РВИ является обнаружение антигенов ротавирусов в образцах биоматериала, как правило, фекалий. Объектом планового контроля является питьевая водопроводная вода. В целях формирования информационного фонда данных социально-гигиенического мониторинга на территории Кингисеппского района утверждены точки контроля на содержание антигенов ротавирусов в воде систем централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения.

Цель работы: целенаправленный поиск в течение 2013–2015 гг. ротавирусов, представляющих эпидемическую опасность, в клиническом материале от людей и в объектах окружающей среды.

Материалы и методы. Лабораторные исследования на РВ осуществляет бактериологическая лаборатория филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в ЛО В Кингисеппском районе», имеющая санитарно-эпидемиологическое разрешение на выполнение работ с микроорганизмами 3–4 групп патогенности и аккредитованная на данный вид деятельности в установленном порядке. Бактериологическая лаборатория имеет договорные отношения с ЦРБ г. Сланцы на проведение исследований на ротавирусную инфекцию материала от больных и контактных групп населения. Проводятся вирусологические исследования методом ИФА. Используется набор реагентов для иммуноферментного выявления антигена ротавируса человека «Вектор БЕСТ», который хорошо себя зарекомендовал. Процент положительных находок составляет от 20 до 27%. Проводили лабораторное исследование проб, полученных от больных и контактных лиц, из водных объектов (вода систем централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения).

Всего за 3 года исследовано 959 проб, в т. ч. материал от 916 людей и 43 пробы воды (95,5 и 4,8% соответственно).

Результаты. Наиболее контаминированным ротавирусом оказался клинический материал от людей. Положительный результат дали 106 проб, что составило 23,6%. За 2013–2015 гг. заболеваемость ОКИ ротавирусной природы в районах менялась. Так, в Кингисеппском районе она выросла на 1,2%. В Сланцевском районе заболеваемость снизилась на 1,6–1,7%. В Волосовском районе в период 2013–2014 гг. наблюдалось снижение заболеваемости на 1,8%, но в 2015 г. произошло увеличение на 1,05%. Несмотря на то, что заболевания ротавирусной инфекцией населения Ленинградской области регистрируются ежегодно, что свидетельствует об эпидемическом неблагополучии, в пробах с объектов окружающей среды, в данном случае в пробах воды систем централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения, положительных находок не обнаружено.

Заключение. С целью проведения санитарно-эпидемиологического надзора за ротавирусной инфекцией необходимо проводить регулярные лабораторные исследования на объектах, представляющих эпидемическую опасность в отношении ротавирусной инфекции, а также осуществлять контроль за соблюдением требований санитарного законодательства, направленных на предупреждение контаминации ротавирусами до эпидемически значимых концентраций потенциально опасных водных объектов.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ — СЛУЧАЙНЫХ НАХОДКОВ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НА ДИСБИОЗ КИШЕЧНИКА

Е.А. Оришак, В.С. Щеглов, Л.Ю. Нилова

Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Проанализирована антибиотикорезистентность 95 штаммов диареогенных *E. coli*, 46 штаммов *Yersinia* spp., 25 штаммов *Salmonella* spp. выделенных при исследовании на дисбиоз. Определение чувствительности к антибиотикам проводилось на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact с использованием карт VITEK® 2 Antimicrobial Susceptibility

Tests (AST) с определением минимальных ингибирующих концентраций (МИК) и категорий чувствительности. Выделенные штаммы диареогенных *E. coli*, *Yersinia* spp. и *Salmonella* spp. были тестированы на чувствительность к 14 антибактериальным препаратам (амокксициллину/клавулановой кислоте, цефподоксиму, цефтазидиму, цефтриаксону, цiproфлоксацину, гентамицину, левофлоксацину, налидиксовой кислоте, нитрофурантоину, норфлоксацину, тетрациклину, тикарциллину/клавулановой кислоте, тобрамицину, ко-тримоксазолу), относящимся к 7 группам (цефалоспорины, защищенные пенициллины, аминогликозиды, тетрациклины, хинолоны, нитрофураны, сульфаниламиды).

Обнаружена резистентность к амоксициллину/клавулановой кислоте (в группе детей до 1 года — в 12 случаях (21,8%), в группе от 1 до 6 лет — в 24,3%). Наряду с устойчивостью к бета-лактамам для диареогенных *E. coli* была характерна устойчивость к тетрациклинам: в группе детей до года — в 12 случаях (21,8%), в группе от 1 до 6 лет — в 8 (21,6%), в группе старше 6 лет — в 1 случае.

Из 46 рассматриваемых штаммов *Yersinia* spp., выделенных при исследовании на дисбиоз кишечника, в группе детей от 1 до 6 лет резистентность к амоксициллину/клавулановой кислоте выявлена в 10 случаях (71,4%), в группе детей старше 6 лет — в 19 (61,3%).

Доля штаммов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, среди *Salmonella* spp. составила 12%.

Резистентность всех рассматриваемых патогенов (диареогенных *E. coli*, *Yersinia* spp., *Salmonella* spp.) в отношении хинолонов составила 20 случаев (12%).

В данном исследовании также выявлены случаи множественной лекарственной устойчивости среди патогенных микроорганизмов, выделенных при исследовании на дисбиоз кишечника. Отмечена как резистентность к нескольким антибиотикам, так и устойчивость к препаратам разных классов.

ИЗУЧЕНИЕ НОСИТЕЛЬСТВА ПАТОГЕННОГО СТАФИЛОКОККА (*S. AUREUS*) У ПЕРСОНАЛА ХИРУРГИЧЕСКИХ ОТДЕЛЕНИЙ ЛПУ ВСЕВОЛОЖСКОГО РАЙОНА ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Э.П. Орлова, Л.А. Кислая

ФБУЗ Центра гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области во Всеволожском районе

Введение. Согласно п. 2.11 дополнения № 1 к СанПиНу 2.1.3.1375-03 «Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров» СП 3.1.2485-09 от 13.02.2009 г. «Профилактика внутрибольничных инфекций в стационарах, в отделениях хирургического профиля лечебных организаций», обследование медицинского персонала на носительство условно-патогенных микроорганизмов, в т. ч. золотистого стафилококка, проводят только по эпидпоказаниям.

Однако поскольку основным возбудителем раневой инфекции во Всеволожском районе является патогенный стафилококк, целью исследования явилось изучение его распространения и частоты носительства у персонала хирургических отделений лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ), выяснения источников и путей передачи инфекции.

Для этого был обследован персонал хирургических отделений ЛПУ Всеволожского района с целью выявления носителей и установления госпитальных штаммов патогенного стафилококка.

Материал и методы. Было обследовано с 2012 г. По 2014 г. 1041 человек. Выделен патогенный стафилококк у 46 человек (4,4%). В 2012 г. процент выделения составил 3,6%, в 2013 г. — 1,9%, в 2014 г. — 9%. Резкое увеличение выделения патогенного стафилококка в 2014 г. обусловлено качеством забора материала, так как в 2014 г. забор материала осуществлялся специалистами бактериологической лаборатории.

Обследование проводилось путем посева материала из носа и зева на желточно-солевой агар. Лецитиназопозитивные кокки изучались путем постановки тестов реакции плазмокоагуляции, ферментации маннита, хлопьеобразования и теста окисления и ферментации на среде Хью—Лейфсона и определение чувствительности выделенных культур к антибиотикам диско-диффузным методом.

Из противостафилококковых антибиотиков использовали линкомицин, рифампицин, оксацилин, пенициллин, хлортетрациклин и эритромицин. Все выделенные штаммы оказались резистентными к пенициллину, хлортетрациклину и эритромицину. К линкомицину и оксациллину резистентность отмечалась у 20 и 14% штаммов соответственно. Полученные результаты свидетельствуют, что в хирургических отделениях персонал является носителями штаммов *S. aureus*, резистентных к антибиотикам. После санации персонала хирургических отделений повторное выделение *S. aureus* было незначительным и составляло 0,6%.

Показатели выделения патогенного стафилококка имеют следующую закономерность распределения:

- массивное — 10^4 – 10^6 у 30%;
- умеренное — 10^2 – 10^3 у 50%;
- скудный рост у 20%.

Резистентные штаммы стафилококка чаще выделялись у персонала с массивным выделением *S. aureus*.

Характерным является увеличение носительства патогенного стафилококка персонала в зимний и весенний период года.

Одновременно устанавливалась взаимосвязь с выделением *S. aureus* из внешней среды в хирургических отделениях.

С целью изучения распространения стафилококка в больничной среде проведено исследование смывов на стафилококк.

В 2012 г. отобрано 1492 смыва, из них выделен патогенный стафилококк в 0,6% исследований, в 2012 г. процент выделения — 0,72%, в 2013 г. — 0,8%, 2014 г. — 0,4%. Отмечено снижение выделения патогенного стафилококка в 2014 г., что обусловлено проведенным ремонтом в отделениях и улучшением соблюдения противоэпидемического режима.

Проведено исследование микробиологического пейзажа воздушной среды хирургических отделений. Исследована микрофлора 462 проб воздуха хирургических отделений ЛПУ. Отбор проб проводился проводился аспирационным методом.

Выделение патогенного стафилококка составило 0,65%. Микрофлора других больничных помещений оказалась более обильной и более разнообразной. Лецитиназопозитивные кокки выделялись в других больничных помещениях в 2 раза чаще.

Возможность возникновения внутрибольничной инфекции в связи с распространением в воздухе патогенных и устойчивых к антибиотикам кокков не установлена.

Эпидемиологическое благополучия хирургического стационара оценивается по регистрации гнойно-септических инфекций, возникающих после проведения плановых хирургических операций не гнойной природы. Из раневых инфекций *S. aureus* выделен в 98 случаев, по антибиотикограмме, сходной со *S. aureus* выделены в смывах и от персонала (чувствительные к оксациллину и линкомицину, устойчивые к пенициллину, хлортетрациклину, эритромицину).

Заключение. Несмотря на то, что с февраля 2009 г. обследование персонала хирургических отделений ЛПУ на патогенный стафилококк отменено, однако проведенная работа позволяет сделать следующие выводы:

- основным источником инфицирования ран является носительство патогенного стафилококка персоналом отделений;
- своевременная санация персонала снижает уровень раневой инфекции в хирургических отделениях района;
- проведенная работа улучшила качество проводимых мероприятий по профилактике стафилококковой инфекции в хирургических отделениях ЛПУ;
- противоэпидемические мероприятия должны планироваться с учетом всех звеньев эпидемического процесса.

ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ МАТОВ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ МИКРОБИОТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ АРКТИКИ И АНТАРКТИКИ

А.Л. Панин¹, Л.А. Краева^{1,5}, А.Е. Гончаров^{2,3}, Д.Ю. Власов⁴, Е.В. Абакумов⁴, А.Б. Белов¹, В.Б. Сбойчаков¹

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

³ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

⁵ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Водные и почвенные биоценозы функционируют как единое целое, включая популяции прокариотических и эукариотических организмов. В связи с активным освоением полярных регионов планеты назрела необходимость изучения вредного влияния микробиоты этих территорий на организм человека. Обычные подходы санитарной микробиологии в полярных условиях малоинформативны, что требует новых подходов к проведению рутинных исследований объектов окружающей среды. В изолированных, экстремально холодных климатических условиях полярных пустынь, цианобактериальные маты (ЦБМ) являются одним из самых приемлемых объектов изучения резервуарной роли биоты. Поиск в них микроорганизмов, в т. ч. имеющих эпидемиологическое значение, имеет общебиологическое

обоснование. Данные симбиотические сообщества вполне можно отнести к «малой экологической системе», которая приспособилась выживать в экстремальных условиях, аккумулировать микробиоту, являясь ее индикатором на безжизненном или обедненном полярном ландшафте.

Под «малой экосистемой» понимается совокупность организмов, обитающих в данном биотопе, т. е. проживающих совместно на определенной территории с единой историей, со способностью к согласованному развитию и на которые воздействуют одни и те же физико-химические условия окружающей среды. Эти макросистемы, так же как и ЦБМ, формируют «первичную почву», выделяют кислород, организуют симбиотические системы в зависимости от места, климатических условий, биоты в них состоящей и от влияния антропогенного фактора, который с отрицательной составляющей постоянно усиливается. Видимо, ЦБМ помогает противостоять вредоносным экстремальным условиям благодаря чувству кворума, что означает социальное поведение бактерий в регуляции генов вирулентности, как важнейший механизм их адаптации. Если ЦБМ представлять, как биопленочное сообщество, прикрепленное к субстратам естественного происхождения, то и изучать его необходимо по специальным методикам, например — сканирующая лазерная микроскопия, ПЦР, микрочипы и другие современные индикаторные методики для повышения эффективности и достоверности, установленных государственным стандартом гостированных и общепризнанных методов.

Таким образом, изучение проблемы использования классических методов и методик санитарной микробиологии в полярных регионах требует новых подходов, а также осмысления научно-практических достижений последнего времени.

ОПЫТ ИДЕНТИФИКАЦИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ МАТАХ АНТАРКТИДЫ

А.Л. Панин¹, Л.А. Краева^{1,5}, А.Е. Гончаров^{2,3}, Д.Ю. Власов⁴, Е.В. Абакумов⁴, А.Б. Белов¹, В.Б. Сбойчаков¹

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

³ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

⁵ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

В суровых условиях полярных регионов цианобактерии составляют основу микробных сообществ — цианобактериальных матов (ЦБМ). Особенно заметно их значение в накоплении органического вещества и формировании первичных почв в экосистемах Антарктики. Резервуарная роль ЦБМ для условно-патогенных и патогенных бактерий показана в районах расположения объектов Российской антарктической экспедиции (РАЭ) поскольку рядом с ними размещаются станции Китая, Индии и стран Латинской Америки, где постоянно отмечается высокий уровень инфекционной заболеваемости и появление новых для этой территории патогенов.

Взятие образца ЦБМ осуществляли с использованием стерильного инструментария и емкостей для их транспортировки с последующим определением содержания в ЦБМ бактерий. Их выделение осуществляли при +26°C на агаризованных средах: среда с бромтимоловым синим (СБТС) и Эндо. При наличии в пробах грамотрицательных палочек ставили тест на наличие у выделенных штаммов фермента оксидазы. При ее отсутствии культуры подвергали биохимическому типированию с помощью тест-систем MIKRO-LA-TEST. Учет результатов производили с использованием компьютерной программы Lachema по обработке данных через 24 ч. Штаммы бактерий, которые не удалось идентифицировать с помощью биохимических тестов, изучены с помощью технологии MALDI-TOF на приборе Bruker Daltonics.

Из всего многообразия микробиоты в ЦБМ и связанных с ними субстратах медицинское значение имели 31 вид из 9 семейств: 1. *Alcaligenaceae* (*A. faecalis*, *Oligella ureolytica*, *Achromobacter xyloso*); 2. *Burkholderiaceae* (*B. cepacia*); 3. *Comamonadaceae* (*C. terrigena*); 4. *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Photobacterium asymbiotica*, *Serratia ficaria*, *S. grimesii*, *S. liquefaciens*, *S. marcescens*, *S. plymuthica*, *Shigella dysenteriae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Tatumella tyseos*, *Yersinia aldovae*, *Y. enterocolitica*, *Y. kristensenii*); 5. *Moraxellaceae* (*Acinetobacter lwoffii*, *A. haemolyticus*); 6. *Neisseriaceae* (*Kingella denitrificans*); 7. *Pasteurellaceae* (*Eikenella corrodens*); 8. *Pseudomonadaceae* (*Brevundimonas vesicularis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. luteola*, *P. oryzihabitans*, *P. putida*); 9. *Xanthomonadaceae* (*Stenotrophomonas maltophilia*).

Таким образом, показана резервуарная роль ЦБМ для условно-патогенных и патогенных бактерий в Антарктиде. Планируется продолжение их исследования не только в Антарктике, но и в Арктике.

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ БОЛЬНЫХ ЛЕПТОСПИРОЗОМ

О.А. Петрова, Н.Е. Любимова, Н.А. Стоянова, Н.К. Токаревич, Арег А. Тотолян
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Лептоспироз является одной из наиболее широко распространенных и социально значимых зооантропонозных инфекций. Возбудителями являются бактерии рода лептоспир (*Leptospira*).

В ряде случаев лептоспироз у человека протекает в легкой форме, сопровождаясь неспецифическими симптомами, однако у 10–15% больных развивается тяжелая форма, которая часто быстро прогрессирует и может привести к летальному исходу. Летальность в случае развития тяжелых форм лептоспироза достигает 20%, а в случае развития легочного геморрагического синдрома превышает 50%. Предполагается, что тяжесть и исход заболевания зависит от вида продуцируемых цитокинов и от их концентрации.

Объектом исследования послужили сыворотки крови от больных лептоспирозом (n = 86) и 14 сывороток от практически здоровых лиц. Для экспериментальной части работы был взят штамм из коллекции лаборатории зооантропонозных инфекций НИИ Пастера — *Leptospira interrogans*. Данным штаммом проводилась 24-часовая стимуляция цельной крови здорового донора с дальнейшим отбором

супернатантов. Определение цитокинов в биоматериалах (сыворотки и супернатанты) проводилось на анализаторе «MagPix» («Millipore», США) с использованием стандартной панели из 9 анализов: TNF α , MCP-1, IL-8, IL-4, IL-6, IL-10, IL-1Ra, IL-12(p70), IFN γ . Математическую обработку данных осуществляли с применением программы GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, США). Для описания полученных результатов использовались стандартные методы непараметрической статистики.

При изучении цитокинов *in vivo* в группе больных лептоспирозом по сравнению с контрольной группой выявлены достоверно повышенные уровни IL-8, IL-10, MCP-1, TNF α ($p < 0,05$). Выявлены корреляционные связи между TNF α и MCP-1, TNF α и IL-1Ra ($r = 0,51$; $r = 0,49$ соответственно), такие же связи были обнаружены и в группе контроля (но более сильные: $r = 0,69$ для обоих случаев). Выявлена корреляционная связь между IL-12(p70) и IFN γ ($r = 0,55$) в опытной группе, нехарактерная для группы контроля.

В части *in vitro* впервые было показано, что пик стимуляции для большинства цитокинов приходится на 2–3 час стимуляции (IFN γ , IL-12p(70), IL-1Ra, IL-4 (причем для двух последних цитокинов после достижения пика, продукция цитокинов выходит на плато). Непохожую на остальные цитокины динамику дали IL-8 и TNF α , которые имеют пики стимуляции приходящиеся на 6 ч. Необходимо проводить новые, обширные исследования о взаимодействии цитокинов и их роли иммунопатогенезе лептоспирозов.

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ ГАЛОФИЛЬНЫХ ВИБРИОНОВ

Н.Н. Пидченко, Л.С. Зинич, С.Н. Тихонов

ФГКУЗ Противочумная станция Республики Крым
Роспотребнадзора, г. Симферополь

Vibrio parahaemolyticus обитают в морской среде и могут являться возбудителями пищевых токсикоинфекций. Наиболее распространенным методом определения вирулентности, применяемым в клиничко-диагностических лабораториях, является определение феномена Канагава (наличие гемолиза) на среде Вагатсума. Штаммы, обладающие феноменом Канагава, считаются вирулентными. Однако существующий фенотипический метод определения гемолитических свойств у галофильных вибрионов не дает стандартных результатов. Для стандартизации определения гемолитических свойств (степени гемолиза) рекомендовано использовать референтные культуры *V. parahaemolyticus*. Потенциальная возможность *V. parahaemolyticus* вызывать полный гемолиз обусловлена наличием прежде всего гена прямого термостабильного гемолизина (*tdh*). Целью исследования являлось определение вирулентности галофильных вибрионов методом ПЦР путем выявления гена прямого термостабильного гемолизина. Для исследования взято 15 штаммов, выделенных из клинического материала в период вспышки пищевой токсикоинфекции в г. Запорожье в 2001 г. Культуры *V. parahaemolyticus* идентифицированы классическим методом. Штаммы являлись гемолизопозитивными (Канагава-положительными) при изучении их роста на среде Вагатсума. Все штаммы изучались

методом ПЦР на наличие гена *tdh* по следующей методике: 1 мл суточной культуры центрифугировали при 5000 об. в течение 10 мин. Супернатант удаляли, а осадок ресуспендировали в 0,1 мл стерильной дистиллированной воде и нагревали до 100°C в течение 5 мин. После центрифугирования при 10 000 об. в течение 10 мин, супернатант переносили в чистую пробирку и затем определяли наличие гена *tdh* с помощью ПЦР. Использовали в ПЦР два праймера: 5'-GGTACTAAATGGCTGACATC и 5'-CCACTACCACCTCTCATATGC. Амплификацию проводили по схеме: один цикл 96°C — 5 мин, 35 циклов по схеме: денатурация — 94°C — 1 мин, отжиг — 55°C — 1 мин, синтез — 72°C — 1 мин, и один цикл при 72°C — 7 мин. Результаты ПЦР учитывали электрофоретическим методом: ген *tdh* выявили у 5 штаммов из 15 гемолизопозитивных штаммов, определенных с помощью роста на среде Вагатсума. В результате исследований можно сделать выводы:

- выявление прямого термостабильного гемолизина (*tdh*) методом ПЦР может использоваться как ориентировочная экспресс-диагностика;
- для определения вирулентности культур применим комплексный метод с использованием как генетических методов (включая выявление гена (*tdh*) и других гемолизинных), так и классического бактериологического метода, включая определение гемолитической активности на среде Вагатсума.

ДИНАМИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ СТАФИЛОКОККОВ В ПСИХИАТРИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЕ

С.Б. Пилипенко¹, Е.А. Мамонова¹, Ю.В. Голубева¹,
Н.С. Козлова^{2,3}

¹Городская психиатрическая больница № 3

им. И.И. Скворцова-Степанова, Санкт-Петербург

²Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

³Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр, Санкт-Петербург

Цель исследования: оценка динамики чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) штаммов стафилококков, выделенных от пациентов психиатрической больницы в 2014–2015 гг.

Материалы и методы. Диско-диффузионным методом была определена чувствительность 384 штаммов стафилококков (в т.ч. 216 культур *S. aureus* и 168 штаммов *S. epidermidis*), выделенных из разного материала пациентов психиатрической больницы в 2014–2015 гг., к 8 АМП: пенициллину (Pn), оксациллину (Ox), ципрофлоксацину (Cip), левофлоксацину (Lv), амикацину (Ak), ванкомицину (Van), сульфаметоксазолу/триметоприму (ST), рифампицину (Rif).

Результаты. 99,7% изученных культур оказались устойчивы хотя бы к одному АМП, при этом чаще встречались штаммы, устойчивые к Pn (97,7%) и Ox (79,4%), реже — к Cip (57,0%), ST (47,4%), Lv (38,0%), Ak (15,6%) и Rif (1,8%). Не было выявлено культур, устойчивых к Van. Удельный вес метициллинрезистентных стафилококков был несколько выше среди *S. aureus* (82,9%), чем среди *S. epidermidis* (75,0%). Все полирезистентные культуры *S. aureus* оказались метициллинрезистентными, в то время как 10,2% полирезистентных штаммов *S. epidermidis* были чувстви-

тельны к метициллину. Удельный вес полирезистентных культур составил 68,7% и был выше среди *S. epidermidis* (76,2%), чем у *S. aureus* (63,0%).

Были выявлены различия в антибиотикорезистентности стафилококков в 2014 и 2015 гг. Так, в 2015 г. увеличился удельный вес метициллинрезистентных культур (с 74,7 до 85,6%), в большей степени за счет *S. epidermidis* (с 68,7 до 84,1%), а также штаммов, устойчивых к Ак (с 13,8 до 19,8%). Если в 2014 г. только одна культура *S. epidermidis* была резистентна к Rif, то в 2015 г. было выявлено уже шесть устойчивых к нему штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis*. В то же время снизился удельный вес культур, резистентных к Cip (с 65,0 до 46,7%) и ST (с 50,2 до 43,7%), а также количество полирезистентных штаммов (с 72,3 до 64,1%). С 14,3% в 2014 г. до 3,9% в 2015 г. снизился также удельный вес полирезистентных метициллинчувствительных культур, которые, возможно, были вытеснены метициллинрезистентными. В 2015 г. был выявлен штамм *S. aureus*, устойчивый к семи из восьми изученных антимикробных препаратов, чувствительный только к Van, в то время как в 2014 г. такие культуры отсутствовали.

Выводы. Среди стафилококков, выделенных в психиатрической больнице, преобладали антибиотикорезистентные культуры с высоким удельным весом метициллинрезистентных и полирезистентных штаммов, причем метициллин-резистентные культуры чаще встречались у *S. aureus*, а полирезистентные — у *S. epidermidis*. Наибольшую активность в отношении стафилококков проявляли ванкомицин, к которому не было выявлено устойчивых культур, и рифампицин (1,8% резистентных штаммов). Наличие динамики устойчивости стафилококков к антимикробным препаратам подтверждает необходимость проведения постоянного мониторинга их антибиотикорезистентности.

СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОКЛЮША И МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЯ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

А.С. Пименова¹, О.Ю. Борисова^{1,2}, Н.Т. Гадуа¹, М.С. Петрова¹, О.П. Попова¹, Т.А. Скирда¹, А.П. Шепелин³, Я.В. Подкопаев³, Е.Е. Донских², Л.И. Кафарская², В.А. Алешкин¹

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

² ГОУ ВПО Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Пирогова МЗ РФ, Москва

³ ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

В рамках работы референс-центра (Приказ Роспотребнадзора № 88 от 17.03.2008 г.) во ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора проводится микробиологический и молекулярно-генетический мониторинг возбудителя коклюша путем верификации штаммов, циркулирующих в РФ. В референс-центр в 2011–2015 гг. поступило 211 культур *B. pertussis* из бактериологических лабораторий ЛПО и ФБУЗ ЦГиЭ в субъектах РФ. Показано, что на территории России прослеживается тенденция снижения общей антибиотикочувствительности штаммов к антибиотикам. В 2015 г. с помощью МЛСТ выявлено 5 различных генотипов с преобладанием 322 и 329 MAST2 генотипов, относящихся к современной клональной группе и при выделении которых отмечается наиболее тяжелое клиническое течение коклюша.

Совместно со специалистами ФБУН ГНЦ МПБ (Оболенск) проведены межучрежденческие испытания питательных сред по биологическим показателям на соответствие требованиям определения возможности их использования в практике здравоохранения для первичного посева патологического материала на коклюш. Изучены ростовые свойства 4 серий Бордетеллагара (с.12, с.13, с.14 и с.15). Установлено, что все испытываемые серии обеспечивают визуальное обнаружение роста бордетелл в виде характерных колоний на поверхности питательной среды через 72 ч роста, что подтверждает ростовую ценность этих серий питательных сред. Проведенные исследования на четырех региональных практических семинарах по лабораторной диагностике коклюша в различных субъектах РФ в 2016 г. (г. Ростов-на-Дону, г. Ставрополь, Москва, Санкт-Петербург) показали, что испытываемые серии Бордетеллагара (с.15, с.16, с.17, с.18, с.19 и с.21) обладают хорошими ростовыми свойствами.

Введенные в действие СП 3.1.2.3162-14 расширили возможности врачей при обследовании больных с подозрением на коклюш путем применения молекулярно-генетических и серологических методов исследования. Проводимые в референс-центре молекулярно-генетические исследования позволили подтвердить клинический диагноз коклюша в 88,0% случаях. Данный метод был эффективен на любых сроках от начала заболевания, при любых формах клинического течения, а также на фоне проведения антибиотикотерапии. Метод наиболее эффективен у детей в возрасте до 1 года и у взрослых со стертой клинической картиной заболевания, при расследовании источника инфекции в очагах. Использование для серологической диагностики ИФА позволило получить положительные результаты у 80% заболевших коклюшем.

ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ В ДИАГНОСТИКЕ ТУЛЯРЕМИИ

А.С. Пинчук, О.В. Калмантаева, В.В. Фирстова
ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Лабораторная диагностика туляремийной инфекции у людей основывается на иммунологических, молекулярно-генетических и бактериологических методах. Бактериологические и ПЦР исследования используются в качестве дополнительного теста диагностики туляремии. Окончательный диагноз туляремии обеспечивают сопоставлением результатов сероаллергического обследования больного с клинико-эпидемиологическими данными. Ранним методом выявления туляремии является аллергическая реакция с тулярином, которая становится положительной с 3–5 сут болезни. Это общая реакция организма, которая при развившемся инфекционном процессе может вызвать ухудшение состояния больного поэтому пробу с тулярином предпочтительно заменить на исследования *in vitro*. Аллергодиагностика с тулярином основана на выявлении реакции гиперчувствительности замедленного типа основными медиаторами которой являются лимфоциты.

Цель исследования — выявить маркеры активации лимфоцитов, специфически экспрессирующие под влиянием тулярина.

Методы. Мышей линии BALB/c иммунизировали подкожно однократно *F. tularensis* 15 в дозе 45 КОЕ/мышь. В качестве контроля использовали интактных мышей. Через месяц после иммунизации половину животных из каждой группы заражали подкожно вирулентным штаммом *F. tularensis* 503 в дозе 1000 КОЕ/мышь. Все зараженные туляремией интактные мыши погибали на 4–6 сут, все иммунные животные выжили. Для проведения иммунологических исследований из обеих групп оставшихся незараженных животных забирала селезенки, из которых получали культуру спленоцитов. Клетки инкубировали в полной питательной среде с тулярином в течение 18 ч. Затем окрашивали поверхностными маркерами CD3PerCP, CD4APC, CD69FITC, CD25PE, CD28FITC. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur в программе CellQuestPro.

Результаты и обсуждение. В культуре спленоцитов, полученных от мышей, иммунизированных *F. tularensis* 15, под влиянием тулярина специфически усиливалась экспрессия CD69 маркера на поверхности Т-хелперов (11,86%). Содержание CD3⁺CD4⁺CD69⁺ в культуре клеток, полученных от интактных мышей, после стимуляции тулярином *in vitro* составило 1,06%.

Выводы. Цитометрический метод выявления раннего маркера активации CD69 может быть использован в качестве дополнительного метода диагностики туляремийной инфекции взамен кожной реакции с тулярином.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА В РАЗРАБОТКЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Я.В. Подкопаев, Л.В. Домотенко, М.В. Храмов, А.П. Шепелин

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Подбор оптимального компонентного состава при разработке питательных сред — трудоемкий и сложный процесс. Поиск методов, направленных на оптимизацию и совершенствование процедуры разработки, является важной задачей.

Цель данной работы — изучить возможность применения кондуктометрического метода с использованием анализатора «ВаcТрас 4100» (SYLAB) при разработке питательных сред для возбудителей гнойных бактериальных менингитов.

В качестве тест-штаммов использовали *Haemophilus influenzae* ATCC 49247 и *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305. Экспериментальные варианты питательных сред готовили с использованием панкреатических гидролизатов казеина (ПГК) и рыбной муки (ПГРМ), солянокислотного гидролизата казеина (СГК) производства ФБУН ГНЦ ПМБ; экстракта пекарных дрожжей (ЭПД, Sanofi) и мясного пептона (Pronadisa). Все варианты питательных сред обогащали НАД и геминем (Sigma) в концентрациях 10 мг/л. В качестве контрольного метода использовали классический культуральный посев в среды с аналогичным составом с последующим пересевом на плотные питательные среды в контрольных точках.

Измерение электрического импеданса (полного электрического сопротивления) на «ВаcТрас 4100» производили одновременно по двум параметрам: импеданс среды (М-параметр) и импеданс вблизи элек-

тродов (Е-параметр). Воспроизводимые результаты для *H. influenzae* получены только по М-параметру, для *S. pneumoniae* — только по Е-параметру. Графики изменения импеданса во времени имели вид S-кривых и напоминали кривые роста микроорганизмов. На вариантах сред с СГК и ПГК экспоненциальный рост кривых для обоих микроорганизмов начинался раньше и носил более интенсивный характер, чем на вариантах с ПГРМ. Кроме этого, увеличению значения М-параметра для *H. influenzae* способствовало добавление в среды мясного пептона и ЭПД, а увеличению значения Е-параметра для *S. pneumoniae* — только добавление пептона.

Полученные с использованием «ВаcТрас 4100» графики изменения импеданса коррелировали с данными скорости роста исследованных микроорганизмов, полученными контрольным методом. На основании этих данных в качестве основы питательной среды выбрана смесь ПГК, ЭПД и мясного пептона.

Использование кондуктометрического метода сократило время исследования вдвое и снизило количество выполняемых операций за счет исключения пересева культур на плотные питательные среды. Графики изменения импеданса позволили достоверно определить влияние компонентов питательных сред на рост исследованных микроорганизмов.

РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЛИСТЕРИЙ

О.В. Полосенко, А.П. Шепелин, И.И. Марчихина, Л.П. Шолохова

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Листерииоз считается одной из актуальных нерешенных проблем здравоохранения, имеющей социальное и экономическое значение ввиду высокого процента летальности заболевших. Классический метод выявления возбудителя включает этапы накопления, выделения и идентификации. В России разработан ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *L. monocytogenes*», гармонизированный с международным стандартом ISO 11290-1:1996 в части проведения исследования и применения питательных сред.

Отечественной промышленностью производятся питательные среды: питательный бульон и агар для выделения листерий (ПБЛ и ПАЛ). Для расширения номенклатуры питательных сред для выделения листерий в ФБУН ГНЦ ПМБ разработаны бульон UVM и ПАЛКАМ АГАР.

Высокое содержание питательных веществ в разработанном бульоне UVM с большой буферной емкостью создают оптимальные условия для роста листерий. Налидиксовая кислота и акрифлавин подавляют рост сопутствующей микрофлоры. Двухэтапный накопительный метод с использованием UVM-II применяется при анализе высоко контаминированных образцов.

Использование таких сред, как ПАЛКАМ АГАР, имеющих в составе маннит и индикатор феноловый красный дает дополнительную возможность дифференцировать рост сопутствующих маннит-положительных микроорганизмов от листерий.

Состав ПАЛКАМ АГАРА на основе панкреатических гидролизатов казеина и рыбной муки превосходит импортные аналоги по чувствительности

и скорости роста. Через 18–20 ч инкубации при посеве 10 м.к. среда обеспечивает визуально обнаруживаемый рост листерий с почернением среды вокруг колоний, в то время как на коммерческих аналогах наблюдается рост в виде точечных колоний со слабым почернением. Антибиотики и хлорид лития придают высокую селективность среде. Дифференцирующие свойства основаны на способности листерий расщеплять эскулин до эскулетина. На среде не позднее 48 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ рост листерий наблюдается в виде колоний серо-зеленого цвета диаметром 1,4–2,0 мм с черной зоной.

Результаты испытаний свидетельствуют о высокой селективности питательных сред UVM и ПАЛКАМ АГАРА и позволяют сделать вывод о возможности их использования в практике бактериологических лабораторий при выявлении листерий из различных объектов.

АПРОБАЦИЯ РЕАКЦИИ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ДНК ТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ*

А.С. Пономарева¹, Ж.Ю. Хунхеева¹, Л.В. Миронова¹, И.Ю. Щит², С.Ф. Бикетов², С.К. Миткева¹, С.В. Балахонов¹

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск

²ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболонск, Московская область

Петлевая изотермическая амплификация (Loop mediated isothermal amplification — LAMP) впервые описана Notomi T. в 2000 г., как чувствительный, специфичный, эффективный, отличающийся простотой и низкой стоимостью метод амплификации ДНК при изотермальных условиях ($60\text{--}65^\circ\text{C}$). Характеристики данной реакции позволяют рассмотреть ее в качестве перспективного метода при экспресс-анализе клинического материала от больных с подозрением на холеру и в скрининговых исследованиях объектов окружающей среды для определения контаминации эпидемиологически значимыми микроорганизмами рода *Vibrio*.

Цель работы — апробация петлевой изотермической амплификации (LAMP) для детекции ДНК токсигенных штаммов *V. cholerae*.

В работе использовали 10 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 и 5 штаммов гетерологичных микроорганизмов. ДНК выделяли с помощью набора «Рибопреп» (Амплисенс) и термолизисом (95°C , 30 мин). Проведена апробация разработанных в ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора двух наборов праймеров: Vc7 и Vc173, специфичных области генома, содержащей ген субъединицы А холерного токсина (*ctxA*). Учет результатов проводили с помощью электрофореза.

Сравнение способов пробоподготовки показало большую эффективность реакции петлевой изотермической амплификации при использовании ДНК, экстрагированной с применением коммерческого набора. По результатам исследований с наборами праймеров Vc7 и Vc173 установлена 100% воспроизводимость результатов LAMP с вариабельностью по концентрационной чувствительности от 2×10^3 мк/мл (100% положительных результатов) до 20 мк/мл (22,2%). Амплификационного ответа

в реакциях с гетерологичными микроорганизмами не обнаружено, что подтверждает 100% специфичность обоих наборов праймеров.

Таким образом, наборы праймеров Vc7 и Vc173 обеспечивают возможность выявления ДНК токсигенных штаммов *V. cholerae* с высокой чувствительностью и специфичностью и могут быть рекомендованы для дальнейших исследований по разработке тест-систем на основе LAMP. Вместе с тем, необходимо проведение исследований по оптимизации экстракции ДНК для сокращения времени подготовки проб и повышения чувствительности реакции, а также дизайну наборов праймеров, обеспечивающих возможность детекции видо-, биоваро- и серогруппоспецифических генетических детерминант *V. cholerae*.

ВОЗБУДИТЕЛИ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗОВ

А.А. Порин

Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

С момента открытия кампилобактеров в 80-х гг. XIX в., эти микроорганизмы «проделали большой путь» от малозначимых до доминирующих в этиологической структуре ОКИ. Известно большое количество видов, каждые два года проводятся международные конгрессы CHRO (Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms), однако, до сих пор кампилобактеры ассоциируются с одним видом — *C. jejuni* (и иногда с *C. coli*). В странах Евросоюза в 2010–2012 гг. 99,6% случаев кампилобактериоза было вызвано *C. jejuni* (93,1%) и *C. coli* (6,5%), оставляя на долю прочих видов 0,4%.

К «минорным» видам относят *C. lari* и *C. upsaliensis*. Используемые в настоящее время коммерческие среды предназначены для выделения *C. jejuni* и *C. coli* и могут подавлять рост других видов. Следовательно, редкое выделение *C. lari* и *C. upsaliensis* может не соответствовать их реальному распространению.

C. jejuni и *C. coli* вызывают сотни тысяч заболеваний в странах Евросоюза и представляют серьезную экономическую проблему, несмотря на благоприятное течение и летальность, не превышающую 0,03–0,04%. В то же время, имеются данные, что *C. lari* и *C. upsaliensis*, для которых также характерен фекально-оральный механизм передачи, чаще вызывают внекишечные формы инфекции. Наиболее часто регистрируются хронические процессы, связанные с имплантацией кардиостимуляторов, послеоперационные осложнения, связанные с протезированием, мочевые инфекции, плевриты, бактериемия. Они возникают не только на фоне снижения резистентности, но и у иммунонекомпрометированных пациентов. Необходимость своевременной диагностики этих состояний не вызывает сомнений.

Природным резервуаром «редких» кампилобактеров являются различные виды животных и птиц, а, следовательно, необходимо совершенствовать и методы контроля объектов внешней среды. Это тем более необходимо, поскольку существуют регионы с преобладанием рассматриваемых видов. Так, например, исследования проведенные в Хошимине, выявили два интересных факта: частота обсемененности кур была аномально низкой (15,3%) и доминирующим видом был *C. lari* (73,9%), а на долю *C. jejuni* пришлось лишь 4,3% изолятов. В Антананариву 9,2% кампилобактеров, выделенных из тушек бройлеров, составляли *C. upsaliensis* и *C. lari*.

До сих пор никому не удалось создать универсальную селективную питательную среду, которая одинаково хорошо подходила бы для выделения любых кампилобактеров. Еще в конце 80-х гг. прошлого века были разработаны селективные методы выделения кампилобактеров на неселективных средах. Речь идет о дифференциальной фильтрации, которая была незаслуженно забыта, в первую очередь потому, что ее использование было менее технологично, чем применение селективных коммерческих сред. Совершенствование технологии изготовления и использования фильтров, создание на их основе систем для диагностики и исследования объектов внешней среды может стать одним из направлений, позволяющих решить проблему «редких» кампилобактеров.

МОНИТОРИНГ ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ МОЧИ

Е.В. Потап, Т.М. Кускова, А.А. Кутькина, О.Е. Суравицкая, Н.М. Сивкова, Г.В. Михайлова, О.В. Попова

Филиал ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Ломоносовском районе

Введение. Согласно рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения, под мочеполовыми инфекциями надо понимать следующие заболевания: уретрит, цистит, пиелонефрит или гломерулонефрит, аднексит, сальпингит, эндометрит, баланит, баланопостит, простатит, везикулит, эпидидимит. Инфекционно-воспалительные заболевания почек и мочевыводящих путей — одна из актуальных проблем практического здравоохранения.

Исследование мочи направлено на выделение возбудителя заболевания и на количественное определение степени бактериурии.

Моча здорового человека стерильна. Однако при прохождении через мочеиспускательный канал она может загрязняться вегетирующей в нем микрофлорой.

В дистальном отделе уретры в норме обнаруживают следующие микроорганизмы: *S. epidermidis*, *E. faecalis*, микроорганизмы семейства и родов: *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides* и некоторые другие виды.

Возбудителями воспалительных процессов в мочевой системе наиболее часто являются условно — патогенные бактерии *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *Citrobacter*, *K. pneumoniae*, *Serratia*, несколько реже — *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. pyogenes*, *Mycoplasma*. Представители рода *Salmonella* и семейства *Mycobacteriaceae* также могут быть выделены из мочи при заболеваниях мочевой системы.

E. coli является основным возбудителем, выделяющимся из мочи больных при различных клинических ситуациях.

Цель исследования: провести анализ результатов бактериологического исследования мочи у взрослых и детей и выявить наиболее часто выделяемые микроорганизмы.

Материалы и методы. Применялись количественные методы исследования (метод секторных посевов), основанные на определении числа микробных клеток в 1 мл мочи (степень бактериурии), позволяющие отдифференцировать бактериурию, возникающую в результате загрязнения мочи нормальной микрофлорой дистального отдела уретры, от бактериурии, развивающейся при инфекционных про-

цессах в мочевыводящей системе, возбудителями которых являются условно-патогенные микроорганизмы.

Метод секторных посевов позволяет не только определить степень бактериурии, но и выделить возбудителя заболевания в чистой культуре.

Для исследования использовались 5% кровяной агар, сахарный бульон.

Метод секторных посевов. Петлей, диаметром 2 мм, емкостью 0,005 мл, производили посев мочи (30–40 штрихов) на сектор «А» чашки Петри с 5% кровяным агаром. После этого петлю прожигали и производили 4 штриховых посева из сектора «А» в сектор «I» и аналогичным образом — из сектора «I» в «II» и из «II» в «III». Чашки инкубировали при 37°C 18–24 ч, после чего подсчитывали число колоний, выросших в разных секторах.

При отсутствии роста на 5% кровяном агаре чашки выдерживали 3 сут в термостате, т.к. может наблюдаться замедленный рост стрептококков.

Подсчитывали количество колоний, выросших на плотных питательных средах и пересчитывали обсемененность на 1 мл мочи. Из сахарного бульона делали высев на чашку с 5% кровяным агаром. Колонии, выросшие на плотных питательных средах, отсеивали в пробирки со скошенным агаром, выделенную чистую культуру идентифицировали и определяли ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

Основной задачей при интерпретации полученных данных являлось доказательство этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов. Учитывали комплекс тестов: степень бактериурии, вид выделенных культур, повторность их выделения в процессе заболевания и лечения, присутствие в моче монокультуры или ассоциации микроорганизмов.

Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой. С этой целью использовали следующие критерии:

- 1 степень бактериурии, не превышающая 10^3 микробных клеток в 1 мл мочи, свидетельствует об отсутствии воспалительного процесса и обычно является результатом контаминации мочи;
- 2 степень бактериурии, равная 10^4 микробных клеток в 1 мл мочи, расценивается как сомнительный результат. Исследование следует повторить;
- 3 степень бактериурии, равная и выше 10^5 микробных клеток в 1 мл мочи, указывает на наличие воспалительного процесса.

Изменение степени бактериурии в процессе заболевания может быть использовано для контроля за течением процесса и эффективностью терапии: уменьшение степени бактериурии свидетельствует о благоприятном течении заболевания и эффективности использованных лекарственных препаратов.

Следует иметь в виду, что в некоторых случаях — у больных, получающих антибактериальную терапию, при плохом оттоке мочи, при низком ее удельном весе и рН ниже 5 — может наблюдаться низкая степень бактериурии при имеющемся заболевании. Поэтому, помимо степени бактериурии, следует изучать вид выделенных из мочи микроорганизмов. Эшерихии, протей, синегнойная палочка, клебсиеллы чаще выделяются из мочи больных уроинфекцией. Дифтероиды, лактобациллы, грамположительные палочки обычно выделяются из мочи здоровых людей.

При трактовке результатов исследования следует учитывать повторность выделения одного и того же вида микроорганизмов: повторное выделение из мочи культуры одного вида, типа, варианта говорит о наличии инфекционного процесса.

Учитывается также присутствие в моче монокультуры или ассоциации микроорганизмов. Монокультура чаще выделяется при острых воспалительных процессах и коррелирует с высокой степенью бактериурии. Ассоциации микроорганизмов чаще встречаются при хронических процессах и коррелируют с низкой степенью бактериурии.

При окончательной трактовке результатов микробиологического исследования необходимо учитывать данные клиники и другие лабораторные анализы.

В окончательном ответе, который выдается лабораторией, указывается степень бактериурии, вид выделенных культур и их чувствительность к лекарственным препаратам.

Результаты. В период 2013–2015 гг. проведено 574 исследований проб мочи, из них 200 проб мочи детей, 374 пробы мочи взрослых.

Состав микрофлоры достаточно разнообразен. Наиболее часто выделялись *E. coli* (22% у детей и 22,5% у взрослых) и *S. saprophyticus* (24% у детей и 28% у взрослых), чуть меньше *S. epidermitis* (10% у детей и 9% у взрослых). *E. faecium* и *E. faecalis* также весьма часто являются причиной воспалительных процессов (11 и 6% у детей и 11,3 и 7% у взрослых) Дифтероиды составляют 4,5% у детей и 7,7% у взрослых из общего числа выделенной микрофлоры. *P. aeruginosa* составила 3% у детей, а у взрослых менее 1%, также *P. cepacia* — у детей 2,2%, *P. putida* 1,4%, а у взрослых менее 1%. *Proteus vulgaris* по 2% у детей и взрослых. *C. albicans* у детей менее 1%, а у взрослых 1,4% от общего числа выделенных культур. *N. flavescens*, *N. subflava*, *N. sicca*, *Alcaligenes faecalis*, *P. putida*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter*, *Micrococcus* выделялись менее чем в 1% у детей и у взрослых.

Следует отметить, что у детей и взрослых состав микрофлоры мочи в большой степени идентичен.

Исключение составили: *Enterobacter* 7% у детей, а у взрослых 3,6%. *P. aeruginosa* составила 3% у детей, а у взрослых менее 1%, дифтероиды составляют 4,5% у детей, у взрослых 7,7%.

Наблюдается наиболее частое выделение *S. saprophyticus* 24% у детей и 28% у взрослых.

Заключение. По нашим данным возбудителями воспалительных процессов в мочевой системе наиболее часто являются условно-патогенные бактерии *E. coli*, *E. faecium*, *S. saprophyticus*, *S. epidermitis*.

ЧАСТОТА ВЫДЕЛЕНИЯ ГЕМОЛИЗИРУЮЩЕЙ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ (*E. COLI* HLY+) И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА БИФИДОБАКТЕРИИ В АНАЛИЗАХ НА ДИСБАКТЕРИОЗ

Е.В. Потап, Т.М. Кускова, А.А. Кутькина, О.Е. Суравицкая, Н.М. Сивкова, Г.В. Михайлова, О.В. Попова

Филиал ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Ломоносовском районе

Введение. Пищеварительный тракт представляет собой одну из наиболее сложных экосистем. Микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) находится в постоянном динамическом равновесии с разнообразными факторами внешней среды, собственного организма и естественной резистентности.

Микрофлора кишечника является важнейшим звеном в системе защиты организма и сохранения гомеостаза, а также представляет собой высокочувствительную индикаторную систему, которая реагирует количественными и видовыми сдвигами на нарушения этого равновесия.

В толстом отделе кишечника содержится колоссальное количество микробов. В составе микрофлоры кишечника взрослых людей обнаружено более 260 видов микроорганизмов. Основную массу (96–99%) составляют анаэробные бактерии (бифидобактерии, бактероиды). На факультативно-анаэробную микрофлору, к которой относятся кишечная палочка, лактобациллы, энтерококки, приходится около 1–4% всей кишечной микрофлоры.

Бифидобактерии — грамположительные палочки, строгие анаэробы, представители облигатной микрофлоры, присутствующие в кишечнике на протяжении всей жизни здорового человека, с высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным микроорганизмам, препятствуют проникновению микробов в верхние отделы желудочно-кишечного тракта и другие внутренние органы, оказывают выраженное иммуностимулирующее действие на систему местного иммунитета кишечника.

Эшерихии — граммотрицательные подвижные палочки, условно-патогенные микроорганизмы, входящие в семейство *Enterobacteriaceae*. Число кишечных палочек *Escherichia coli* среди других представителей микрофлоры кишечника не превышает 1%, но они играют важнейшую роль в функционировании желудочно-кишечного тракта. Кишечные палочки являются основными конкурентами условно-патогенной микрофлоры в отношении заселения ими кишечника. Кишечные палочки забирают из просвета кишечника кислород, который вреден для полезных для человека бифидо- и лактобактерий. Кишечные палочки вырабатывают ряд необходимых для человека витаминов: В1, В2, В3, В5, В6, В9, В12, К, участвуют в обмене холестерина, билирубина, холина, желчных и жирных кислот, оказывают влияние на всасывание железа и кальция.

Escherichia coli в кишечнике человека появляются в первые дни после рождения и сохраняются на протяжении жизни на уровне 10^6 – 10^8 КОЕ/г содержимого толстой кишки. В фекалиях здорового человека кишечные палочки (типичные) выявляются в количестве 10^7 – 10^8 КОЕ/г, при этом количество лактозонегативных кишечных палочек не должно превышать 10^5 КОЕ/г, а гемолитические кишечные палочки *E. coli* Hly+ должны отсутствовать. Гемолитические палочки способны вырабатывать токсины, действующие на нервную систему, могут вызывать аллергические реакции. Кроме того, они провоцируют стойкие нарушения в пищеварительной системе, которые проявляются в виде запоров, чередующихся с диареей, усилением газообразования в кишечнике. При этом в каловых массах отмечаются примеси зеленоватого оттенка и большое количество слизи. Стоит заметить, что температура тела у человека не повышается или повышается незначительно.

Цель: определить частоту выявления гемолитической кишечной палочки в различных возрастных группах и выявить взаимосвязь между увеличением популяции гемолитической кишечной палочки и снижением численности популяции бифидобактерий.

Материалы и методы. Объектом исследования явилась группа людей разных возрастных категорий с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта (моторной и секреторной), состоящая из 334 человек. Были взяты 3 возрастные группы: дети до 1 года, дети от 1 года до 16 лет, взрослые.

Бактериологическое исследование качественного и количественного состава содержимого кишечника проводили по методикам Р.В. Эпштейн-Литвак и Ф.Л. Вильшанского в модификации Б.А. Ефимова, В.М. Коршунова и др. (1991, 2002).

Для выявления и подсчета бифидобактерий, лактобацилл, эшерихий, стафилококков, грибов рода *Candida*, клостридий использовали селективные питательные среды (тиогликолевую, Эндо, ЖСА, Сабуро, Вильсона–Блера, среда для лактобактерий). Грамположительные анаэробные стрептококки и бифидобактерии изучали бактериоскопическим методом после культивирования на тиогликолевой среде. Для выделения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* использовали пластинчатые среды Левина, Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар, 5% кровяной агар. Все посеы инкубировали в термостате при 37°C в течение 24–48 ч. Через указанные сроки инкубирования проводили подсчет выросших колоний, выделение чистых культур и идентификацию. Для подсчета и выделения *E. coli* Hly+ использовали кровяной агар. Видовую диагностику условно-патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella* проводили классическим методом биохимического тестирования

Результаты. В период 2011–2015 гг. проведено 334 исследований кала на дисбактериоз, из них 220 проб у детей до 16 лет и 114 проб от взрослых. Из общего числа обследованных 24,5% имели гемолизирующую кишечную палочку. У детей *E. coli* Hly+ выделяется чаще, чем у взрослых (26,8% у детей и 20,1% у взрослых), а наиболее высокий процент выделения гемолизирующей кишечной палочки установлен у детей до года (33% у детей до 1 года, у детей от 1 года до 16 лет — 19,6%, от 16 лет и старше — 20,1%).

Помимо этого была прослежена взаимосвязь между увеличением количества гемолизирующей кишечной палочки и уменьшением числа бифидобактерий.

У лиц, у которых не выделялась гемолизирующая кишечная палочка, количество бифидобактерий 10^5 и менее встречалось в 11%.

Если процент выделения *E. coli* Hly+ от общего числа кишечной палочки составлял > 50%, то у 64% обследуемых количество бифидобактерий было 10^5 и менее.

При выделении *E. coli* Hly+ в диапазоне от 10% до 50%, количество бифидобактерий 10^5 и менее составляло 44%.

При выделении *E. coli* Hly+ < 10% количество бифидобактерий 10^5 и менее составляло 18%.

Выводы. В исследованиях на дисбактериоз штаммы гемолитической *E. coli* Hly+ чаще выделяются у детей, чем у взрослых, а наиболее высокий процент выделения гемолизирующей кишечной палочки у детей до года. Выявлена взаимосвязь между увеличением популяции гемолитической кишечной палочки и снижением численности популяции бифидобактерий.

СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ СТРЕПТОКОККОВОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ — МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C И КРЫС ЛИНИИ WISTAR, ПУТЕМ ВНУТРИКОЖНОЙ ИНЪЕКЦИИ

В.Д. Потапов, Т.И. Комбарова, Н.С. Грищенко, Т.И. Рудницкая, Н.В. Кочева, В.В. Кузин

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Целью данной работы явилось создание с последующим исследованием раневой стрептококковой инфекционной модели, вызванной подкожным введением бактерий штамма *Streptococcus pyogenes* Dick-1 мышам и крысам.

В основу работы положены результаты исследований, проводимых на мышах линии BALB/c и крысах линии Wistar. Антибактериальную активность препаратов изучали на модели раневой инфекции, полученной внутрикожным заражением животных штаммом *S. pyogenes* Dick-1 (доза заражения 2×10^8 КОЕ/мышь). Экспериментально показано сохранение обсемененности раны стрептококком до 21 сут. Проникновение этого микроорганизма во внутренние органы животного начинается уже с 3-го дня (легкие), и далее развивается длительная генерализованная инфекция. При данном способе инфицирования значительно снижается риск попадания в рану других микроорганизмов, что является существенным в процессе моделирования. Заражение посредством нанесения культуры на рану или ожог неблагоприятно сказывается на состоянии организма, поскольку раны оказывают дополнительную нагрузку на организм зараженного животного, что влияет на достоверность результатов эксперимента.

В ходе проведенных исследований было установлено, что вес и обсемененность органов животных при заражении культурой *S. pyogenes* Dick-1 являются одним из основных показателей физиологического состояния организма животного. Данные гистологического анализа свидетельствуют о том, что при внутрикожном заражении стрептококком происходит поражение эпидермиса и дермы с генерализацией патологического процесса в паренхиматозных органах (легких, селезенки, печени, почек).

В ходе наблюдений за инфекционным процессом отмечалось значительное снижение обсемененности раневой поверхности у мышей к концу эксперимента, на 21-е сут высевались единичные колонии. Анализ результатов показал, что распространение инфекции у мышей начинается с поражения легких, с 7-х сут происходит генерализация инфекции с проникновением в другие паренхиматозные органы. Смывы с раневой поверхности у крыс, напротив, показали значительную колонизацию кокками. Локализация очага инфекции происходила в легких, состояние других паренхиматозных органов оставалось в пределах нормы.

Таким образом, изучение данной проблемы является актуальным, так как четкое понимание течения воспалительного процесса, вызванного стрептококковой инфекцией у животных, даст возможность разрабатывать более эффективные терапевтические препараты, применяемые при лечении данной инфекции у людей.

АНАЛИЗ УРОВНЕЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *P. AERUGINOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

В.В. Пугач¹, А.А. Ботян¹, Ю.А. Шишпоренок¹,
В.А. Горбунов¹, А.В. Давыдов¹,
Л.П. Титов¹, Е.В. Уткина²

¹ ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

² ГУ Брестский зональный центр гигиены и эпидемиологии, г. Брест, Республика Беларусь

Цель: дать характеристику устойчивости к антибиотикам клинических штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в Республике Беларусь в период с 2007 по 2014 гг.

Материалы и методы. Проанализированы данные программы WHONET об антибиотикорезистентности клинических штаммов *P. aeruginosa* (n = 15 073), выделенных баклабораториями в 2007–2014 гг.

Результаты. Анализ чувствительности штаммов *P. aeruginosa* к основным классам антибиотиков показал, что резистентность *P. aeruginosa* к ампициллину была практически абсолютной (96,8%, n = 3726), в то время как доля резистентных к пиперациллину штаммов составила 63,9% (n = 5292). Установлено, что *P. aeruginosa* характеризовались высокими уровнями резистентности к защищенным пенициллинам [амоксциллин/клавулановая кислота — 92,2% (n = 890), ампициллин/сульбактам — 93,7% (n = 9160)]. Следует отметить, что к комбинации пиперациллин/тазобактам устойчивы около половины [45,1% (n = 7729)] выделенных штаммов. Уровни резистентности *P. aeruginosa* к цефалоспорином варьировала в пределах от 61,5%, n = 10 748 (цефтазидим) до 98%, n = 3809 (цефуросим). Устойчивость к меропенему и имипенему составила 60,5% (n = 7595) и 49,8% (n = 10 517) соответственно. Резистентность *P. aeruginosa* к амикацину, гентамицину и тобрамицину составила, соответственно, 39,9% (n = 13 089), 60% (n = 7592) и 47,1% (n = 3718). Чувствительными к ципрофлоксацину являлись 33,8% (n = 13 054) исследованных штаммов, к левофлоксацину — 28,4% (n = 5458), в то время как к моксифлоксацину — лишь 10,6% (n = 2714). Исследованные штаммы *P. aeruginosa* характеризовались высокими уровнями резистентности к триметоприму/сульфаметоксазолу и хлорамфениколу (94,1% (n = 3671) и 88,4% (n = 750) соответственно). Уровень резистентности *P. aeruginosa* к колистину составил 6,6% (n = 3375).

Выводы. Представленные в базе данных референс-центра мониторинга резистентности микроорганизмов к антибиотикам, антисептикам и дезинфектантам клинические штаммы *P. aeruginosa* характеризуются высокими уровнями резистентности практически ко всем классам антибактериальных препаратов (от 39,9 до 98%). Учитывая высокий эпидемический потенциал *P. aeruginosa*, а также высокую вероятность их распространения водным путем, с целью предотвращения широкого распространения антибиотикорезистентных штаммов *P. aeruginosa* необходимо особое внимание уделять организации противоэпидемических мероприятий, в т. ч. дезинфекции и стерилизации, а также оптимизации алгоритмов антибиотикотерапии синегнойной инфекции.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУЛЬТИ- (MDR), ШИРОКО- (XDR) И ПАНРЕЗИСТЕНТНЫХ (PDR) К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ *K. PNEUMONIAE*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

В.В. Пугач, Ю.А. Шишпоренок, А.А. Ботян,
В.А. Горбунов

ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Цель: дать эпидемиологическую характеристику антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов учреждений здравоохранения Республики Беларусь за 2015–2016 гг.

Материалы и методы. Объект исследования — 122 клинических штамма бактерий вида *K. pneumoniae*. Культуры микроорганизмов были выделены из клинического материала пациентов учреждений здравоохранения Республики Беларусь (42 организации) в 2015–2016 гг. Видовая идентификация микроорганизмов проведена стандартными методами. Чувствительность штаммов *K. pneumoniae* к антибактериальным препаратам определялась диско-диффузионным методом, методом серийных разведений, а также при помощи автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact.

Результаты. Наибольшее количество антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae* было выявлено в Минской (38,5%) и Брестской областях (27%). Наиболее часто устойчивы к антибиотикам штаммы *K. pneumoniae* выделялись от пациентов отделений интенсивной терапии и реанимации (ОИТР) (43,4%), в то время как от пациентов отделений хирургического профиля — в 9,8% случаев. Более 26% полученных штаммов были выделены, в совокупности, от пациентов отделений терапевтического профиля. 6,6% штаммов были выделены от амбулаторных пациентов. Доминирующие локусы выделения — моча (27,9%), кровь (23,8%), мокрота (18%) и отделяемое ран (9%). Более 31% пациентов, от которых были выделены резистентные *K. pneumoniae*, находились на стационарном лечении по поводу общесоматических заболеваний, около 19% — с инфекционной патологией. Из 122 исследованных штаммов около трети (29,5%) являются MDR-, XDR- и PDR-штаммами. При этом 41,7% из них (15 штаммов) панрезистентны (PDR-штаммы). 46,7% PDR-штаммов выделены от пациентов Брестской области.

Выводы. Антибиотикорезистентные штаммы *K. pneumoniae* наиболее часто обуславливают развитие патологических состояний у пациентов ОИТР. Наличие резистентности к широкому спектру антибиотиков у примерно 30% штаммов обуславливает более тяжелое, длительное течение заболевания, а также существенно увеличивает затраты на лечение пациентов. Циркуляция на территории Республики Беларусь PDR-штаммов *K. pneumoniae*, а также распространение резистентных *K. pneumoniae* среди пациентов на амбулаторном лечении является тревожащей тенденцией ввиду высокой вероятности их более широкого распространения среди населения, в т. ч. посредством водного фактора.

ОБНАРУЖЕНИЕ ФАКУЛЬТАТИВНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПРИ ИССЛЕДОВАНИЯХ НА КИШЕЧНЫЙ ДИСБАКТЕРИОЗ

Т.П. Ракитянская, А.Ф. Антипова, В.Н. Варфоломеева, Н.Н. Тюнева, В.С. Антонова, Т.И. Манушина

Филиал ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Волховском районе

Введение. Под дисбактериозом кишечника понимают клинико-лабораторный синдром, связанный с изменением качественного и/или количественного состава микрофлоры кишечника с последующим развитием метаболических и иммунологических нарушений с возможным развитием желудочно-кишечных расстройств.

Вся микрофлора кишечника подразделяется на:

- облигатную (бифидобактерии, лактобактерии, эшерихии, пептострептококки, энтерококки);
- факультативную (условно-патогенная и сапрофитная микрофлора);
- транзиторную (случайная микрофлора).

Ход работы. Бактериологическая лаборатория Филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области в Волховском районе» проводит исследование испражнений на кишечный дисбактериоз классическим бактериологическим методом.

За 2013–2015 гг. были проведены исследования испражнений на кишечный дисбактериоз от 111 человек. Из них 37 — дети до года, 30 — дети старше года и 44 взрослых.

У детей до года обнаружено 54 культуры условно-патогенной микрофлоры в диагностическом титре. Преобладали: *S. aureus* — 18 культур, *K. pneumoniae* — 10 культур, *C. freundii* — 9 культур, клостридии — 9 культур.

У детей старше года обнаружено 20 культур условно-патогенной микрофлоры в диагностическом титре. Преобладали: *S. aureus* — 10 культур, *K. pneumoniae* — 4 культуры, *C. freundii* — 4 культуры.

У взрослых обнаружено 26 культур условно-патогенной микрофлоры в диагностическом титре. Преобладали: *K. pneumoniae* — 7 культур, *C. freundii* — 6 культур, клостридии — 6 культур, *S. aureus* — 5 культур.

Биологическое равновесие нормофлоры легко нарушается факторами экзогенной и эндогенной природы, особенно этому подвержены дети первого года жизни: бактериальный вагиноз и мастит у матери, недоношенность, физиологическая незрелость моторной функции кишечника, анемии, рахит, гипотрофии и другое.

Микробиологическими критериями дисбактериоза кишечника являются:

- нарастание количества условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике при нормальном количестве бифидобактерий;
- нарастание количества условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике при умеренном снижении концентрации бифидобактерий (на 1–2 порядка);
- снижение содержания облигатной микрофлоры кишечника без увеличения количества факультативной микрофлоры.

Результат: на основании лабораторных исследований диагноз «Дисбактериоз кишечника» подтвержден у 62 лиц.

ХАРАКТЕР СИМБИОЗА КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

В.А. Романов, М.Ю. Гульнева, Э.В. Малафеева, Н.В. Семечкин

Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль

Микроорганизмы, формируя микрофлору кишечника, выполняют роль регуляторов гомеостаза и находятся в определенных симбиотических взаимоотношениях друг с другом. Изменение симбиотических взаимоотношений микроорганизмов может сопровождаться нарушением позитивных функций микрофлоры вплоть до ее участия в этиопатогенезе различных патологических состояний.

Цель исследования: изучение симбиотических отношений основных представителей микробиоценоза кишечника у больных ревматическими заболеваниями.

Бактериологическим методом изучен характер микрофлоры толстого кишечника у 135 пациентов с остеоартрозом (ОА), ревматоидным артритом (РА) и у 40 лиц группы сравнения. Определяли количество отдельных представителей микрофлоры кишечника в КОЕ/г испражнений и частоту выделения отдельных видов микроорганизмов. Типологию доминант микробиоценоза определяли на основании показателя встречаемости видов. Для установления структуры симбиотических взаимоотношений микроорганизмов, участвующих в формировании микробиоценоза кишечника, изучен индекс (С) основных представителей, входящих в состав микрофлоры толстого кишечника. В зависимости от полученных значений все виды разделены на постоянные (С > 50), добавочные (> 25 С < 50) и транзитные (С < 25).

Полученные данные свидетельствуют о значительном изменении взаимоотношений симбионтов в микробиоценозе кишечника у ревматических больных. При ОА в составе доминирующих видов обнаруживались не только бифидобактерии, лактобактерии, бактериоиды, лактозопозитивные кишечные палочки, но и стафилококки и кишечные палочки со сниженной ферментативной активностью, индекс постоянства которых также достиг 100. У лиц группы сравнения данные микроорганизмы были отнесены к добавочным и транзитным видам. К доминирующим видам также принадлежали энтерококки и лактозоотрицательные эшерихии, которые имели индекс постоянства более 50. В группу добавочных видов вошли условно-патогенные энтеробактерии, клостридии и стафилококки (в т. ч. золотистый), кишечные палочки с измененными ферментативными свойствами и энтерококки. У лиц группы сравнения данные микроорганизмы относились к добавочным и транзитным видам. При РА в состав доминирующих видов также вошли условно-патогенные энтеробактерии, энтерококки, клостридии, стафилококки, кишечные палочки со сниженной ферментативной активностью. Следует отметить включение в ассоциативный симбиоз при РЗ условно-патогенных энтеробактерий и коагулазоположительных стафилококков, которые определялись в составе доминирующих видов при РА и добавочных при ОА.

Включение в симбиоз условно-патогенных микроорганизмов, имеющих патоген-ассоциирован-

ные молекулярные паттерны, взаимодействующие со специфическими рецепторами (РНК, хеликазы, TLRs, NOD, NALP, СРБ), может сопровождаться изменением иммунных реакций организма больного и влиять на развитие ревматических аутоиммунных заболеваний.

РИККЕТСИИ И РИККЕТСИОЗЫ В РОССИИ И КАЗАХСТАНЕ

Н.В. Рудаков, С.Н. Шпынов, И.Е. Самойленко, Л.В. Кумпан, Т.А. Решетникова, С.А. Рудакова, А.Н. Коломеец, Н.В. Абрамова, С.В. Штрек, Р.А. Егембердиева

Омский НИИ природно-очаговых инфекций
Роспотребнадзора
Федеральный научно-исследовательский центр
эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ,
Москва
Казахский национальный медицинский университет
им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

Из трех подвидов *R. sibirica* в России доказано наличие *R. sibirica* subsp. *sibirica* и *R. sibirica* subsp. *BJ-90*. Переносчики — клещи родов *Dermacentor* и *Haemaphysalis*, очаги сибирского клещевого тифа (СКТ) распространены в Азиатской части России, Казахстане, Монголии, Китае. Получены данные о патогенности *R. sibirica* subsp. *BJ-90*.

Реликтовый характер распространения *H. concinna* определяет ареал этих переносчиков и *R. heilongjiangensis* в виде «пятен» в различных частях зооареала СКТ.

R. conorii subsp. *caspiensis* — агент Астраханской пятнистой лихорадки изучен Тарасевич с соавт. (1991, 2002), генотипирован также в клещах *Rh. pumilio* на смежных территориях России (Калмыкия, Волгоградская область) и Казахстана, выявлены антитела у больных из Западного Казахстана.

Риккетсии, близкие *R. helvetica*, выявлены в Омской области в клещах *I. persulcatus*, Нефедовой с соавт. (2008) у пациентов в Пермском крае с лихорадочным заболеванием после присасывания клещей. Вероятно распространение *R. helvetica*-подобных риккетсий в ареале клещей *I. persulcatus*-комплекса.

Патогенная *R. aeschlimannii* генотипирована в клещах *H. punctata* из Алма-Атинской области Казахстана, в Ставропольском крае в *H. marginatum marginatum*.

R. slovacica — агент синдрома TIBOLA, генотипирована в клещах *D. marginatus* в Европейской части России; штамм изолирован в Курганской области.

R. raoultii — также агент TIBOLA, распространена в клещах рода *Dermacentor*, изолированы штаммы.

Впервые описана Candidatus *R. tarasevichiae*, отнесенная к группе предшественников и выявлена инфицированность клещей *I. persulcatus* этой риккетсией.

R. slovacica, *R. raoultii* и Candidatus *R. tarasevichiae* идентифицированы в снятых с пациентов иксодовых клещах в Омской области.

Разработаны алгоритмы верификации риккетсий и лабораторной диагностики риккетсиозов, новые подходы к дифференциальной диагностике инфекций, передаваемых иксодовыми клещами, их превентивной терапии и профилактике. Необходимы разработка и производство антигенов, иммунных сывороток и тест-систем для лабораторной диагностики риккетсиозов.

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ПРИСТАНИЗАЦИИ НА УРОВЕНЬ АСЦИТООБРАЗОВАНИЯ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ МЫШИНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ *IN VIVO*

Е.В. Савина, И.В. Новицкая

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, г. Волгоград

В производстве диагностических препаратов отмечается тенденция замены поликлонального сырья на моноклональное ввиду высоких аналитических характеристик МКА, их стандартности, стабильности, а также направленности к уникальным антигенным детерминантам.

В процессе получения МКА особое значение имеет их накопление *in vivo* на асцитической жидкости инбредных мышей. Концентрация белка в асцитической жидкости достигает 50–70 мг/мл, в отличие от надосадка при культивировании *in vitro*, при этом питательная среда содержит в качестве примесей не менее 12–15% фетальной сыворотки телят.

В настоящее время ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт выпускает ряд препаратов на основе моноклональных антител для выявления возбудителей сапа и меллиодоза. Культивирование гибридом проводили в среде RPMI-1640 (Biowest) с соответствующими ингредиентами. По мере накопления антителопродуцирующие клетки осаждали (800g 10 мин) и в бесывороточной среде вводили предварительно праймированным мышам BALB/c весом не менее 19–20 г внутрибрюшинно в объеме 1 мл. Для праймирования использовали как пристан (2, 6, 10, 12-тетраметилпентадекан, Sigma, США), так и неполный адьювант Фрейнда, представляющий собой смесь вазелинового масла с ланолином и твином-80 (Sigma, США), оба в дозе 0,5 мл/мышь. Сроки праймирования составляли 3, 5, 7, 10, 12 и 15 сут. Доза введения — 10^6 кл/мышь. Асцитическую жидкость отбирали по мере ее накопления на фоне ухудшения состояния животных (обездвиженности, тахикардии, одышки). Взятие асцитической жидкости было проведено на 9,64±2,35; 13,1±3,36; 13,4±1,55; 14,7±0,68; 17,5±0,91 и 22,7±3,91 сут соответственно. Уровень асцитоза соответствовал 2,8±0,74; 5,2±1,56; 8,9±1,63 7,0±3,58; 3,5±1,97 и 3,4±1,12 мл/мышь. Достоверных отличий этих показателей в зависимости от используемого онкостимулятора отмечено не было.

Таким образом, способ внутрибрюшинного праймирования (пристаном или НАФ) мышей BALB/c за 7 сут до внутрибрюшинного введения клеток мышинных гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к возбудителям особо опасных буркхолдериозов, в наших исследованиях стабильно обеспечивал максимальное получение асцитической жидкости в объеме не менее 7–8 мл через 13–15 сут после введения.

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ПРОБЛЕМУ БАКТЕРИОНОСИТЕЛЬСТВА ПРИ БРЮШНОМ ТИФЕ

В.Б. Сбойчаков, Ю.П. Финогеев

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Феномен бактерионосительства при брюшном тифе известен довольно давно, однако до сих пор механизм этого феномена не выяснен окончательно. Несомненно, что это переходное, динамическое состояние между нормой и патологией. Нельзя расче-

нить бактерионосительство только как норму или только как патологию. Сущность этого феномена — в динамичности процесса с присущими ему временными связями и характеристиками.

Нерешенной проблемой остается и терминологическая путаница в понимании сущности бактерионосительства с общебиологических и клинических позиций. Общебиологическая трактовка данного феномена отражает эволюционный подход к носительству как к проявлению универсально распространенного в мире бактерий явления персистенции. Это предполагает собой многообразие форм проявления носительства патогенных микробов. Согласно же медицинскому представлению, отличительной чертой бактерионосительства является длительное пребывание сальмонелл в организме хозяина, существенно превышающее сроки выделения при острых инфекциях. При этом у внешне здорового человека отсутствуют видимые клинические признаки болезни.

Принципиальной особенностью патогенеза бактерионосительства является то, что возбудитель взаимодействует с макроорганизмом, находясь внутри клетки хозяина. Считается, что в основе скрытых форм инфекции, лежит динамическое равновесие между макро- и микроорганизмом. Это равновесие обеспечивается наличием с обеих сторон соответствующих механизмов защиты противоположного действия. Одним из таких механизмов у бактерий является способность к персистенции, а у макроорганизма — факторы иммунитета.

Равновесие между макро- и микроорганизмом при бактерионосительстве относительно неустойчиво и временно. Оно может сопровождаться периодической манифестацией брюшного тифа — появлением клинических симптомов, протекать бессимптомно без выделения сальмонелл или с постоянным выделением без клинических симптомов (собственно персистентная форма). Динамичность процесса бактерионосительства детерминирована молекулярными, клеточными изменениями макроорганизма. Поэтому отсутствие существенных видимых изменений, присущих тому или иному заболеванию, не означает отсутствие инфекционного процесса. Дело в том, что чувствительность современных аналитических методов не позволяет выявить изменения в организме больного.

В связи с этим особую актуальность приобретает вопрос о скрытых функциональных сдвигах в ходе инфекционного процесса — иммунологических, иммунохимических, биохимических, физиологических, морфологических. Эти показатели могут служить единственным доказательством наличия инфекционного процесса и дополнением к микросимптоматике субклинической инфекции.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСА МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ *HELICOBACTER PYLORI* ИНФЕКЦИИ

А.В. Сварваль, Р.С. Ферман, Н.Г. Рощина
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

С целью оценки значимости различных диагностических методов при разной патологии желудочно-кишечного тракта было проведено комплексное обследование 280 больных с хроническим гастритом

и язвенной болезнью желудка и/или двенадцатиперстной кишки с использованием комплекса методов: бактериологического, молекулярно-биологического и серологического. При культуральном методе исследования выделено 115 штаммов *H. pylori* (у 41% обследованных). Данный микроб выделен от 39,13% больных с хроническим гастритом и 42,86% больных с язвенной болезнью. При этом все эти биоптаты оказались позитивны и в ПЦР-РТ. При исследовании с помощью метода ПЦР-РТ ген *cagA* определен в 81,08% этих культур. При этом доля токсигенности в культурах, выделенных от больных с язвенной болезнью была несколько выше, чем от больных с хроническим гастритом: 86,66 и 83,33% соответственно.

При использовании серологического метода исследования серопозитивными к *H. pylori* оказались 87,14% обследованных, имеющих патологию желудка и двенадцатиперстной кишки, серопозитивными к *CagA H. pylori* среди этих пациентов были 82,86%. Интегративный показатель серопозитивности к *H. pylori* в группе больных с хроническим гастритом практически не отличался от такого же показателя группы больных с язвенной болезнью (87,88 и 84,85%, соответственно). При этом *CagA*-серопозитивность оказалась несколько выше у пациентов с язвенной болезнью (84,85% против 81,82%).

Результаты диагностических тестов выборочного исследования пациентов при гастродуодените, язвенной болезни и ее осложнениях показали, что диагностика *H. pylori* при наличии осложнений язвенной болезни затруднена. Так, если при гастродуодените и неосложненной язвенной болезни *H. pylori* обнаружен в биоптате с помощью прямых методов определения в 8 случаях из 9, то при наличии осложнений — только в 4 из 11. При наличии осложненной обращает на себя внимание наличие в препаратах большого числа кокковых форм *H. pylori*. При осложнениях язвенной болезни наличие *H. pylori* в биоптатах диагностировано в 8 из 11 случаев, а еще в 2 случаях можно говорить о массивном разрушении микроорганизмов, что существенно затрудняет проведение диагностических тестов.

Сведения о значимости различных методов исследования при наличии инфекции, обусловленной *H. pylori*, позволяют выработать оптимальный алгоритм диагностики для обнаружения данного микроба и принятия своевременных мер по его эрадикации.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *VIBRIO FLUVIALIS* — ВОЗБУДИТЕЛЯ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА И МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Л.И. Смирнова¹, Е.Ю. Капустина¹, А.В. Забровская²

¹ Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Vibrio fluvialis — грамтрицательная галофильная бактерия в форме изогнутой палочки с полярно расположенным жгутиком, обитает в соленой воде. Наряду с *V. alginolyticus* и *V. parahaemolyticus*, относится к потенциально патогенным морским микроорганизмам. Вспышки острых кишечных инфекций и внекишечные инфекции, вызванные *V. fluvialis*, регистрируются в развивающихся странах, что связано с плохими санитарно-гигиеническими условиями и нехваткой качественной питьевой воды. Пищевые

токсикоинфекции вследствие загрязнения *V. fluvialis* рыбы и морепродуктов отмечаются во всем мире. *V. fluvialis* признан одним из новых патогенных микроорганизмов пищевого происхождения. Факторы вирулентности этого возбудителя еще недостаточно изучены.

Идентификация *V. fluvialis* осложняется его сходством с энтеробактериями, холерным вибрионом, и с *Aeromonas spp.* В качестве селективной среды используют среду ТСБС — тиосульфат-цитрат-желчный агар с сахарозой и бромтимоловым синим. На нем вибрионы растут, образуя колонии желтого цвета. Обязательными являются тесты по выявлению лизиндекарбоксылазы, орнитиндекарбоксылазы, аргининдигидролазы и L-арабинозы. Для детекции *V. fluvialis* в клинических пробах и пробах из окружающей среды используют молекулярно-генетические методы.

Было проведено бактериологическое исследование 29 проб клинического материала от морских млекопитающих (морж, белухи, дельфины), содержащихся в условиях дельфинария. В 6 пробах (ректальные мазки, мазки с конъюнктивы, кожи и ротовой полости) при учете посева на среде Эндо обнаружили лактозонегативные, оксидазопозитивные мелкие и средние, круглые, блестящие, сизовато-розовые колонии. Среда оставалась светло-розовой. В мазках из этих колоний наблюдали мелкие, нежные, одиночно расположенные прямые и изогнутые палочки. При пересеве на трехсахарный агар Олькеницкого наблюдали образование сероводорода, расщепление мочевины, сбраживание глюкозы при отсутствии сбраживания лактозы и сахарозы.

При использовании для идентификации MALDI-TOF был получен результат: *V. fluvialis*.

Таким образом, сделан вывод о высокой вероятности персистенции условно-патогенных вибрионов *V. fluvialis* в водной среде и организме морских млекопитающих.

ПЦР-ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ДИАРЕЙ В ДЕТСКОМ ИНФЕКЦИОННОМ СТАЦИОНАРЕ

Е.Д. Соколова¹, А.М. Галтаева¹, О.Ю. Замурий¹, О.В. Дидиченко¹, Ю.В. Соколова¹, В.А. Муратова¹, О.Ю. Лигорова¹, И.Н. Журавлева¹, Л.А. Кафтырева^{2,3}

¹ ГБУЗ Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Вирусные диареи у детей регистрируются во всех странах, где налажена адекватная лабораторная диагностика. В Российской Федерации практически в лабораториях доступны современные ОТ-ПЦР-тест-системы для одновременной детекции РНК-маркеров *Rotavirus*, *Norovirus*, *Astrovirus* непосредственно в пробах фекалий. ПЦР-диагностика в настоящее время является самым чувствительным и быстрым методом прямого выявления возбудителей ОКИ в кале. Нами проведен анализ этиологической расшифровки вирусных диарей при использовании ПЦР- и ИФА-диагностики, а также дана оценка значимости результатов метода ПЦР для лечебной практики в детском инфекционном стационаре Санкт-Петербурга. Контингент обследуемых — пациенты ДГКБ № 5 в возрасте от 1 месяца

до 18 лет, поступившие в больницу с симптомами ОКИ в 2012–2014 гг. В сравнительных исследованиях обнаружения ротавируса ПЦР- и ИФА-анализы дали близкие результаты. Различия составляли менее 5% и не были однонаправленными, т. е. не указывали на преимущество в чувствительности одного из этих методов индикации ротавируса. Поэтому представлялось целесообразным использовать мультиплексную ПЦР лишь для дополнительного исследования проб кала, в которых методом ИФА ротавирус не был обнаружен. По указанному алгоритму РНК-маркеры возбудителей вирусных диарей выявили в кале 678 (62%) из 1101 пациента. Большую часть положительных результатов дал ИФА-анализ на ротавирус — 48%. Применение мультиплексной ПЦР для исследования отрицательных в этом тесте проб кала на 4% увеличило количество пациентов с ротавирусной инфекцией, а так же позволило выявить больных с гастроэнтеритом норовирусной (9%) и астровирусной (1%) этиологии. В целом, количество пациентов с установленной этиологией вирусного гастроэнтерита повысилось на 14% (с 48 до 62%), спектр выявленных возбудителей увеличился с 1 до 3.

Применение ИФА и ПЦР-диагностики вирусных гастроэнтеритов для обследования пациентов с установленной бактериальной инфекцией выявило значительное количество вирусно-бактериальных инфекций — 49% (327 из 668). У 35 пациентов из этих же 668 пациентов имела место бактериальная ОКИ смешанной этиологии. Оценка роли отдельных возбудителей в клинике микст-ОКИ требует специального исследования.

ВЫЯВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К МЕРОПЕНЕМУ У ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА

Т.Н. Суборова¹, О.И. Лаушкина¹, Ю.А. Савочкина², С.А. Егорова³, Л.А. Кафтырева^{1,3}

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

³ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Введение. Распространение в стационарах грамотрицательных бактерий (ГОб), продуцирующих карбапенемазы, требует разработки быстрого, доступного и надежного способа диагностики для предотвращения внутрибольничных вспышек инфекций и выбора адекватной антибактериальной терапии.

Цель: выявить ферментативную устойчивость у нечувствительных к меропенему штаммов ГОб, выделенных от пациентов многопрофильного медицинского стационара.

Материалы и методы. Исследовали 55 штаммов ГОб, нечувствительных (устойчивых и промежуточных) к меропенему, выделенных в течение 30 дней из образцов клинического материала пациентов 17 клиник стационара. Чувствительность к меропенему определяли диско-диффузионным методом, отбирали штаммы с диаметром зоны задержки роста менее 27 мм (согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», 2015). Выявление ГОб, продуцирующих карбапенемазы, проводили с помощью фенотипического теста CIM (K. van der Zwaluw et al., 2015) и методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (АмплиСенс, Россия).

Результаты. При повторном определении чувствительности к меропенему было отобрано только 27 нечувствительных штаммов, что указывает на возможную гетерогенность клинических изолятов по чувствительности к карбапенемам. При этом карбапенем-нечувствительные штаммы ГОБ имели широкое распространение в стационаре и были получены от пациентов 10 клиник хирургического и терапевтического профиля. Установлена продукция карбапенемазы у 20 исследованных штаммов. Выявлены штаммы ГОБ, несущие гены карбапенемазы различных типов: *A. baumannii* — карбапенемаза ОХА-23 и ОХА-40, *P. aeruginosa* — металло-β-лактамазы VIM, *E. coli* и *K. pneumoniae* — металло-β-лактамазы NDM. Для штаммов *A. baumannii*, *E. coli* и *K. pneumoniae* показано совпадение результатов фенотипического и молекулярно-генетических тестов.

В период проведения исследования был отмечен случай генерализованного осложнения, связанного с *K. pneumoniae*, продуцирующей карбапенемазу типа NDM, что подчеркивает необходимость создания быстрого и надежного способа диагностики этого вида резистентности.

Выводы. Требуется проведение широкой лабораторной апробации доступных фенотипических тестов, позволяющих выявить ферментативный механизм устойчивости ГОБ к карбапенемам для внедрения в практику работы бактериологических лабораторий, не имеющих возможности проводить молекулярно-генетические исследования клинических изолятов со сниженной чувствительностью к карбапенемам.

ДЕТИ РАННЕГО ВОЗРАСТА С ДИСБИОЗОМ КИШЕЧНИКА КАК НОСИТЕЛИ ДИАРЕЕГЕННЫХ *E. COLI* В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Л.В. Сужаева, М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

Энтероагрегативные *E. coli* (EAggEC) как возбудители длительно протекающей персистирующей диареи у детей раннего возраста, признаны новой группой диареогенных эшерихий. Штаммы EAggEC характеризуются гетерогенностью по биологическим свойствам (антигенной, ферментативной характеристике, набору факторов вирулентности и чувствительности к антибиотикам и др.). Классическими бактериологическими методами невозможно провести антигенную детекцию из-за отсутствия необходимого отечественного набора сывроток для типирования О- и Н-антигенов. В России разработаны тест-системы для ПЦР-диагностики этих возбудителей, но в рутинной практике их идентификацию, как правило, не проводят.

Цель исследования заключалась в изучении распространенности EAggEC среди детей с дисбиозом кишечника. Методом РТ-ПЦР с использованием отечественных тест-систем были изучены факторы вирулентности у 511 штаммов *E. coli* при исследовании проб фекалий 393 детей. Идентифицированы 23 штамма EAggEC (6,6%). Штаммы не типировались отечественным набором О-сывроток, имели отличия по ферментации лактозы и сахарозы, подвижности и гемолитической активности. Более 90% характеризовались фенотипическими свойствами, типичными для нормальной микрофлоры кишеч-

ника. Детальное изучение штаммов EAggEC проводилось методом ПЦР с электрофоретической детекцией с универсальными праймерами. Все штаммы содержали основной ген EAggEC, который кодирует агрегативно-адгезивные фимбрии (ген *aaf*) и пять других генов в различных комбинациях, которые кодируют факторы патогенности: регулятор транскрипции (*aggR*), Рет-токсин (*pet*), термостабильный энтероагрегативный токсин 1 (*ast*), белок дисперзин (*aap*), а также ген *aatA* (кодирующий эффлюкс белков). Термостабильный энтеротоксин (EAST-1) продуцировали шесть штаммов. 20 штаммов (87%) характеризовались множественной устойчивостью к АМП: цефалоспорином (за счет продукции БЛРС генетического семейства СТХ-М и продукции AmpC — цефалоспориныазы), ко-тримоксазолу, левомицетину, тетрациклину и налидиксовой кислоте, но сохраняли чувствительность к меропенему, фторхинолонам и амикацину.

EAggEC как возбудители диарейных заболеваний являются новой, малоизученной группой диареогенных эшерихий, вызывающих упорные затяжные диареи у детей раннего возраста. По нашим данным у 7% детей раннего возраста при дисбиозах кишечника выделяются EAggEC. Штаммы характеризуются устойчивостью к АМП. Такие дети не попадают в поле зрения инфекционистов, не получают адекватной терапии, а эпидемиологи не проводят профилактические мероприятия по ограничению циркуляции данных возбудителей. В России выделение, идентификация и официальная регистрация этих возбудителей, как правило, не проводится. EAggEC необходимо включать в перечень возбудителей ОКИ у детей, подлежащих выявлению.

ESCHERICHIA COLI С ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ У ДЕТЕЙ С ДИСБИОЗАМИ КИШЕЧНИКА

Л.В. Сужаева, М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

Некоторые штаммы *E. coli* обладают гемолитической активностью, которая в лабораторных условиях выявляется наличием зоны гемолиза вокруг колонии на кровяном агаре. Известно, что *E. coli* с гемолитическими свойствами, могут вызывать инфекции внекишечной локализации. По отраслевому стандарту (91500.11.0004-2003) такие штаммы не должны присутствовать в микрофлоре толстого кишечника человека.

Цель: изучить распространенность гемолитических *E. coli* в микрофлоре кишечника детей с дисбиозом, провести детекцию генетических детерминант вирулентности, дать оценку чувствительности к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы. Исследованы 511 штаммов *E. coli*, выделенные из испражнений детей в возрасте от 1 месяца до 15 лет. Методом ПЦР-РВ определены гены кодирующие пили различных типов, являющиеся факторами вирулентности *E. coli* — возбудителей внекишечных заболеваний.

Результаты. Гемолитическая активность выявлена у 30,7% изученных штаммов. По биологическим свойствам 60,5% из них относились к типичным, ферментативно «активным» (лактозаположитель-

ным, подвижным) *E. coli*; 5,1% относились к «неактивным» *E. coli* (лактозанегативным, неподвижным). У 83,4% штаммов обнаружены гены вирулентности, характерные для уропатогенных эшерихий: *pap*-ген — 67,5%, *sfa* — 49,1%, *afa* — 2,5% штаммов, которые встречались как среди ферментативно «активных» так и «неактивных». Один из перечисленных генов содержали 47,7% штаммов, два гена встречались у 35,7% изолятов. Не было найдено ни одного штамма, у которого одновременно были обнаружены все три гена. Преобладающее большинство штаммов характеризовалось чувствительностью к антибактериальным препаратам: гентамицину, левомицетину, котримоксазолу, налидиксовой кислоте и ципрофлоксацину, бета-лактамам (цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму). Тем не менее, 12,7% штаммов обладали резистентностью к цефалоспорином 3–4 поколения за счет продукции БЛРС генетического семейства CTX-M, 20% из которых были резистентны и к фторхинолонам.

Заключение. Штаммы *E. coli* с гемолитическими свойствами часто встречались у детей с дисбиозами кишечника. Наличие у таких штаммов пилей различных типов может способствовать их внекишечному распространению, увеличивая риск возникновения инфекций мочевыводящих путей, а резистентность к основным препаратам выбора может создавать трудности при выборе адекватной терапии.

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОЧВЕННЫХ ОЧАГОВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ В РЕСПУБЛИКЕ БУРЯТИЯ

В.Е. Такайшвили¹, З.Ф. Дугаржапова¹, Е.В. Кравец¹, Н.Б. Бадмаев², Б.З. Цыдыпов³, О.Н. Очиров⁴, М.В. Чеснокова¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск

² ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Улан-Удэ

³ ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук, г. Улан-Удэ

⁴ ФГБУН Институт физического материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук, г. Улан-Удэ

Республика Бурятия относится к зоне высокого риска заражения сельскохозяйственных животных (СХЖ) и человека сибиреязвенной инфекцией и территориям сибирского региона с выраженным эпизоотолого-эпидемиологическим неблагополучием по сибирской язве. В соответствии с Кадастром СНП РФ (2005 г.) в Республике учтены 369 стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (СНП), из них 10 (2,7%) — в Баргузинском и 17 (4,6%) — в Курумканском районах. В перечне скотомогильников (в т. ч. сибиреязвенных) Министерства сельского хозяйства РФ (2012) указаны 19 сибиреязвенных скотомогильников (СМ) в Баргузинском (10) и Курумканском (9) районах. Данных о точном местоположении других скотомогильников (захоронений) нет.

Цель работы — выявление почвенных очагов сибирской язвы с использованием современных методов исследований для обоснования профилактических мероприятий.

Для выявления местоположения сибиреязвенных захоронений (СЯЗ) и заброшенных СМ нами разработан и предложен новый подход, основанный на анализе космических снимков с применением пространственных и ландшафтных признаков для их распознавания. Обнаружены четыре неучтенных объекта, состояние которых, на момент обследования, не соответствовало нормативным требованиям ВСП № 13-7-2/469.

Отобраны и исследованы 174 пробы почвы и шесть проб костных останков СХЖ. Бактериологическим методом в семи пробах обнаружены подозрительные культуры, наличие *Bacillus anthracis* не подтверждено. В четырех (1,5%) пробах (три почвы и один костный фрагмент СХЖ) двух очагов мест эпизоотии 2008 г. и двух вновь выявленных объектов обнаружена ДНК внехромосомных элементов *B. anthracis*. Наличие ДНК возбудителя сибирской язвы в объектах окружающей среды неблагополучных территорий свидетельствует о возможности длительного сохранения сибиреязвенного микроба и является индикатором потенциальной биологической опасности заброшенных объектов. Отсутствие токсичности, оптимальный уровень кислотности проб почв и преобладание в них средних и низких питательных свойств по отношению к сибиреязвенному микробу показывает, что почва обих районов благоприятна для выживания и сохранения *B. anthracis*. Результаты обследования 15 объектов в 12 СНП Курумканского и Баргузинского районов показали, что основными резервуарами возбудителя сибирской язвы в окружающей среде остаются места сброса биологических отходов и СЯЗ.

Работа проведена в рамках проекта UNOPS (RPO_GPSO_2014-071 (IWC-78317), финансируемого ГЭФ.

ИЗУЧЕНИЕ ПРИЧИН РАЗЛИЧНОЙ СПОСОБНОСТИ К СБРАЖИВАНИЮ САХАРОЗЫ У ПАТОГЕННЫХ И НЕПАТОГЕННЫХ ФРАНЦИСЕЛЛ

В.С. Тимофеев, И.В. Бахтеева, Г.М. Титарева, А.Н. Мокриевич, И.А. Дятлов

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область

Способность к сбраживанию сахарозы является одним из признаков, используемым для подвидовой дифференциации *Francisella tularensis*, так как она выявлена только у *F. tularensis* subsp. *novicida* и отсутствует у подвидов *tularensis*, *holarctica* и *mediasiatica*. Кроме того, сахарозу способны сбраживать представители вида *F. philomiragia* и некоторые штаммы, относящиеся к роду *Francisella*, систематическое положение которых не уточнено. В данной работе мы рассматриваем причины разной способности подвидов *F. tularensis* к сбраживанию сахарозы.

Начальным этапом катаболизма сахарозы является ее гидролиз, осуществляемый инвертазами (β-фруктофуранозидазами) до моносахаров. При анализе аннотированных геномов мы обнаружили гены инвертазы у всех штаммов *F. tularensis*. Анализ их последовательностей выявил ряд видовых, подвидовых и штаммовых различий, наиболее важным из которых является делеция 5'-области гена у всех не сбраживающих сахарозу штаммов, которая приводит к утрате N-концевой области фермента, инактивируя его. Кроме этого, обращает на себя внимание различная локализация гена инвертазы в геноме сбраживающих и не сбраживающих сахарозу штаммов.

В 5'-направлении от гена инвертазы у *F. tularensis* subsp. *novicida* и у *F. philomiragia* расположен кластер генов метаболизма 3-изопропилмалата. Аналогичный кластер также выявлен в геноме штаммов голарктического подвида, но на значительном расстоянии от гена инвертазы — около 130 т.п.о. Более того, рядом с этими кластерами обнаружены области, аналогичные 5'-концевым областям гена β -фруктофуранозидгидролазы, а также межгенный участок с предположительно находящимся в нем промотором данного гена, идентичный таковому штамма U112. Эти участки в 3'-области фланкированы мобильным генетическим элементом IS Ftul1-элементами. Такими же элементами у всех неферментирующих сахарозу штаммов фланкирован делетированный ген инвертазы. По всей видимости ген инвертазы у *F. tularensis* subsp. *holarctica* был инактивирован в результате транспозиционно-переноса большей части его последовательности мобильным генетическим элементом IS Ftul1. У штаммов неарктического и среднеазиатского подвидов кластеры генов метаболизма изопропилмалата не обнаружены, что может свидетельствовать о более позднем происхождении этих подвидов от общего предка по сравнению с голарктическим подвидом. Выявленные различия в гене инвертазы могут быть использованы для дифференциации непатогенных франциссел (*F. tularensis* subsp. *novicida* и *F. philomiragia*) методом ПЦР.

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НА ТЕРРИТОРИИ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Е.В. Толщина, Л.В. Лялина, Н.К. Токаревич

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии

имени Пастера, Санкт-Петербург

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области, г. Вологда

Эффективная система эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями и их профилактика базируется на результатах качественной лабораторной диагностики. Анализ данных государственной регистрации лабораторно подтвержденных случаев природно-очаговых инфекций на территории Северо-Западного федерального округа и Вологодской области показал, что в 2015 г. первое ранговое место занимал клещевой боррелиоз, показатели заболеваемости составили 8,05 и 30,95 на 100 тыс. населения соответственно. Из числа территорий округа в Вологодской области отмечался наиболее высокий уровень заболеваемости этой инфекцией.

Второе и третье места по уровню заболеваемости в Вологодской области занимали вирусные природно-очаговые инфекции: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом и клещевой вирусный энцефалит. Заболеваемость населения геморрагической лихорадкой с почечным синдромом на территории области также была существенно выше (7,72 на 100 тыс.) по сравнению с округом в целом (1,88 на 100 тыс.) и другими территориями региона ($p < 0,05$). Уровень заболеваемости сельского населения Вологодской области достиг 10,09 на 100 тыс., выявлено 2 случая заболевания среди подростков 15–17 лет, летальных исходов не было зарегистрировано.

Показатели заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в Северо-Западном федеральном округе и Вологодской области в 2015 г. составили 2,35 и 7,55 на 100 тыс соответственно. Диагностировано 8 случаев заболевания детей в возрасте от 1 года до 14 лет. Имели место два летальных исхода этой инфекции.

Актуальной для области является проблема риккетсиозов. Из 32 случаев, зарегистрированных на территории Северо-Западного федерального округа, 26 (81,3%) выявлены в Вологодской области и 6 случаев (18,7%) в Новгородской области. Заболеваемость лептоспирозом в Вологодской области по итогам 2015 г. также оказалась самой высокой в регионе (1,09 на 100 тыс.), все случаи выявлены среди взрослых, летальных исходов не было.

В Вологодской области осуществляется лабораторная диагностика гранулоцитарного анаплазмоза человека. В 2015 г. зарегистрирован 21 случай заболевания, показатель заболеваемости составил 1,76 на 100 тыс. населения. Больные были выявлены среди взрослых, в т. ч. 3 случая — среди сельских жителей.

В 2015 г. в Вологодской области зарегистрировано 5 случаев моноцитарного эрлихиоза человека, показатель заболеваемости — 0,42 на 100 тыс. населения, в т. ч. 3 случая выявлено у сельских жителей и 1 случай среди детей.

Результаты исследования показали актуальность природно-очаговых инфекций для Вологодской области. Регистрируется широкий спектр заболеваний населения, обусловленных боррелиями, вирусами, риккетсиями, спирохетами, анаплазмами, эрлихиями. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости совершенствования вакцинации по эпидемическим показаниям и других мер профилактики природно-очаговых инфекций, в отношении которых имеется многолетний опыт работы, а также развития системы эпидемиологического надзора за гранулоцитарным анаплазмозом и моноцитарным эрлихиозом человека.

ОСОБЕННОСТИ ЛИСТЕРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В ВОЛОГОДСКОМ РЕГИОНЕ

М.С. Трошкова, Е.А. Алексеева

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области, г. Вологда

На протяжении последних пяти лет на территории Вологодской области количество ежегодных исследований пищевых продуктов на наличие листерий увеличилось с 1872 до 2877. Также возросла высеваемость патогенных листерий (с 0,5 до 1,6%), что значительно превышает соответствующие показатели в других городах Северо-Западного региона РФ. Чаще всего *Listeria monocytogenes* выделяли из мяса и охлажденных или замороженных мясных полуфабрикатов, реже — из мяса птицы, охлажденных или замороженных куриных полуфабрикатов. В 2014 и 2015 гг. листерии находили в рыбе и рыбных пресервах, замороженных овощах и салатах, сырье для молочных производств, мороженом. Основная масса этих видов продукции представлена продуктами, готовыми к употреблению и не требующими термической обработки, что вызывает особую настороженность в отношении безопасности пищевых продуктов.

Наряду с патогенными культурами листерий из пищевых продуктов выделяли и непатогенные

листерии: *Listeria innocua*, *Listeria ivanovi*, *Listeria welshmeri*. Увеличение циркуляции непатогенных листерий в пищевых продуктах свидетельствует об ухудшении качества пищевой продукции и увеличивает вероятность обнаружения в этих объектах *L. monocytogenes*, что подтверждается неоднократными случаями обнаружения в одной пробе пищевого продукта как патогенных, так и непатогенных листерий.

Наибольшее количество находок как патогенных, так и непатогенных листерий, представлено в лаборатории областного центра, где также отмечается наибольшее разнообразие видов пищевой продукции, в которой обнаруживаются листерии. Данный факт подтверждает высокий уровень квалификации специалистов, работающих в учреждении, оснащенность лаборатории необходимыми средами и тест-системами для выращивания и идентификации листерий, а также наличие жестко действующей на территории областного центра системы санитарного надзора.

С 2014 г. в лабораториях крупных городов Вологодской области (Вологда и Череповец) проводится исследование смывов на листерии, взятых на мясоперерабатывающих предприятиях. При исследовании 253 смывов выделено 18 культур *L. innocua* и 1 культура *L. welshmeri*.

Циркуляцию листерий в природных очагах, наличие их в организме диких лесных животных подтверждают находки патогенных и непатогенных листерий, выделенных в 100% случаев экспериментов по исследованию мяса и внутренних органов кабанов и лосей, добытых на территории Вологодского района. Данные факты требуют дальнейшего изучения причин широкой циркуляции листерий в Вологде и Вологодской области.

АНАЛИЗ ДАННЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА В ДЕТСКОМ СТАЦИОНАРЕ Г. БРЕСТА

Е.В. Уткина¹, В.А. Горбунов², Ю.А. Шишпоренок², В.В. Пугач²

¹ ГУ Брестский зональный центр гигиены и эпидемиологии, г. Брест, Республика Беларусь

² ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Цель: провести анализ данных, полученных в результате мониторинга резистентности к антибиотикам и дезинфицирующим препаратам микроорганизмов, циркулирующих в детском стационаре.

Материалы и методы. Исследовано 277 штаммов, выделенных от пациентов детского стационара г. Бреста. Выделение, идентификацию, определение чувствительности к антимикробным средствам проводили с помощью стандартных методик.

Результаты. В структуре микробного пейзажа УЗ «Брестская областная детская больница» в 2014–2015 гг. доминировали *S. epidermidis* (28%), *E. coli* (10%), *P. aeruginosa* (9%), *K. pneumoniae* и *A. baumannii* (8%). В уровнях устойчивости исследованных штаммов *P. aeruginosa* к антимикробным препаратам в анализируемый период наблюдалась выраженная динамика. Так, в 2014 г. 60,1% исследованных штаммов были устойчивы к имипенему, 30,1% — к гентамицину, а в 2015 г. устойчивы к имипенему были 48,6%, к гентамицину — 61,9%, а к ципрофлоксацину — 13,2% исследованных штаммов. Уровни устойчи-

вости *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам в исследуемый период также варьировали: в 2014 г. 63,6% исследованных штаммов были устойчивы к гентамицину, 12% — к имипенему, а в 2015 г. устойчивы к ампициллину были 48%, к гентамицину — 65,2%, к имипенему — 23,2%, к ципрофлоксацину — 11,3% исследованных штаммов.

У 26 полирезистентных к антибиотикам штаммов микроорганизмов была исследована их резистентность к дезинфицирующим препаратам. В результате исследования было установлено, что 7,6% исследованных штаммов устойчивы к действию дезинфектантов на основе бензалкония хлорида и гуанидина (режимы применения 0,1% 120 мин и 0,25% 60 мин соответственно).

Выводы. В результате проведенных исследований было установлено, что уровни резистентности к антибактериальным препаратам (АБП) в популяциях микроорганизмов, доминирующих в общей структуре госпитальной микрофлоры УЗ «Брестская областная детская больница», достаточно высоки и варьируют в широких пределах как качественно, так и количественно. Особенно тревожащим обстоятельством являются достаточно высокие уровни резистентности к карбапенемам с тенденцией к росту в определенных популяциях микроорганизмов. Для эффективной организации и проведения комплекса профилактических и противоэпидемических мероприятий необходимо продолжение исследований по изучению механизмов формирования резистентности к АБП и методов их идентификации.

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ КЛЕЩЕЙ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ИНФЕКЦИОННОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА И ЛИХОРАДКИ КУ НА ТЕРРИТОРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

О.А. Фрейлихман¹, Ю.А. Панферова¹, Т.В. Сайнес¹, А.О. Шапарь², Н.К. Токаревич^{1,3}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

В связи с существенными изменениями биотических и абиотических компонентов ландшафтов, происходящих в настоящее время в определенной мере под антропогенным воздействием, роль мониторинга возбудителей природно-очаговых инфекций возрастает. Особенно важны такие исследования в периферийных районах мегаполиса, заселенных в летний период значительным количеством горожан. Результаты мониторинга должны учитываться для разработки научно-обоснованных планов мероприятий по контролю за этими инфекциями.

Целью работы явилось определение инфицированности клещей, собранных в Санкт-Петербурге, возбудителем лихорадки Ку — *Coxiella burnetii*, и возбудителями иксодовых клещевых боррелиозов — бактериями группы *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

С мая по сентябрь 2015–2016 гг. были проведены сборы половозрелых иксодовых клещей видов *I. ricinus* и *I. persulcatus* с растительности на флаг на территории Курортного и Приморского районов Санкт-Петербурга. Клещи были проанализированы

с помощью метода ПЦР в режиме реального времени на наличие ДНК возбудителей *Borrelia burgdorferi s.l.* и *C. burnetii* на основе амплификации фрагментов генов *16S rRNA* и *Hbb* при детекции *Borrelia burgdorferi s.l.* и генов *Hig A* и *icd* при детекции *C. burnetii*.

На наличие ДНК *Borrelia burgdorferi s.l.* было исследовано 382 клеща, ДНК детектирована в 53 клещах (13,87%). На наличие ДНК *C. burnetii* исследовано 110 клещей, ДНК возбудителя детектирована в 7 клещах (6,36%).

Данные, характеризующие инфицированность клещей возбудителями ИКБ, в целом соответствуют средним показателям инфицированности, установленным в ходе проводимого ранее мониторинга этой инфекции на территории Санкт-Петербурга. Результаты же выявления *C. burnetii*, напротив, являются неожиданными и позволяют предположить большую роль иксодовых клещей как важного фактора циркуляции и поддержания уровня возбудителя в очагах, чем представлялось ранее. Определенную роль в получении данных результатов может играть увеличение чувствительности методов выявления возбудителей инфекций, передающихся клещами.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ, В РЕСПУБЛИКЕ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ – АЛАНИЯ

Н.Р. Хабалова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в РСО – Алания, г. Владикавказ

Ежегодно в Республике Северная Осетия – Алания инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) регистрируются в виде гнойно-септических инфекций (ГСИ), вирусных гепатитов, сальмонеллез, других острых кишечных и прочих инфекционных заболеваний. Заболеваемость в отделениях хирургии и ОРИТ составила 31,5% от всех ИСМП и 36,4% от числа ИСМП, регистрируемых в учреждениях стационарного типа. Наблюдается тенденция к повышению заболеваемости ИСМП. Послеоперационные и постинъекционные инфекции составили 52,8 и 20,4% соответственно от числа ГСИ; внутрибольничные пневмонии, инфицирования трахеостомических отверстий и верхних дыхательных путей (ВДП) – 17,5%; инфекции мочевыводящих путей – 9,3%.

В ОРИТ из проб биоматериала пациентов достоверно чаще выделяли *P. aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. и бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. В хирургии частота выделения *Staphylococcus* spp. и *Enterobacteriaceae* была выше, а *P. aeruginosa* – в 3,5 раза ниже, чем в ОРИТ. Из отделяемого ВДП чаще выделяли *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *E. coli*, из ран – *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *Enterococcus* spp. и *K. pneumoniae*, из проб крови – коагулазоотрицательные стафилококки (КОС), *P. aeruginosa*, энтеробактерии и *S. aureus*, из мочи – *E. coli*, *Enterococcus* spp., КОС, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis*. 55,1% штаммов *P. aeruginosa* сохраняли чувствительность ко всем тестируемым АМП; штаммы устойчивые к I и более АМП – 44,9%, в т. ч. и к карбапенемам. Резистентность к карбапенемам была обусловлена не продукцией карбапенемаз, так как фенотипические и молекулярно-генетические

методы не подтвердили продукцию карбапенемаз. Не был выявлен синергизм с ингибиторами карбапенемаз в тестах Rosco Diagnostica. ПЦР в режиме реального времени не выявила гены карбапенемаз.

Лишь 6,5% штаммов *Staphylococcus* spp. были чувствительны ко всем тестируемым препаратам, включая бензилпенициллин, остальные 93,5% характеризовались устойчивостью к I и более АМП. 15,0% изученных штаммов *Staphylococcus* spp. относились к группе метициллинрезистентных, из них 2,5% штаммов принадлежали к *S. aureus*.

Среди штаммов *Enterobacteriaceae* чувствительными ко всем АМП были 28,6%, устойчивыми к I и более АМП – 71,4%. Устойчивость к цефалоспорином 3–4 поколения за счет продукции БЛРС выявлена у 17,6% штаммов *E. coli* и 54,5% штаммов *K. pneumoniae*. Молекулярно-генетические исследования показали, что штаммы *E. coli*, устойчивые к ампициллину, продуцируют бета-лактамазу широкого спектра TEM-1. Устойчивость к цефалоспорином 3–4 поколения у штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* была обусловлена продукцией БЛРС генетической группы СТХ-M-1.

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ГРИБОВ-МИКРОМИЦЕТОВ В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ ОБЩЕСТВЕННЫХ ЗДАНИЙ, ОБОРУДОВАННЫХ СИСТЕМАМИ КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ВОЗДУХА

Е.В. Халдеева, С.А. Лисовская, Н.И. Глушко, В.Р. Паршаков, А.А. Баязитова

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань

Санитарно-гигиеническое состояние социальных объектов оказывает большое влияние на состояние здоровья людей, пребывающих в этих зданиях длительное время. Особое значение при этом имеет качество воздушной среды. Контаминация воздуха жилых и общественных зданий спорами и летучими метаболитами грибов является одним из факторов риска развития инфекционных и аллергических заболеваний человека. Активное применение систем кондиционирования воздуха может являться причиной распространения грибов, способствуя нагнетанию спор в помещении.

Цель работы: оценка микробной обсемененности воздушной среды и устройств, обеспечивающих кондиционирование воздуха.

Материалы и методы. Проведено исследование воздушной среды и смывов с поверхности устройств для кондиционирования воздуха на 10 объектах (два ВУЗа, детский сад, концертный зал, дом ветеранов, консерватория, центр досуга, две мечети и собор). Все обследованные объекты находились в рабочем состоянии, имели системы кондиционирования воздуха, которые обслуживались в соответствии с нормативной документацией. Отбор проб воздуха проводили седиментационным и аспирационным методом.

Результаты. Установлено, что при общем благополучном состоянии этих объектов, в воздухе помещений чаще всего присутствуют грибы родов *Penicillium*, *Fusarium* spp., *Alternaria* в количестве не превышающем 500 КОЕ/м³. Реже отмечали присутствие *Aspergillus* spp., *Stemphyllium* spp., *Trichosporon* spp. В то же время отмечено, что в воздухе помещений, оборудованных кондиционерами, представители родов *Aspergillus* и *Alternaria* встречались чаще, чем в помещениях с естественной вентиляцией.

Обследование решеток кондиционеров выявило разнообразные виды грибов и бактерий, в основном, соответствующие составу облигатной микробиоты, в количестве до 10^4 КОЕ/дм². При этом частота встречаемости таких видов как *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata* на поверхности решеток кондиционеров была значительно выше, чем на стенах и откосах окон в тех же помещениях. Вероятно, это обусловлено выпадением конденсата вследствие пониженной температуры воздуха, что создает благоприятные условия для развития темноокрашенных видов грибов, обладающих аллергенными и патогенными свойствами.

Заключение. Использование кондиционирующих установок в общественных зданиях может способствовать усилению микогенной контаминации воздуха, в связи с чем в регламент обслуживания целесообразно включить регулярное проведение противогрибковой обработки.

ЛИСТЕРИОЗ: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

М.В. Храмов¹, Ю.Г. Костенко², Ю.К. Юшина², Д.С. Батаева²

¹ ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболensk, Московская область

² ФГБНУ Всероссийский НИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхознадзора, Москва

Классический листериоз известен с начала XX в., как зооантропоноз — инфекционная болезнь животных и человека, протекающая с признаками поражения центральной нервной системы (менингоэнцефалиты), половых органов (аборты, метриты), септицемии или в форме латентного носительства. В 80-х гг. XX в. во многих западных странах начали возникать эпидемические вспышки листериоза пищевого происхождения, связанного с употреблением в пищу молочной и мясной продукции, с тяжелым клиническим течением и летальностью до 24–40%. В связи с этим ВОЗ принял строгие контрольные меры по борьбе с этой опасной инфекцией, введя методы контроля и диагностики *Listeria monocytogenes* по стандарту ISO. Министерство здравоохранения РФ, Роспотребнадзор и Россельхознадзор также ввели критерии безопасности пищевых продуктов в СанПиН 2.3.2.1078-01, а диагностика регламентирована МУ 4.2.1122-02 и ГОСТ 32031-2014 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *L. monocytogenes*», разработаны СП 3.1.7.2817-10 «Профилактика листериоза у людей».

Использование классических микробиологических методов исследования пищевой продукции на определение *L. monocytogenes* — длительный по времени процесс, включающий стадии обогащения, посев на плотные дифференциально-диагностические среды и идентификацию бактерий до вида. В последнее время нашли свое место в диагностике ускоренные методы выявления *L. monocytogenes* (ГОСТ Р 54354-2011 «Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа»). При использовании хромогенных сред типа ALOA и Rapid L.mono можно отличить рост *L. monocytogenes* от других видов методом первичного посева. Использование современных приборов типа Vidas, Vitek, BacTrac, Rabbit, MALDI-TOF Biotyper, Vyolog, MicroSeg, методов ИХА и real-time ПЦР резко сократили время анализа

Проведенные за последние годы исследования показали наличие *L. monocytogenes* в 33% исследованных полуфабрикатов из говядины, а из свинины — в 27%. В фаршах из говядины и свинины уровень контаминации бактериями *L. monocytogenes* составил более 30%, а поверхность туш КРС после съемки шкур контаминирована на 20%. Другими видами рода *Listeria* туши КРС контаминированы от 20 до 80%, а свиные туши контаминированы на 100%. Частота обнаружения бактерий рода *Listeria* свидетельствует об интенсивной циркуляции возбудителя листериоза на мясоперерабатывающих предприятиях. Полученные данные позволяют сделать вывод о прогрессе в диагностике листериоза, а не об ухудшении эпидемиологической обстановки по данному возбудителю.

ПОЛНОРАЗМЕРНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОГО ТОКСИГЕННОГО ШТАММА *CORYNEBACTERIUM DIPHThERIAE*

И.А. Чагина¹, А.В. Чаплин², А.Н. Шкопоров², О.Ю. Борисова^{1,2}, Б.А. Ефимов², Л.И. Кафарская², В.А. Алешкин¹

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

² ГОУ ВПО Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Пирогова МЗ РФ, Москва

С целью изучения особенностей структуры ДНК проведено полноразмерное секвенирование генома токсигенного штамма *C. diphtheriae* 17801 биовара *gravis*, резистентного к пенициллину, ампициллину, эритромицину, азитромицину, линкомицину и клиндамицину.

Секвенирование генома штамма *C. diphtheriae* производилось на платформе 454 GS Junior, сборка осуществлялась при помощи программного обеспечения Newbler v. 2.7. В результате сборки получено 36 контигов размером от 780 до 840 954 п.н. Суммарная длина полученной геномной последовательности составила 2 492 191 п.н., среднее покрытие прочтениями равно 31x. GC-состав был равен 53,5%, что соответствует данным о других представителях вида *C. diphtheriae* (53,3–53,7% в штаммах, представленных в NCBI Genome). Общее число генов составило 2321, также алгоритмом аннотации обнаружено 42 псевдогена. Полногеномное выравнивание последовательности генома *C. diphtheriae* 17801 с финализированными геномами 13 штаммов *C. diphtheriae* из GenBank/NCBI при помощи программного обеспечения progressiveMauve показало их полную синтетичность и очень высокий уровень гомологии между собой. Проведенный анализ отсеквенированного генома *C. diphtheriae* 17801 показал, что контиг 18 (Genbank: JZUJ01000018) содержит гены, предполагающие плазмидное происхождение данного региона. Были подобраны праймеры на концы данного контига (последовательности CCTGATGGTTCGAGCTGTT и GCTGTCCGTGATCGATAC), направленные наружу. С них был получен ПЦР-продукт длиной 2,1 kb, который был просеквенирован методом primer walking. Полученные данные свидетельствовали о том, что исследуемый участок ДНК является кольцевым эписомальным элементом, содержащим ген резистентности к макролидным антибиотикам — *erm(X)*. Кроме того, полученные данные позволили подтвердить, что молекулярный механизм резистентности *C. diphtheriae* к сульфаниламидным препаратам, также как и у других микроорганизмов, об-

условлен наличием в геноме добавочного локуса, кодирующего фермент дегидроптероатсинтазу. Также среди контигов был обнаружен дополнительный локус *pVp*, кодирующий пенициллинсвязывающий белок *pVp*, по аналогии с механизмом резистентности к пенициллинам, описанным для MRSA. Вместе с тем, проведение ПЦР со специфическими праймерами на локус *pVp* показало отсутствие данного фрагмента у других резистентных к пенициллину штаммов *C. diphtheriae*. Драфтовый геном мультирезистентного штамма *C. diphtheriae* депонирован в GenBank/NCBI: JZUJ000000000 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JZUJ000000000.1>).

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ОПТИМИЗИРОВАННОЙ СХЕМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* И *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

М.В. Чеснокова¹, В.Т. Климов¹, Т.В. Каримова²

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск
² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области, г. Новосибирск

Цель — апробация алгоритма лабораторного исследования на энтеропатогенные иерсинии с учетом ПЦР и масс-спектрометрии для увеличения частоты выделения иерсиний и сокращения времени анализа при проведении микробиологического мониторинга.

Оптимизированная нами схема включала: 1) холодное обогащение при +4...+6°C в течение 2 дней; 2) мультиплексную ПЦР (электрофоретический вариант) на *Y. enterocolitica* с праймерами на ген адгезии/инвазии (*ail-16SrRNA*) и на *Y. pseudotuberculosis* с праймерами на ген инвазивности (*inv*) и/или использование метода *real-time* ПЦР с тест-системой «*Y. enterocolitica/pseudotuberculosis-FL*» («Ампли-Сенс») с гибридизационно-флуоресцентной детекцией; 3) посев, в случае положительной ПЦР, на среду с бромтимоловым синим (БТС) с инкубацией 48 ч при 37°C; 4) визуальный отбор характерных колоний с детекцией на MALDI-TOF MS с последующим высевом положительных колоний на щелочной агар (28°C 24 ч); 5) проведение общепринятых дифференциально-диагностические тестов и расширенной идентификации штаммов — ПЦР О-серогенотипирование *Y. pseudotuberculosis*; наличие генов, детерминирующих факторы патогенности энтеропатогенных иерсиний (*inv*, *HPI*, *YAPI*, *pYV*, *ypm*, *ail*, *ystA*, *ystB*); био- и серотипирование *Y. enterocolitica*; изучение плазмидного спектра штаммов; генотипирование (VNTR, PFGE, секвенирование). При наличии положительной ПЦР и отрицательных бактериологических высево, проводили второй (на 2–3 сут) высево. При двукратной отрицательной ПЦР дальнейшее бактериологическое исследование прекращали.

Было исследовано бактериологическим методом 1980 экз. мелких млекопитающих, ПЦР — 2001 экз. Получено 125 (6,25%) положительных результатов на энтеропатогенные иерсинии, из них в 27 случаях обнаружена ДНК *Y. pseudotuberculosis* и 98 — ДНК *Y. enterocolitica*. Из положительных ПЦР проб изолированы 29 штаммов энтеропатогенных иерсиний, в т. ч. пять *Y. pseudotuberculosis* O:3 (4 штамма) и O:4a (1) и 24 штамма *Y. enterocolitica*, из которых девять были отнесены к патогенным O:3/3 (5 штаммов), O:3/4 (2) и O:9/2 (2) видам.

В материале от больных людей ДНК *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* обнаружены соответственно в 35 и 6 из 173 исследованных проб. Изолированы три культуры *Y. pseudotuberculosis* O:1a и O:1b.

Y. pseudotuberculosis характеризовались наличием генов *ypmA*, *inv*, *yapi* и *pYV*, в одном случае *pVM* (O:1b) и *HPI* (O:1a). Патогенные *Y. enterocolitica* имели гены *pYV*, *ystA* и *ail*, *Y. enterocolitica* O:1A — *ystB* при отсутствии *ail* и *ystA*.

МОНИТОРИНГ НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРОТИВ ДИФТЕРИИ И СТОЛБНЯКА У НАСЕЛЕНИЯ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

М.И. Чубирко, И.М. Дегтярева, Л.А. Холодова, А.В. Галушкин

ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области, г. Воронеж

Цель: проведение серологического мониторинга в Воронежской области для оценки:

- качества прививочной работы у детей и подростков (эффективности иммунизации);
- уровня фактической защищенности от дифтерии и столбняка у взрослых.

Материалы и методы. Исследовали сыворотки крови от разных групп населения методом РПГА параллельно с дифтерийным и столбнячным антигенными диагностикумами. Группы формировались следующим образом:

- 1 группа — дети 3–4 лет, получившие полный курс прививок от дифтерии и столбняка;
- 2 группа — подростки 16–17 лет, получившие возрастные ревакцинации;
- 3 группа — взрослые (лица старше 18 лет) без учета прививок.

Провели анализ титров антител к дифтерии и столбняку за период 2011–2015 гг.

Результаты. Всего было обследовано на напряженность иммунитета к дифтерии и столбняку детей возраста 3–4 лет (для оценки формирования базисного иммунитета) в 2011 г. — 96 человек, в 2012 г. — 150 человек, в 2013 г. — 100 человек, в 2014 г. — 112 человек, в 2015 г. — 95 человек. Число сывороток с незащищенным уровнем антител к дифтерии — 9 (9,4%) в 2011 г., 5 (3,3%) в 2012 г., 2 (2,0%) в 2013 г., 2 (1,8%) в 2014 г., 22 (25,9%) в 2015 г. Уровень серонегативных проб превысил допустимые в этой возрастной группе 5%: в 2011 г. — 9,4% и в 2015 г. — 15,9%. Все обследованные в группе 3–4 лет (100%) имели защитный уровень противостолбнячных антител в 2011, 2012, 2013 и 2014 гг. В 2015 г. анализ на определение противостолбнячных антител не проводился.

В группе подростков 16–17 лет (для оценки качества прививок, проводимых в школе и средних учебных заведениях) было обследовано на напряженность иммунитета в 2011 г. 91 человек, в 2012 г. — 105 человек, в 2013 г. — 115 человек, в 2014 г. — 116 человек, в 2015 г. — 100 человек. Выявлено серонегативных проб по дифтерии в 2011 г. 15,4%, в 2012 г. — 0,5%, в 2013 г. — 10,4%, в 2014 г. — 12,1%, в 2015 г. — 14,0%. За исключением 2012 г., процент незащищенных сывороток значительно превысил норму (5%). При определении противостолбнячного иммунитета в этой группе выявлено незначительное количество серонегативных проб — 1,1; 2,0; 0,9; 0% в 2011, 2012, 2013 и 2014 гг. соответственно.

В группе взрослых (для оценки фактического уровня защищенности от дифтерии и столбняка) обследованы 309, 503, 494, 509 и 509 человек соответственно в 2011, 2012, 2013, 2014 и 2015 гг. Было выявлено серонегативных проб по дифтерии в 2011 г. — 12,5%, в 2012 г. — 6,6%, в 2013 г. — 10,5%, в 2014 г. — 14,1%, в 2015 г. — 11,3%. Норма для этой группы (10%) оказалась превышенной в 2011, 2013, 2014 и в 2015 гг. Процент незащищенных против столбняка среди взрослых составил 0,6; 2,8; 2,1; 6,1% соответственно в 2011, 2012, 2013, 2014 гг.

Выводы:

1. Полученные результаты свидетельствуют о некоторых недостатках прививочной работы против дифтерии в отдельные годы во всех возрастных группах населения.
2. Более высокий процент поствакцинальной защищенности населения от столбняка, чем от дифтерии, возможно объяснить дополнительной вакцинацией против столбняка после травм.
3. Мониторинг напряженности иммунитета против дифтерии и столбняка у населения является объективным и эффективным средством оценки качества прививочной работы и позволяет оперативно принимать решения для улучшения активной профилактики дифтерии и столбняка.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА И ПРИМЕНЕНИЯ ТРИПТОН-СОЕВОВОГО АГАРА

А.П. Шепелин, О.В. Полосенко, И.И. Марчихина, Л.П. Шолохова

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболонск, Московская область

В производстве питательных сред широко используются ферментативные гидролизаты различных видов белкового сырья (мяса, казеина, рыбной муки и других). Они служат основой для приготовления сред общего назначения и сложных кровяных, углеводных и других питательных сред, удовлетворяющих питательные потребности различных бактерий.

Триптон-соевый агар относится к питательным средам общего назначения, предназначенным для выращивания и поддержания музейных штаммов, а также свежeweделенных культур микроорганизмов из клинического материала, для изоляции и количественного подсчета микроорганизмов чашечным агаровым методом. Использование данной среды регламентируется технической документацией по выделению требовательных микроорганизмов.

В ФБУН ГНЦ ПМБ разработана технология получения отечественного триптона из казеина, отличающегося от панкреатического гидролизата казеина более высокой степенью расщепления белка, составляющей более 30%, следовательно, более высоким содержанием аминокислот и низших пептидов, а также технология гидролиза соевого белка папаином. Полученные основы были использованы для создания триптон-соевого агара, который обеспечивает рост представителей родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* при посеве по 0,1 мл микробной взвеси тест-штамма из разведений 10^{-6} через 20–24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Рост микроорганизмов наблюдается в виде бесцветных, круглых колоний диаметром до 3,0 мм.

Триптон-соевый агар может быть использован в качестве классической основы для изготовления «шоколадного» агара для роста нейссерий, листерий, стрептококков.

Кровяной агар на основе Триптон-соевого агара позволяет визуализировать гемолитические реакции, вызываемые многими видами бактерий.

Триптон-соевый агар может быть использован для приготовления двухслойной среды с целью ускоренного выявления термотолерантных *E. coli* с последующим проведением тестов на индол и оксидазу традиционными методами.

Расширение номенклатуры сред общего назначения даст возможность обеспечивать бактериологические лаборатории объективным выбором препаратов — стабильных, высокочувствительных, обеспечивающих диагностическую ценность лабораторных исследований.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ СРЕДСТВ С ПРИМЕНЕНИЕМ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Н.В. Шестопапов, Т.В. Гололобова, Л.С. Федорова, А.С. Белова, Н.Н. Левчук, А.Ю. Скопин

ФБУН НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора, Москва

Возросший объем предлагаемых к применению дезинфекционных средств зарубежного и отечественного производства требует как контроля надлежащих условий производства и соблюдения при этом требований нормативно-технической документации, условий транспортировки, хранения, так и совершенствования вопросов экспертизы и регистрации, а также контроля их качества.

С 2010 г. официальным документом, в соответствии с которым проводятся исследования эффективности дезинфицирующих средств (ДС), является руководство Р 4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», в котором описаны методы, имевшиеся на тот момент времени. Эффективность применения ДС в практике медицинской дезинфекции во многом зависит от точности применения методов испытаний и определяется правильностью изучения их дезинфицирующих свойств в лабораторных условиях. Для гармонизации методов исследований со странами Европейского Союза (ЕС) и Таможенного Союза (ТС) на основании изучения методов, принятых в этих странах, проводится стандартизация методик изучения эффективности ДС, в методики внесены новые тест-микроорганизмы (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (9027), *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Bacillus subtilis* 6633). После предварительной оценки устойчивости к эталонным ДС в руководство Р 4.2.2643-10 добавлен метод количественного суспензионного теста.

Развитие здравоохранения и внедрение в практику новых видов оборудования, медицинских изделий и технологий определило необходимость развития дезинфектологических технологий и новых условий применения ДС, что потребовало совершенствования и разработки новых методов изучения эффективности ДС с применением бактериологических методов, а также корректировки существующих.

Так, потребовали уточнения и корректировки методы оценки эффективности ДС, предназначенных для дезинфекции целого ряда медицинских изделий. Подтверждена эффективность ряда дезинфекционных средств, применяемых: для обеззараживания медицинских изделий способом протирания (ранее был разрешен только метод погружения); для обработки столовой и лабораторной посуды способом ручной и механизированной мойки; для обработки (дезинфекции) больничного белья в процессе стирки. По результатам микробиологических исследований дана оценка эффективности применения ДС в различной препаративной форме (пена, аэрозоль) для обработки воздуха и поверхностей с применением технических устройств (парогенераторов), а также способом протирания поверхностей с использованием ветоши, изготовленной из современных синтетических материалов (мопов).

Специалистами ФБУН НИИ дезинфектологии разработана и усовершенствована методика оценки чувствительности госпитальных штаммов к ДС при проведении мониторинга в медицинских организациях, разработан протокол оценки чувствительности выделенного штамма микроорганизма. Так, оценку чувствительности к ДС следует проводить в отношении микроорганизмов, циркулирующих в МО и являющихся возбудителями ИСМП, в особенности обуславливающих эпидемические очаги с множественными случаями заболеваний и летальности, применительно к тем ДС, которые используются в МО не менее шести месяцев и далее каждые шесть месяцев.

ВИДОВОЙ СОСТАВ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ ПРИ КАНДИДЕМИИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В ПЕРИОД 2011–2014 гг.

Ю.А. Шишпоренок¹, В.В. Пугач¹, А.В. Давыдов¹, В.А. Горбунов¹, Л.П. Титов¹, Н.Н. Левшина²

¹ ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

² ГУ Минский городской центр гигиены и эпидемиологии, Республика Беларусь, Минск, Республика Беларусь

Цель: проанализировать видовой состав и чувствительность к антимикотическим препаратам возбудителей при кандидемиях.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование баз данных сети мониторинга резистентности микроорганизмов Whonet за 2011–2014 гг. В исследование включали данные о штаммах грибов рода *Candida*, выделенных из крови пациентов, находящихся на лечении в отделениях интенсивной терапии учреждений здравоохранения Республики Беларусь. Идентификацию, определение чувствительности к противогрибковым препаратам в лаборатории проводили с помощью микробиологического анализатора VITEK-2 (bioMérieux, Франция) и диско-диффузионным методом (в соответствии с рекомендациями CLSI). Статистическую обработку проводили с помощью программы Whonet 5.6.

Результаты. В результате проведенных исследований при посеве крови выделено 338 штаммов грибов рода *Candida*, из них 152 (45%) *C. albicans*, 79 (23%) *C. parapsilosis*, 35 (10%) *C. guiliermondii*, 28 (8%) *C. glabrata*, 16 (5%) *C. famata*, 11 (3%) *C. lusitanae*, 4 (1%) *C. tropicalis*, 2 (1%) *C. kefyr*, 7 (2%) *C. krusei*, 1 *C. haemu-*

lonii, *Candida* sp. 3 (1%) К амфотерицину В исследовали чувствительность 110 штаммов *C. albicans*, 65 *C. parapsilosis*, 24 *C. guiliermondii*, 28 *C. glabrata*, 11 *C. lusitanae*. Устойчивость штаммов *C. albicans* составила 22,7%, *C. parapsilosis* — 4,6%, *C. guiliermondii* — 83,3%, *C. glabrata* — 3,6%, *C. lusitanae* — 63,6%. К вориконазолу исследовали чувствительность 70 штаммов *C. albicans*, 57 *C. parapsilosis*, 17 *C. guiliermondii*, 25 *C. glabrata*, 11 *C. lusitanae*. Устойчивость *C. parapsilosis* составила 4,6%, *C. glabrata* — 12%. *C. albicans*, *C. guiliermondii*, *C. lusitanae* к вориконазолу были чувствительны. К флуконазолу исследовали чувствительность 106 штаммов *C. albicans*, 65 *C. parapsilosis*, 31 *C. guiliermondii*, 27 *C. glabrata*, 11 *C. lusitanae*. Устойчивость *C. albicans* составила 17,9%, *C. parapsilosis* — 6,2%, *C. guiliermondii* — 8,1%, *C. glabrata* — 11,1%. Штаммов *C. lusitanae*, устойчивых к флуконазолу, не выявлено. К итраконазолу исследована чувствительность 29 штаммов *C. albicans* и 20 штаммов *C. guiliermondii*, устойчивость которых составила 3,4 и 35% соответственно. Исследовали чувствительность 21 штамма *C. albicans* к нистатину, устойчивость штаммов составила 23,3%. К каспофунгину устойчивых штаммов *C. albicans*, *C. guiliermondii*, *C. parapsilosis* не выявлено.

Выводы. В этиологии кандидемий доминирует *C. albicans*, второй по частоте возбудитель — *C. parapsilosis*. Наибольшую активность в отношении *C. albicans* и *C. parapsilosis* проявляли вориконазол и каспофунгин.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КАРБАПЕНЕМАМ СРЕДИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *P. AERUGINOSA*, *K. PNEUMONIAE*, *E. COLI*, *A. BAUMANNII*

Ю.А. Шишпоренок¹, В.В. Пугач¹, А.А. Ботян¹, В.А. Горбунов¹, А.В. Давыдов¹, Л.П. Титов¹, Е.В. Уткина²

¹ ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

² ГУ Брестский зональный центр гигиены и эпидемиологии, г. Брест, Республика Беларусь

Цель: изучить распространенность β-лактамаз широкого спектра (ESBL), металло-β-лактамаз (MBL), Оха-48, *Klebsiella pneumoniae* карбапенемаз (KPC), продуцируемых клиническими изолятами *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii*, среди полирезистентных к антибиотикам грамотрицательных неферментирующих бактерий (НГОб).

Материалы и методы. Было изучено 197 полирезистентных к антибиотикам клинических изолятов НГОб (66 — *P. aeruginosa*, 54 — *K. pneumoniae*, 24 — *E. coli*, 53 — *A. baumannii*), выделенных из биологического материала пациентов стационаров. Идентификацию и определение чувствительности к антибиотикам (цефалоспорином, карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам, тетрациклинам, сульфаниламидам) проводили на приборе VITEK-2 (bioMérieux, Франция). Фенотипическое выявление ESBL, MBL, Оха-48, KPC проводили методом двойных дисков с использованием меропенема и ингибиторов (фенилбороновая кислота — для подавления карбапенемаз класса А, дипиколиновая кислота — для подавления карбапенемаз класса В, клоксациллин — ингибирует AmpC β-лактамазы, для карбапенемаз класса D использовали диск с темоциллином).

Результаты. Из 66 изолятов *P. aeruginosa* у 20 (30,30%) была выявлена продукция MBL, у 8 (12,12%) — Оха-48, у 2 (3,03%) — КРС. Из 54 изолятов *K. pneumoniae* было 8 (14,81%) MBL-продуцирующих, 11 (20,37%) — ESBL-продуцирующих, 10 (18,52%) — Оха-48-продуцирующих, 6 (11,11%) — КРС-продуцирующих. У двух изолятов *K. pneumoniae* выявлена продукция ESBL и MBL одновременно. Из 53 изолятов *A. baumannii* 1 (1,88%) был MBL-продуцирующим, 3 (5,66%) — Оха-48-продуцирующими, 10 (18,86%) — КРС-продуцирующими. Из 24 изолятов *E. coli* у 6 (25%) была выявлена продукция MBL, у 10 (41,66%) — ESBL, у 2 (8,33%) — Оха-48, у 3 (12,5%) — КРС. Два изоля-

та *E. coli* показали наличие продукции ESBL и MBL одновременно. Все ESBL-продуцирующие изоляты были чувствительны к имипенему и меропенему, тогда как MBL-, КРС-, Оха-48-продуцирующие изоляты показали полирезистентность к карбапенемам, цефалоспорином, аминогликозидам, фторхинолонам, пиперациллин/тазобактаму.

Выводы. Наше исследование показывает широкое распространение ESBL-, MBL-, Оха-48-, КРС-продуцирующих клинических изолятов НГОБ. Мы рекомендуем проводить данные исследования в рутинной практике по выявлению резистентности бактерий к антибиотикам в стационарах.