



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ИЗДАЕТСЯ С СЕНТЯБРЯ 1924 г.

ОРГАН МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

№12/2010

Главный редактор
Ю. К. АБАЕВ

Редакционная коллегия:

БАРКОВСКИЙ Е. В.
БРОНОВЕЦ И. Н.
ВАСИЛЕВСКИЙ И. В.
ВОЛОТОВСКИЙ И. Д.
ГЕРАСИМОВИЧ Г. И.
ГРИГОРЬЕВА Г. Ф.
ЖАРКО В. И.
ЗАЛУЦКИЙ И. В.
КЕВРА М. К.
КАРПОВ И. А.
КАЧАН В. И.
КУБАРКО А. И.
ЛОБКО П. И.
МАНАК Н. А.
РИМЖА М. И.
СМЫЧЕК В. Б.
СОРОКА Н. Ф.
ТЕРНОВ В. И.
ТИТОВ Л. П.
УЛАЩИК В. С. (зам. гл. редактора)
УСС А. Л.
ФЕДОТОВА Л. А. (отв. секретарь)
ХОЛОДОВА Е. А.
ЧЕРСТВЫЙ Е. Д.
ШОТТ А. В.

Редакционный совет:

ВАСИЛЬКОВ Н. А. (Гомель)
ДЕЙКАЛО В. П. (Витебск)
ДЕМИДЧИК Ю. Е. (Минск)
ДЕРКАЧ Ю. Н. (Витебск)
ЕПИФАНОВ И. В. (Гродно)
ЛИПНИЦКИЙ И. Э. (Минск)
ЛОСИЦКИЙ И. Г. (Брест)
ЛЫЗИКОВ А. Н. (Гомель)

ПИНЕВИЧ Д. Л. (Минск)
СЕМЕНЕНЯ И. Н. (Минск)
СИКОРСКИЙ А. В. (Минск)
СНЕЖИЦКИЙ В. А. (Гродно)
СТОЛЯРОВ А. Ю. (Минск)
ХОДЖАЕВ В. А. (Минск)
ЧАСНОЙТЬ Р. А. (Минск)
ШРУБОВ В. И. (Могилев)





Дорогие коллеги!

Пройдет совсем немного времени и 2010 год окажется за гранью, отделяющей нас от настоящего. Для кого-то он запомнится победами и карьерным ростом, для других, быть может, разочарованием и для всех – профессиональными буднями. Уходящий год мы прошли вместе с нашими читателями и авторами. В журнале опубликовано 193 статьи: медицинские университеты и БелМАПО – 49% (БГМУ – 24,3%); РНПЦ – 34,7%; клинические лечебные учреждения – 7,2%; институты НАН Беларуси – 4,1%; статьи из-за рубежа (Россия, Казахстан, Азербайджан, Польша, Израиль) – 4%; Министерство здравоохранения – 1%. К сожалению, практически отсутствуют публикации из районных больниц и поликлиник.

Подводя итоги уходящего года, мы выбрали лучшие статьи и наиболее активных авторов. Это Л.П. Титов, Н.Ф. Сорока, О.Г. Суконко, А.Н. Манак, С. А. Голубев, С.Б. Папко. Лауреатство в профессиональном журнале – это не только лавры победителя, это право и обязанность делиться своим опытом и знаниями с коллегами. Выражаем надежду, что следующий год подарит новых интересных авторов. Хотел бы отметить

аккуратность и обстоятельность наших рецензентов: профессоров Е.Д. Черствого, Р.А. Евсегнеева, Ю.Е. Демидчика, Ф.И. Висмонта, А.В. Шотта, Л.М. Беляеву, Л.Н. Марченко. Мы будем поощрять авторов интересных и содержательных статей, не забудем и рецензентов.

Каждый из нас с приходом нового года связывает надежды, ждет наступления перемен и строит новые планы. Редакция «Здравоохранения» не является исключением. Проведенное анкетирование позволило лучше узнать ваше мнение о журнале, и в следующем году мы будем строить работу с учетом ваших интересов. Сначала о переменах. Изменится формат журнала. По желанию авторов иллюстрации к статьям будем печатать в цветном изображении. Появятся материалы о дискуссиях ведущих специалистов, проводимых в редакции за «круглым столом» по актуальным проблемам здравоохранения. Открываем рубрику «Портрет» – о выдающихся ученых-медиках Беларуси, наших современниках. Рост претензий и обвинений в адрес врачей, в основе которых лежат не только ошибочные действия, но и юридическая некомпетентность, послужили поводом для открытия правового раздела, что, надеемся, повысит юридическую грамотность медиков. Появятся материалы для молодых специалистов и будущих ученых. Расширим публикацию статей по истории медицины Беларуси. И конечно, увеличим количество лекций и обзорных материалов для врачей общей лечебной сети, ведь именно здесь сосредоточены многие проблемы здравоохранения. Найдут отражение вопросы высшего медицинского образования в республике в связи с Болонским процессом по обеспечению соответствия качества подготовки врачей европейским стандартам. Открываем рубрику «Мудрость здоровой жизни», где вы познакомитесь с афоризмами корифеев медицины, науки и литературы от античности до наших дней.

Содержательная часть журнала несколько отклонится от академизма в сторону неформального общения и обсуждения «болевых» проблем здравоохранения. При этом «академическая» составляющая, выраженная в большей степени не в форме подачи материала, а в его функциональной содержательности, по-прежнему остается нашим «золотым стандартом».

В следующем году журнал «Здравоохранение» будет распространяться не только в Беларуси, но и в России, Украине, Литве и Молдове. Надеемся, журнал будет признан рецензируемым ВАК Российской Федерации. Кстати, РНПЦ, учебные и клинические учреждения могли бы через наш журнал пропагандировать свои достижения за рубежом и расширить таким образом каналы экспортных услуг.

Готовится уйти 2010 год. Он уйдет, унося наши печали и заботы. Но мы-то с вами остаемся! И это счастье – остаться в этой жизни! Один шаг, и мы переходим в Новый год, присутствуя при таинстве рождения самого первого дня, и в этот миг возрождаемся сами. Ведь рождение нового дня – это и есть самый главный праздник в жизни. Новый год стоит на пороге и от вас зависит, чем он будет наполнен. Распахнем же дверь навстречу ему, с надеждой в душе и предвкушением только хорошего. Желаем вам дальнейших творческих успехов, открытий и начинаний!

С Новым годом, друзья!

Ю.К. Абаев

Клиническая медицина

Максимович Н. А. Роль факторов риска атеросклероза в изменении функциональной активности эндотелия сосудов у детей и подростков с вегетативными расстройствами 4

Почепень О. Н., Шиманский И. Е., Золотухина Л. В. Коррекция метаболических нарушений у пациентов с обширными ожогами 8

Организация здравоохранения, гигиена и эпидемиология

Титов Л. П. Менингококковая инфекция: современное состояние проблемы 15

Еремин В. Ф., Гасич Е. Л., Сосинович С. В., Амбарцумян Е. Г., Суетнов О. Н., Карпов И. А. Характеристика эпидемического процесса по ВИЧ/СПИДу в Беларуси 23

Гасич Е. Л., Еремин В. Ф., Сосинович С. В., Пинчук М. Г. Молекулярно-генетические особенности вируса гепатита С в Республике Беларусь 27

Газиумарова Л. Д., Паньшина Е. Ф., Пыж А. Э., Шнып И. В., Титов Л. П. Новая диагностическая тест-система для идентификации кампилобактерий 34

Ермакова Т. С., Титов Л. П., Винничек Л. А., Дашукевич Л. И., Крамаренко Л. П. Этиология острых респираторных инфекций 39

Штыров А. А., Орлова С. В. Оптимизация проведения полимеразной цепной реакции для детекции аденовирусов 44

Орлова С. В., Штыров А. А., Рудько Г. Ф., Бореко Е. И. Информативность различных методов лабораторной диагностики аденовирусной инфекции 47

Лекции и обзоры

Жаврид Э. А., Антоненкова Н. Н., Смолякова Р. М., Баранов Е. В., Козловская С. П., Картузова И. А. Выявление опухолевых клеток в костном мозге и крови у операбельных больных раком молочной железы 52

Андреева О. Т., Трусевич М. О., Титов Л. П. Патогенетическая роль антинейтрофильных цитоплазматических антител в развитии АНКА-ассоциированных заболеваний 56

Трисветова Е. Л. Диагностика и лечение скелетных аномалий, ассоциированных состояний и заболеваний при дисплазии соединительной ткани 63

Обмен опытом

Гадирова А. С. Симультанные с холецистэктомией лапароскопические операции 67

В помощь практическому врачу

Смирнов В. М. Ампициллин/сульбактам в лечении инфекций, вызванных полирезистентным штаммом *Acinetobacter baumannii* . 69

Юбилей

Троянов А. А., Терехов В. И., Чернов В. А. Основные итоги работы и перспективы развития 4-й Городской клинической больницы им. Н. Е. Савченко 73

Терехов В. И. 40 лет отделению радионуклидной диагностики 4-й Городской клинической больницы им. Н. Е. Савченко 74

Перечень статей, опубликованных в 2010 году 76

Clinical Medicine

Maksimovich N. A. Risk factors for atherosclerosis in changing functional activity of vascular endothelium in children and adolescents with vegetative disorders

Potchepen O. N., Shimansky I. E., Zolotukhina L. V. Correction of metabolic disorders in patients with extended burns

Public Health Organization, Hygiene and Epidemiology

Titov L. P. Meningococcal infection: current state of problem

Eremin V. F., Gasich E. L., Sosinovich S. V., Ambartsumyan E. G., Suetnov O. N., Karpov I. A. Description of epidemiological HIV/AIDS process in Belarus

Gasich E. L., Eremin V. F., Sosinovich S. V., Pinchuk M. G. Molecular and genetic description of hepatitis C virus in Republic of Belarus

Gaziumarova L. D., Panshina E. F., Pyzh A. E., Shnyp I. V., Titov L. P. New diagnostic test-system for *Campylobacter* identification

Ermakova T. S., Titov L. P., Vinnichek L. A., Dashukevich L. I., Kramarenko L. P. Etiology of acute respiratory infections

Shtyrov A. A., Orlova S. V. Optimization of conditions for diagnostic polymerase chain reaction performance for detecting adenovirus

Orlova S. V., Shtyrov A. A., Rudko G. F., Boreko E. I. Informative value of various methods of adenovirus caused infections laboratory diagnosis

Lectures and Reviews

Zhavrid E. A., Antonenkova N. N., Smolyakova R. M., Baranov E. V., Kozlovskaya S. P., Kartuzova I. A. Determination of tumor cells in bone marrow and blood of operable breast cancer patients

Andreeva O. T., Trusevich M. O., Titov L. P. Pathogenic role of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ANCA associated diseases development

Trisvetova E. L. Diagnosis and management of skeletal anomalies, associated states and diseases in case of connective tissue dysplasia

Sharing Experience

Gadirova A. S. Laparoscopic operations performed simultaneously with cholecystectomy

Help to Practitioner

Smirnov V. M. Ampicillin/Sulbactam in managing infections caused by *A. baumannii* polyresistant strain

Anniversaries

Troyanov A. A., Terekhov V. I., Tchernov V. A. Major results of work and future development of City Clinical Hospital No. 4 named after N. E. Savchenko

Terekhov V. I. Department of Radionuclide Diagnosis of City Clinical Hospital No. 4 named after N. E. Savchenko is forty

Index of article published in 2010



Н. А. МАКСИМОВИЧ

РОЛЬ ФАКТОРОВ РИСКА АТЕРОСКЛЕРОЗА В ИЗМЕНЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ВЕГЕТАТИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Гродненский государственный медицинский университет

Цель исследования. Изучить распространенность факторов риска атеросклероза и их роль в изменении функциональной активности эндотелия сосудов у детей и подростков с вегетативной дисфункцией с кардиоваскулярным синдромом.

Материал и методы. В исследование были включены 514 человек в возрасте от 8 до 17 лет. Определен относительный индивидуальный уровень отягощенности факторами риска каждого обследуемого в условных единицах (от 0 до 6). Чтобы оценить функциональное состояние эндотелия сосудов, проводили тест с реактивной гиперемией и пробы с нитроглицерином путем исследования пульсового кровотока предплечья.

Результаты. Установлено, что у детей и подростков с вегетативной дисфункцией реже, чем у здоровых, отмечается низкий уровень отягощенности факторами риска (17,0% и 44,8% соответственно), чаще — высокий уровень, когда встречается более четырех факторов риска (47,7% и 5,7%). К последним относятся заболевания атерогенного генеза, артериальная гипертензия, курение, малоподвижный образ жизни, атерогенный тип питания, избыточная масса тела и стресс. Исследования эндотелийзависимой вазодилатации у пациентов с вегетативными расстройствами показали, что при высоком уровне отягощенности факторами риска после восстановления кровотока в плечевой артерии отмечается увеличение кровотока в предплечье, что свидетельствует о развитии дисфункции эндотелия у данной категории обследуемых. Результаты изучения максимального прироста пульсового кровотока в предплечье позволяют рассматривать вегетативную дисфункцию как следствие нарушения не только центральных, но и местных механизмов регуляции тонуса сосудов.

Заключение. Высокий уровень отягощенности факторами риска у пациентов с вегетативными расстройствами приводит к патологическому снижению эндотелийзависимой вазодилатации и дисфункции эндотелия, что уменьшает адаптационные возможности сосудов. Полученные результаты позволяют расценивать вегетативную дисфункцию с кардиоваскулярным синдромом у детей и подростков как один из факторов риска развития раннего атерогенеза.

Ключевые слова: факторы риска, атеросклероз, вегетативная дисфункция.

Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний по-прежнему занимает первое место в структуре общей смертности населения во всех развитых странах [11, 12].

Как известно, возникновение сердечно-сосудистых заболеваний функционального и органического генеза обусловлено факторами риска (ФР), которые определяют вероятность развития у человека того или иного заболевания или группы болезней в будущем [1, 2, 4, 7, 8, 12]. В течение последних двух десятилетий получены данные о тесной связи между влиянием ФР на

организм детей и подростков и ранним развитием сердечно-сосудистой патологии у взрослых [20, 21].

Результаты патоморфологических исследований демонстрируют, что начальные латентные проявления атеросклероза формируются уже в подростковом возрасте [21]. Выраженность атеросклеротических изменений в сосудах детей зависит от влияния ФР, которые выявляются и у взрослых [14, 21].

Среди воздействующих на организм ребенка и подростка ФР: отягощенная по сердечно-сосудистым заболеваниям наследственность, атерогенный тип питания, гиперхолестеринемия, избыточная масса тела, сниженная физическая активность, стресс, курение, артериальная гипертензия и др. [7, 14, 21].

Дисфункция эндотелия (ДЭ) или снижение эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) отмечается у взрослых людей с отягощенной по атерогенным заболеваниям наследственностью, при ожирении, гиперхолестеринемии, гиподинамии, стрессах, повышенном артериальном давлении, избыточном потреблении соли, у курящих [3, 9, 10, 13, 15—18].

Современные скрининговые методики позволили установить, что влияние на организм всех вышеперечисленных ФР атеросклероза способствует развитию ДЭ [5, 19, 21]. Выявление ДЭ на доклиническом этапе имеет огромное значение в клинической медицине, в том числе в педиатрии [14].

Исследования по изучению роли ФР в патогенезе ДЭ и нарушений периферического кровотока у пациентов с вегетативной дисфункцией (ВД) отсутствуют. Хотя известно, что риск трансформации вегетативных расстройств в атерогенные заболевания у взрослых достигает 50% [11].

Изучение состояния вазодилататорных свойств эндотелия сосудов у детей и подростков с ВД в условиях отягощенности ФР является актуальной задачей как для разработки патогенетически обоснованных способов лечения и профилактики ВД, так и для поиска механизмов последующей ее трансформации в заболевания атерогенной природы.

Целью исследований явилось изучение распространенности ФР атеросклероза и их роли в изменении функциональной активности эндотелия сосудов у детей и подростков с ВД с кардиоваскулярным синдромом.

Материал и методы

Исследования выполнены у 514 детей и подростков в возрасте от 8 до 17 лет. Контрольную группу составили 190 здоровых детей и подростков. В основную опытную группу вошли 324 ребенка и подростка с ВД с преимущественным поражением сердечно-сосудистой системы, находившиеся на стационарном обследовании и лечении в соматическом отделении Детской областной клинической больницы Гродно. Оценивали физическое развитие всех детей и подростков,

для верификации диагноза провели полное (клиническое, инструментальное и лабораторное) обследование.

Оценку уровня отягощенности ФР атеросклероза осуществляли объективными методами (определение уровня АД) и путем тщательного сбора анамнеза жизни по общепринятой методике [7, 21]. В качестве основных ФР развития ДЭ рассматривали наследственную отягощенность по сердечно-сосудистой патологии атерогенного генеза у кровных родственников трех поколений, высокое нормальное артериальное давление (АД), пассивное и/или активное курение, гиподинамию, атерогенное питание и стресс. Применяли стандартную систему оценки: наличие ФР обозначали «1», а отсутствие — «0», что позволило установить относительный индивидуальный уровень отягощенности ФР у каждого обследуемого в условных единицах (от 0 до 6 у. е.). Уровень отягощенности до 2 у. е. считали низким (НУФР); от 2 до 4 — средним (СУФР), более 4 — высоким (ВУФР).

По результатам оценки уровня отягощенности ФР из когорты детей и подростков основной опытной и контрольной групп были сформированы по 4 опытные (0_о, 1_о, 2_о, 3_о) и контрольные (0_к, 1_к, 2_к, 3_к) подгруппы: в подгруппы 0_о и 0_к соответственно вошли 20 и 38 человек без ФР, в подгруппу 1_о и 1_к — 107 и 85 пациентов с НУФР соответственно, в подгруппы 2_о и 2_к — 82 и 56 человек с СУФР, в подгруппы 3_о и 3_к — 115 и 11 детей и подростков с ВУФР.

Оценку функционального состояния эндотелия сосудов у всех детей и подростков осуществляли путем выполнения теста с реактивной гиперемией и пробы с нитроглицерином (0,01 мг/кг) путем исследования пульсового кровотока (ПК) предплечья, а также его максимального прироста ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$) на реоанализаторе (реоанализатор 5А-05, Украина) [3, 6, 14]. Результаты теста с реактивной гиперемией отражают состояние ЭЗВД и NO-синтазную активность эндотелия при отсутствии изменений эндотелийнезависимой вазодилатации. Увеличение $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ менее чем на 10% трактовали как снижение NO-синтазной активности эндотелия, а увеличение ПК в предплечье на 19% и больше после приема нитроглицерина свидетельствовало об отсутствии нарушений эндотелийнезависимой вазодилатации.

Исследуемые группы (основная и контрольная), как и все подгруппы детей и подростков, не различались по полу, возрасту, массе тела и росту ($P > 0,05$).

Полученные данные обработаны с помощью стандартной лицензионной программы STATISTICA 6.0, применяли также методы параметрической и непараметрической статистики с использованием критерия Манна—Уитни и корреляционного анализа по Спирмену, достоверными считали результаты при $P < 0,05$, они были представлены в виде среднего квадратичного отклонения ($M \pm \text{STD}$).

Результаты и обсуждение

Эпидемиология количественной (от 0 до 6) отягощенности ФР у здоровых ($n=190$) и детей и подростков с ВД ($n=242$) представлена на рис. 1.

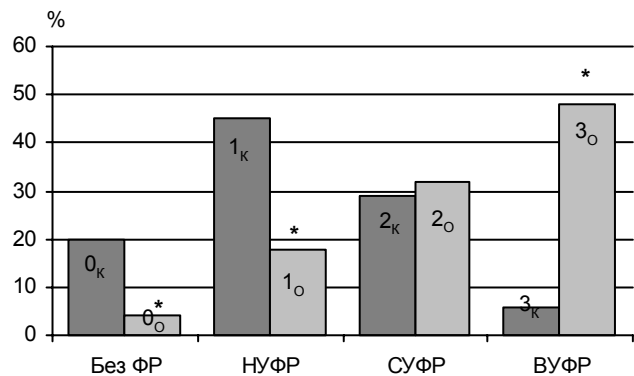


Рис. 1. Эпидемиология факторов риска атеросклероза у детей и подростков с вегетативной дисфункцией.

*Здесь и на рис. 2 достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в подгруппах основной и контрольной групп, $P < 0,001$

Установлено, что среди обследуемых с ВД реже по сравнению со здоровыми детьми и подростками встречаются пациенты без отягощенности ФР (3,7% и 20,0% соответственно; $P < 0,001$), с одним ФР (6,2% и 23,6%; $P < 0,001$), с двумя ФР (10,8% и 21,1%; $P < 0,001$), с тремя ФР (12,9% и 17,9%; $P < 0,001$), чаще — с четырьмя ФР (18,7% и 11,6%; $P < 0,01$), с пятью ФР (16,6% и 4,8%; $P < 0,001$), с шестью ФР (31,1% и 1,0%; $P < 0,001$).

То есть НУФР отмечается реже у детей и подростков с ВД, чем у здоровых (17,0% и 44,8% соответственно; $P < 0,001$), СУФР — с одинаковой частотой (31,6% и 29,5%; $P > 0,05$), ВУФР — чаще (47,7% и 5,7%; $P < 0,001$).

Дети и подростки с ВУФР среди пациентов с ВД встречаются в 8 раз чаще, чем среди здоровых с НУФР — в 2,5 раза реже, без отягощенности ФР — в 5 раз реже.

В ходе изучения распространенности отдельных ФР при ВД и у здоровых детей и подростков выявлены следующие закономерности.

Установлено, что среди обследованных с ВД при НУФР почти в 5 раз реже встречались дети и подростки с наследственной отягощенностью атерогенными заболеваниями у родственников 1, 2 и 3-й линии родства ($P < 0,001$), более чем в 2 раза реже — с эпизодами высокого нормального АД ($P < 0,001$), в 1,5 раза реже — активно либо пассивно курящие ($P < 0,001$), в 2 раза чаще — дети и подростки с ВД, употребляющие в пищу атерогенные продукты в большом количестве ($P < 0,001$) и испытывающие стресс ($P < 0,001$). Кроме того, при ВД со СУФР на 18,6% чаще встречались дети и подростки, ведущие малоподвижный образ жизни ($P < 0,001$).

Среди обследованных с ВУФР на 6,5% чаще, чем в контрольной группе, выявляли наследственную отягощенность по заболеваниям атерогенного генеза ($P < 0,05$), на 6,2% чаще регистрировали эпизоды высокого нормального АД ($P < 0,05$), на 11,2% — пассивное либо активное курение ($P < 0,01$), на 6,5% больше — вели малоподвижный образ жизни ($P < 0,05$), на 9,1% — предпочитали атерогенное питание ($P < 0,01$) и на 8,2% чаще выявляли пациентов, подвергающихся частым стрессам ($P < 0,001$).

Средняя суммарная степень отягощенности ФР у пациентов с ВД с сердечно-сосудистым компонентом по сравнению со здоровыми детьми и подростками при НУФР, составила 1,2 у. е. и 1,4 у. е. соответственно ($P>0,05$), при СУФР — 3,6 у. е. и 3,4 у. е. ($P>0,05$) и при ВУФР — 5,6 у. е. и 5,1 у. е. ($P<0,05$). В контрольной группе средняя суммарная степень отягощенности ФР составила 2 у. е., в основной группе пациентов с ВД — 3,3 у. е. и оказалась в 1,7 раза выше по сравнению со здоровыми детьми и подростками ($P<0,001$).

Максимальный прирост ПК в фазу реактивной гиперемии (рис. 2) у детей и подростков в подгруппах 0_o и 0_k не отличался ($20,1\pm 4,47\%$ и $21,2\pm 3,73\%$ соответственно; $P>0,05$); в подгруппе 1_o оказался меньше, чем в 1_k ($16,2\pm 2,88\%$ и $20,0\pm 3,79\%$; $P<0,001$), то же наблюдалось в подгруппах 2_o и 2_k ($13,5\pm 3,81\%$ и $17,4\pm 3,31\%$; $P<0,001$) и 3_o и 3_k ($7,9\pm 1,89\%$ и $13,4\pm 1,69\%$; $P<0,001$).

В итоге, $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ в подгруппе 0_o оказался выше, чем в подгруппе 1_o ($P<0,001$), в подгруппах 1_o и 1_k — выше, чем в подгруппах 2_o и 2_k ($P<0,05$), в подгруппах 2_o и 2_k — выше, чем в подгруппах 3_o и 3_k ($P<0,001$ и $P<0,01$ соответственно).

После приема нитроглицерина ПК во всех подгруппах обследуемых на 3-й и 6-й минуте увеличился и соответствовал норме (более 19%).

Исследования ЭЗВД у детей и подростков с ВД показали, что при ВУФР после восстановления кровотока в плечевой артерии отмечается увеличение кровотока в предплечье на $7,9\pm 1,89\%$, что свидетельствует о развитии ДЭ у данной категории пациентов.

В подтверждение вышеизложенного у обследуемых с ВД в основной группе реализовались обратные ассоциации между $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ и суммарной отягощенностью ФР ($r=-0,85$, $P<0,001$), наличием отягощенной наследственности ($r=-0,66$, $P<0,001$), частотой встречаемости эпизодов высокого нормального АД ($r=-0,56$, $P<0,001$),

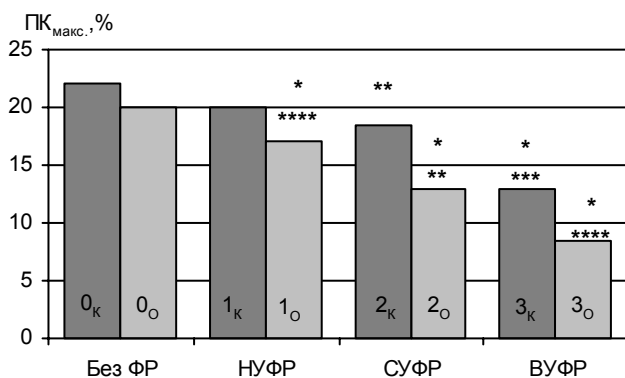


Рис. 2. Максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье при выполнении теста с реактивной гиперемией у пациентов с вегетативной дисфункцией и здоровых детей и подростков с различным уровнем факторов риска.

** Достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в подгруппах 0_o и 1_o , 1_o и 2_o , 2_o и 3_o , а также 0_k с 1_k , 1_k с 2_k и 2_k с 3_k , $P<0,05$; **** достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в подгруппах 0_o и 1_o , 1_o и 2_o , 2_o и 3_o , а также 0_k с 1_k , 1_k с 2_k и 2_k с 3_k , $P<0,01$; ***** достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в подгруппах 0_o и 1_o , 1_o и 2_o , 2_o и 3_o , а также 0_k с 1_k , 1_k с 2_k и 2_k с 3_k , $P<0,001$

активным и пассивным курением ($r=-0,49$, $P<0,001$), малоподвижным образом жизни ($r=-0,48$, $P<0,001$), атерогенным питанием ($r=-0,72$, $P<0,001$) и стрессами ($r=-0,66$, $P<0,001$) у детей и подростков.

Важно отметить, что даже при нормальном уровне холестерина в крови у подавляющего большинства пациентов с ВД с различным уровнем отягощенности ФР между $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ и содержанием холестерина выявлена тесная обратная корреляционная зависимость ($r=-0,93$, $P<0,001$), в то время как с индексом Кетле эта связь была менее прочной ($r=-0,36$, $P<0,001$). Аналогичного знака ассоциации реализовались у детей и подростков с ВД с высоким уровнем отягощенности ФР между $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ и частотой встречаемости эпизодов высокого нормального АД ($r=-0,78$, $P<0,001$).

В группе здоровых детей и подростков выявленные ассоциации имели меньшую силу и реализовались только между $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ и суммарной отягощенностью ФР ($r=-0,52$, $P<0,001$), наследственной отягощенностью ($r=-0,34$, $P<0,01$), частотой встречаемости эпизодов высокого нормального АД ($r=-0,25$, $P<0,01$), активным и пассивным курением ($r=-0,29$, $P<0,01$), атерогенным питанием ($r=-0,34$, $P<0,01$) и стрессами ($r=-0,34$, $P<0,01$).

Таким образом, среди пациентов с ВД основной группы по сравнению с контрольной в 2 раза чаще встречались дети и подростки с высоким нормальным АД и подверженные воздействию стресса ($P<0,001$), почти в 3 раза чаще — с атерогенным питанием, в 1,5 раза чаще — дети, ведущие малоподвижный образ жизни ($P<0,001$) и на 20% чаще — активные либо пассивные курильщики ($P<0,001$). Частота встречаемости больных детей и подростков с наследственной отягощенностью атерогенными заболеваниями оказалась сопоставимой с аналогичным показателем в контрольной группе ($P>0,05$).

При ВД низкий уровень отягощенности ФР атеросклероза отмечается реже, чем у здоровых детей и подростков ($P<0,001$), средний — с одинаковой частотой ($P>0,05$), высокий — более часто ($P<0,001$).

Дети и подростки с ВУФР составляют почти 50% от всех детей и подростков с ВД, с НУФР — почти 45% от всех практически здоровых детей. Не имеют отягощенности ФР 1/5 часть здоровых детей и подростков, в то время как среди пациентов с ВД их количество минимально (4%), около 1/3 среди всех обследуемых с ВД имеют СУФР.

Среди детей и подростков с ВД по сравнению со здоровыми при НУФР и СУФР больше пациентов с наследственной отягощенностью по атерогенным заболеваниям, с эпизодами высокого нормального АД и с активным либо пассивным курением, при ВУФР — со всеми изучаемыми ФР.

Результаты изучения $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ в условиях действия различного уровня отягощенности ФР дают основание расширить и детализировать представления о патогенезе и клинической манифестации ВД и рассматривать последнюю как следствие нарушения не только центральных, но и местных механизмов регуляции тонуса сосудов.

У пациентов с ВД без отягощенности ФР, с НУФР и СУФР не выявлено патологически сниженной ЭЗВД периферических сосудов, в то время как у обследуемых с ВУФР показатель ЭЗВД уменьшился ниже нормального уровня (менее 10%), что указывает на наличие ДЭ у данной категории пациентов. У здоровых детей и подростков ЭЗВД сохранилась во всех подгруппах обследованных.

Установлено, что по мере увеличения уровня отягощенности ФР при вегетативных расстройствах ЭЗВД снижена в большей степени, чем у здоровых детей и подростков ($P < 0,05$).

Анализ динамики $\Delta PK_{\text{макс}}$ у пациентов с ВД при различной степени отягощенности ФР, а также результаты корреляционного анализа свидетельствуют, что более высокий уровень накопления ФР у пациентов с вегетативными расстройствами приводит к патологическому снижению ЭЗВД и ДЭ. Это уменьшает адаптационные возможности сосудов и приводит к развитию вегетативных расстройств с сердечно-сосудистым синдромом.

Полученные результаты позволяют считать ВД с кардиоваскулярным синдромом у детей и подростков одним из дополнительных ФР раннего атерогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров А. А., Розанов В. Б. // *Рос. педиатрич. журн.*— 1998.— № 2.— С. 16—20.
2. Аникин В. В., Курочкин А. А. // *Материалы 2-й Рос. науч.-практ. конф. «Реабилитация больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями».*— М., 1997.— С. 102.
3. Балахонова Т. В., Погорелова О. А., Алиджанова Х. Г. // *Терапевт. арх.*— 1998.— № 4.— С. 15—19.
4. Беляева Л. М. *Артериальные гипертензии у детей и подростков.*— Минск, 2006.
5. Бувальцев В. И. // *Международ. мед. журн.*— 2001.— № 3.— С. 202—208.
6. Вильчук К. У., Максимович Н. А., Максимович Н. Е. *Функциональные пробы, применяемые в диагностике дисфункции эндотелия: Метод. рекомендации МЗ РБ.*— Гродно, 2001.
7. Денисова Д. В., Завьялова Л. Г. // *Бюл. СО РАМН.*— 2006.— № 4.— С. 23—34.
8. Коровина Н. А., Кузнецова О. А., Творогова Т. М. // *Рус. мед. журн.*— 2007.— № 1.— С. 1—9.
9. Лямина Н. П., Сенчихин В. Н., Сипягина А. Г. // *Международ. мед. журн.*— 2002.— № 1.— С. 218—223.
10. Максимович Н. А. // *Сб. материалов VIII съезда педиатров Республики Беларусь.*— Минск, 2006.— С. 270—272.
11. Манак Н. А., Гайдук В. Н. // *Здравоохранение.*— 2001.— № 12.— С. 24—26.
12. Часнойть Р. А., Нечесова Т. А., Ливенцева М. М. и др. // *Леч. дело.*— 2008.— № 1.— С. 8—11.
13. Cannon R. O. // *Clin. Chem.*— 1998.— Vol. 44.— P. 1809—1819.
14. Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M., et al. // *Lancet.*— 1992.— Vol. 340.— P. 1111—1115.
15. Deanfield J. // *Eur. Heart J.*— 1996.— Vol. 17.— P. 645—646.
16. Dietz N. M., Rivera J. M., Eggner J. S. E. // *Physiol.*— 1994.— Vol. 15.— P. 480.
17. Rashid M. N., Fuentes F., Touchon R. C., Wehner P. S. // *Prev. Cardiol.*— 2003.— Vol. 6.— P. 42—47.
18. Sorensen K. E., Celermajer D. S., Spiegelhalter D. J. // *Br. Heart J.*— 1995.— Vol. 74, № 3.— P. 247—253.
19. Uehata A., Lieberman E. H., Gerghard M. D. // *Vasc. Med.*— 1997.— Vol. 2, № 2.— P. 87—92.
20. Van Horn L., Greenland P. // *JAMA.*— 1997.— Vol. 278.— P. 1779—1780.
21. Williams C. L. // *Circulation.*— 2002.— Vol. 106.— P. 143.

Поступила 28.09.09.

CHANGING RISK FACTORS FOR ATHEROSCLEROSIS IN FUNCTIONAL ACTIVITY OF VASCULAR ENDOTHELIUM IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH VEGETATIVE DISORDERS

N. A. Maksimovich

Objective. To study the spread of risk factors for atherosclerosis and their role in changing functional activity of vascular endothelium in children and adolescents with vegetative disorders accompanied by cardiovascular syndrome.

Materials and methods. Five hundred and fourteen persons aged 8 to 17 years were involved in the study. For every person a relative individual level of the family history of risk factors was determined in relative units (0 to 6). For assessing the vascular endothelium functional state a reactive hyperemia test and nitroglycerin assay were performed by the arm pulse blood flow examination.

Results. It has been determined that low levels of family history of risk factors were registered more rarely in children and adolescents with vegetative dysfunction than in healthy persons (17.0% and 44.8% respectively), high levels when more than four risk factors were observed being more frequent (47.7% and 5.7% respectively). The later include diseases of the atherogenic character, arterial hypertension, smoking, the way of life lacking movements, atherogenic way of nutrition, excessive body mass, and stress. The endothelium dependent vasodilatation studies in patients with vegetative disorders have shown that in case of a high level family history of risk factors when the blood flow in the arm artery has restored increasing of the blood flow in the forearm evidences about endothelium dysfunction development in that category of patients. The results obtained while studying the maximal increase of the pulse blood flow in the forearm allow consider the vegetative dysfunction a consequence of disorders both in the central and in the local mechanisms of vascular tonus regulation.

Conclusion. A high level of family history of risk factors in patients with vegetative disorders leads to a pathologic reduction of the endothelium dependent vasodilatation and the endothelium dysfunction thus reducing the vessels adaptive characteristics. The results obtained allow consider the vegetative dysfunction accompanied by cardiovascular syndrome in children as a risk factor for developing early atherosclerosis.

Key words: risk factors, atherosclerosis, vegetative dysfunction.

О. Н. ПОЧЕПЕНЬ, И. Е. ШИМАНСКИЙ,
Л. В. ЗОЛОТУХИНА

КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОБШИРНЫМИ ОЖОГАМИ

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Республиканский ожоговый центр, Минск

Цель исследования. Изучить влияние комплексной коррекции метаболических нарушений путем адекватной субстратно-энергетической поддержки (СЭП) с контролем гликемии на тяжесть течения, длительность заболевания и летальность у больных с тяжелой термической травмой.

Материал и методы. Проведено рандомизированное одноцентровое исследование 214 пациентов в возрасте от 15 до 60 лет с обширными ожогами, поступивших в Республиканский ожоговый центр (РОЦ) с 2001 по 2009 г. Индекс тяжести поражения (ИТП) составлял от 30 до 180 ЕД (прогноз считается неблагоприятным при ИТП более 90 ЕД). В контрольную группу вошли 83 пациента, в основную — 131. Всем больным было проведено восстановление гемодинамических, водно-электролитных нарушений с использованием формулы Паркланда. Интенсивная терапия в основной и контрольной группе различалась особенностями контроля гликемии и проводимой СЭП и показаниями для назначения заместительной терапии глюкокортикоидами.

Результаты. Комплексная интенсивная терапия у пациентов основной группы была проведена в соответствии с разработанными инструкциями и протоколом. Критериями эффективности методики были: нормогликемия на фоне подачи глюкозы со скоростью 0,2—0,25 г/кг/ч, отсутствие глюкозурии, снижение экскреции мочевины с мочой, рост протениемии, восстановление калиевого баланса, коррекция патологической гипердинамии с оптимизацией артериовенозной разницы по O_2 и CO_2 , рост числа лимфоцитов в периферической крови, активация процессов регенерации в ранах.

В группе пациентов с ИТП 30—60 ЕД применение данной методики позволило уменьшить длительность пребывания в ОИТР с $19,6 \pm 2,32$ до $12,6 \pm 1,56$ дня ($P < 0,005$), но не повлияло на летальность. В группе пациентов с ИТП 61—90 ЕД наблюдалось уменьшение количества случаев бактериемии почти вдвое (со 100 до 54,5%, $P < 0,05$) и снижение летальности с 45,7 до 27,9%, критерий согласия χ^2 ($P = 0,03$). Значительное снижение летальности наблюдалось в группе со сверхкритическими ожогами (ИТП 100—180 ЕД). В группе пациентов с ИТП более 90 ЕД применение данного алгоритма позволило снизить летальность с 80 до 56,8%, χ^2 ($P = 0,001$).

Заключение. Адекватная и своевременная коррекция гормональных и метаболических нарушений у больных в критическом состоянии при термической травме должна стать такой же важной методикой, как и восстановление адекватного газообмена, гемодинамики, гидроионного баланса, кислотно-основного статуса.

Ключевые слова: термическая травма, гиперметаболизм, контроль гликемии, субстратно-энергетическая поддержка.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые за последние годы в лечении пациентов с обширной ожоговой травмой, термические повреждения до сих пор занимают по летальности ведущее место среди других видов травм. По данным ВОЗ, ежегодно в мире от ожогов умирает 322 тыс. пострадавших [1, 2]. В стационарах Республики Беларусь от термических травм ежегодно умирает от 200 до 300 человек, большинство которых трудоспособные молодые люди. За 2005—

2009 г. количество пациентов, госпитализированных с ожоговой травмой, оставалось примерно на одном уровне (9571—9662) и составляло около 30% от всех пострадавших от травм. Однако тяжесть ожоговой травмы ежегодно увеличивается примерно на 7—8% за счет роста количества глубоких обширных ожогов, а также в результате увеличения числа пострадавших с тяжелой термоингаляционной травмой. Наибольшая летальность наблюдается в группе пациентов с глубокими ожогами на площади более 25—30% ОПТ, особенно в комбинации с термоингаляционной травмой.

На протяжении последних 30 лет снижение смертности от обширных ожогов стало возможным благодаря применению метода раннего радикального удаления некроза. R. G. Tompkins и соавт. в 1988 г. опубликовали данные о результатах летальности за 19 лет [3]. Смертность детей за этот период снизилась с 9% в 1960 г. до 1% в 1980 г. Согласно более поздним исследованиям, после радикальной некрэктомии снижается мышечный катаболизм, уменьшаются септические осложнения по сравнению с методикой отсроченного удаления некроза [4—7]. Оказалось, что при удалении некроза с одномоментным закрытием ран в течение 2—3-х суток после травмы энергетические потери снижаются на 40% по сравнению с пациентами, у которых некроз был удален на 7-е сутки [8].

Однако эффективность этой методики по влиянию на гиперметаболический ответ резко снижается, если у пациента развивается сепсис либо невозможно одномоментное удаление всего некроза, что встречается достаточно часто (особенно на фоне мозаичного поражения, когда сочетаются глубокие и поверхностные ожоги) [6].

Таким образом, альтернативы ранней обширной некрэктомии с одномоментным закрытием ран нет. Вместе с тем существует ряд методик, влияющих на уровень гиперметаболизма: поддержание оптимального термального окружения и гидробаланса, нутритивная поддержка, использование анаболиков. К сожалению, эффективность таких методик, как нутритивная поддержка, резко снижается, если у больного гипергликемия, а применение анаболиков на фоне сепсиса либо несанированной раны приводит к резкой активации воспаления.

Последние 10—15 лет в литературе широко обсуждается важность поддержания оптимальной гликемии [9—12]. Своевременная коррекция гипергликемии и удержание ее на уровне 6,1 ммоль/л с помощью инсулинотерапии, названная стратегией «жесткого контроля гликемии» [13], в настоящее время включена в международные рекомендации по лечению сепсиса и септического шока, а также в протокол многокомпонентной терапии сепсиса (Multiple Urgent Sepsis therapies Protocol-MUST-protocol) [13—15].

Учитывая важность поддержания оптимального уровня гликемии, была разработана методика коррекции гуморальных и метаболических нарушений. Научная основа методики СЭП с управляемой гликемией — данные о том, что уровень гликемии зависит от продукции глюкозы, скорости метаболических процессов, уровня контрин-

сулярных гормонов, функционального состояния печени, скорости поступающей глюкозы и параметров, влияющих на утилизацию (оксигенация, тканевая перфузия, внутриклеточное окисление глюкозы, уровень провоспалительных цитокинов и т. д.) [16—23]. Следовательно, методика контроля гликемии должна учитывать оценку оксигенации, перфузии, адекватность обезболивания [25] (боль как фактор, увеличивающий синтез контринсулярных гормонов) и особенности нейрогуморальной регуляции (избыток стрессовых гормонов либо, напротив, скрытая надпочечниковая недостаточность).

Цель исследования — изучить влияние комплексной коррекции гуморальных и метаболических нарушений путем адекватной СЭП с контролем гликемии на тяжесть течения, длительность заболевания и летальность у больных с тяжелой термической травмой.

Материал и методы

В рандомизированное одноцентровое исследование было включено 214 пациентов в возрасте от 15 до 60 лет с обширными ожогами, поступивших в РОЦ с 2001 по 2009 г. ИТП составлял от 30 до 180 ЕД. В контрольную группу вошли 83 пациента, в основную — 131. По основным клиническим характеристикам (возраст, площадь ожога, наличие ингаляционной травмы), особенностям хирургического лечения, показаниям для перевода на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), проводимым противошоковым мероприятиям, дозе вводимых растворов аминокислот и жировых эмульсий пациенты не различались между группами.

Базовая интенсивная терапия в обеих группах включала коррекцию волевических, гемодинамических, водно-электролитных, респираторных нарушений. После оценки площади ожога восстановление волемии в 1-е сутки проводили по модифицированной формуле Паркланда:

объем инфузионной терапии в 1-е сутки = $3-4$ (мл) · масса тела (кг) · ОПО (%).

Всем больным была проведена кислородотерапия. Показанием для проведения ИВЛ было снижение респираторного индекса (PaO_2/FiO_2 менее 300 мм рт. ст.) и гипокапния ($PaCO_2$ менее 30 мм рт. ст.).

Показанием для проведения целенаправленной кардиотонической терапии была сохраняющаяся низкая сатурация венозной крови ($ScvO_2$ менее 55%) после восстановления объема циркулирующей крови.

Нутритивную поддержку начинали со 2-х суток: вводили 5—10—20% раствор глюкозы. Растворы аминокислот добавляли к инфузии из расчета потребности в белке до 1—2 г/кг/сут, жировые эмульсии — из расчета 0,5—1,5 г/кг/сут.

Энтеральное кормление (зондовое или через рот) при возможности начинали с 1-х суток.

Антибактериальную терапию проводили на основании объективных данных микробиологического исследования (из раны, мокроты, крови, мочи). Антиинфекционная защита основывалась на чувствительности выделенной флоры к используемым антиинфекционным препаратам.

По показаниям всем больным исследуемых групп проводили хирургическое лечение (некрэктомия с 3—8-х суток, аутодермопластика).

Интенсивная терапия в основной и контрольной группе различалась особенностями контроля гликемии и проводимой СЭП.

В контрольной группе (83 пострадавших) при поступлении использовали традиционные принципы контроля гликемии и парентерального питания. Контроль гликемии проводили 4 раза в сутки. В 1-е сутки при восстановлении волевических нарушений переливали только солевые растворы с расчетом по формуле Паркланда, растворы глюкозы не вводили. На 2-е сутки начинали парентеральное питание с помощью ГКИ-инфузии (глюкозо-калий-инсулиновой инфузии) в зависимости от индивидуальной возможности утилизации глюкозы. Скорость введения глюкозы составляла от 0,05 до 0,15 г/кг/ч, скорость введения инсулина не превышала 80 ЕД/сут. На фоне нормогликемии при введении 5% раствора глюкозы инсулин не вводили, при введении 10% раствора глюкозы на каждые 5 г глюкозы добавляли 1 ЕД инсулина. При гликемии выше 11,0 ммоль/л растворы глюкозы не вводили.

В основной группе коррекцию гликемии экзогенным инсулином проводили после анализа причин гипергликемии, поскольку увеличение скорости введения экзогенного инсулина — только один из факторов, обеспечивающих утилизацию глюкозы на фоне инсулинорезистентности. Сигналом для оценки и пересмотра программы проводимой интенсивной терапии (адекватность оксигенации, перфузии, кардиотонической поддержки, а также изменение скорости вводимой глюкозы и инсулина) был уровень гликемии более 7,0 ммоль/л и менее 3,2 ммоль/л [25] (рис. 1).

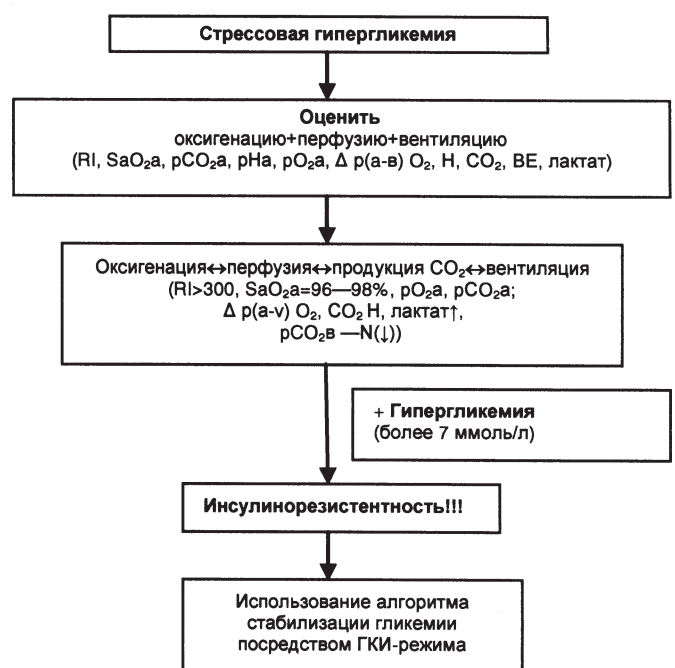


Рис. 1. Аналитический алгоритм оценки причин гипергликемии

СЭП проводили с соблюдением строгого контроля динамики такой гомеокинетической константы, как гликемия, посредством использования ГКИ-режима. Он основан на подборе индивидуальной адекватной скорости введения глюкозы и инсулина под контролем гликемии, начиная с 0,05 до 0,25 г/кг/ч глюкозы+инсулин (от 0,02 до 0,25 ЕД/кг/ч в зависимости от уровня гликемии)+2—3 ммоль/кг/сут 7,5% калия хлорида (при восстанавливающемся диурезе). Гликемию контролировали каждые 4 ч, при подборе дозы инсулина каждый час. На 2-е сутки в программу интенсивной терапии включали аминокислоты (1000 мл/сут) и жировые эмульсии (500—1000 мл/сут). При отсутствии застойного содержимого в желудке начинали энтеральное питание (в том числе зондовое).

Учитывая важность влияния особенностей нейрогуморальной регуляции на течение и исход тяжелой термической травмы, а также рекомендации международного протокола многокомпонентной терапии сепсиса, в протокол лечения тяжелообожженных была включена заместительная терапия метилпреднизолоном (2 мг/кг/сут) [26—32]. Показанием для его назначения в острый период было отсутствие гемодинамического эффекта на объемную нагрузку при ожоговом шоке. При сепсисе показанием для назначения ГКС была нестабильность гемодинамики, развитие респираторного дистресс-синдрома (РДС), резкое падение уровня ОХС (менее 3,0 ммоль/л) и эпизоды спонтанной (не связанной с вводимой дозой инсулина) гипогликемии (менее 2,7 ммоль/л) [33].

Результаты и обсуждение

Комплексную интенсивную терапию проводили пациентам основной группы в соответствии с разработанными инструкциями и протоколом [34].

Анализ полученных результатов подтвердил первоначальную гипотезу о клинической эффективности своевременной коррекции гуморальных и метаболических нарушений путем адекватного субстратно-энергетического обеспечения с контролем гликемии.

При анализе результатов лечения в группе с ИТП 30—60 ЕД не было выявлено достоверного снижения летальности, однако установлено значительное (с $19,6 \pm 2,32$ до $12,6 \pm 1,56$; $P < 0,05$) снижение длительности пребывания в ОИТР. У всех погибших, как в контрольной, так и в основной группе, была тяжелая термоингаляционная травма. Относительное влияние на летальность в этой группе оказал контроль гликемии. Большой вклад в летальность внесла несвоевременно корригируемая гипоксия (поздний перевод на ИВЛ в связи с недооценкой тяжести состояния). В то же время коррекция метаболических нарушений позволила снизить количество септических осложнений и, как следствие, сроки пребывания в ОИТР.

В контрольной группе умеренная гипергликемия (6,2—10,4 ммоль/л) наблюдалась как на фоне инфузии растворов глюкозы, так и спонтанно практически у всех больных: в первые 7—10 дней, при гипертермии, бактериемии, а также в ранний послеоперационный период.

Прекращение введения растворов глюкозы либо снижение скорости ее поступления не приводило к снижению

уровня гликемии. Это связано с тем, что генерализованное воспаление (каким является ожоговая болезнь) сопровождается увеличением продукции цитокинов (в частности, ФНО, интерлейкинов-1, 6) и, следовательно, инсулинорезистентностью и гипергликемией [36]. Как правило, рост гипергликемии наблюдали на фоне роста экскреции мочевины с мочой (максимально до 1700 ммоль/сут).

Гипергликемия является отражением активации глюконеогенеза и катаболизма структурных белков, несмотря на проводимое парентеральное питание с добавлением к инфузии аминокислот. В данной ситуации введение аминокислот не купирует гиперкатаболизм, что, возможно, связано с влиянием инфекции на глюкозозависимый печеночный транспорт глюкозы и повреждением утилизации экзогенно вводимых аминокислот [36, 37].

У всех больных контрольной группы в первые 7—14 дней (разгар токсемии) наблюдали 3—4 признака синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) даже при отсутствии бактериемии. Уровень гликемии в этот период не опускался ниже 6,1 ммоль/л и составлял примерно $7,1 \pm 1,25$ ммоль/л, иногда достигая 12 ммоль/л (рис. 2). Содержание мочевины в суточной моче поддерживалось на уровне 1100—1200 ммоль/сут, лишь после 14-х суток отмечалось снижение экскреции мочевины до 700 ммоль/сут.

В основной группе к 7-м суткам экскреция мочевины была значительно ниже, чем в контрольной группе (соответственно $810,5 \pm 15,5$ ммоль/сут и $1200,5 \pm 20,5$ ммоль/сут; $P < 0,05$) (рис. 3). Следует отметить, что доза вводимых аминокислот в группах не отличалась ($P > 0,05$), однако достоверно отличалась доза вводимого инсулина ($P < 0,05$), которая составляла в основной группе $160,8 \pm 20,2$ ЕД/сут, а в контрольной — $76,2 \pm 11,4$ ЕД/сут (соответственно количество глюкозы было равным $420,0 \pm 15,2$ г/сут и $320,2 \pm 12,2$ г/сут).

В основной группе уменьшение длительности пребывания в ОИТР было связано с тем, что течение постагрессивного периода не выходило за саногенные рамки. Лишь у 6 больных наблюдалась бактериемия. Но даже на фоне бактериемии у всех выживших пациентов этой группы не было более 2 признаков ССВО на протяжении всей болезни. Возможно, это связано с противовоспалительными эффектами инсулина через супрессию NF-κB и, как следствие, супрессию продукции ФНО, образование свободных радикалов, ингибирование факторов миграции макрофагов [38, 39].

Купирование гиперкатаболизма сопровождалось трансформацией патологической гипердинамики в компенсаторную, уменьшением артерио-венозного шунтирования (SvO_2 78 (75—82)%). Активация анаболических процессов проявлялась ростом уровня белка ($P < 0,05$), альбумина ($P < 0,05$), лимфоцитов в периферической крови ($P < 0,05$) и, следовательно, снижением сроков пребывания в ОИТР ($P < 0,01$).

В группе с ИТП 61—90 ЕД различия в показателях летальности были достоверны как при расчете U-критерия, так и χ^2 ($P = 0,03$).

Основная отличительная особенность течения заболевания в этой группе — повторяемость стресса:

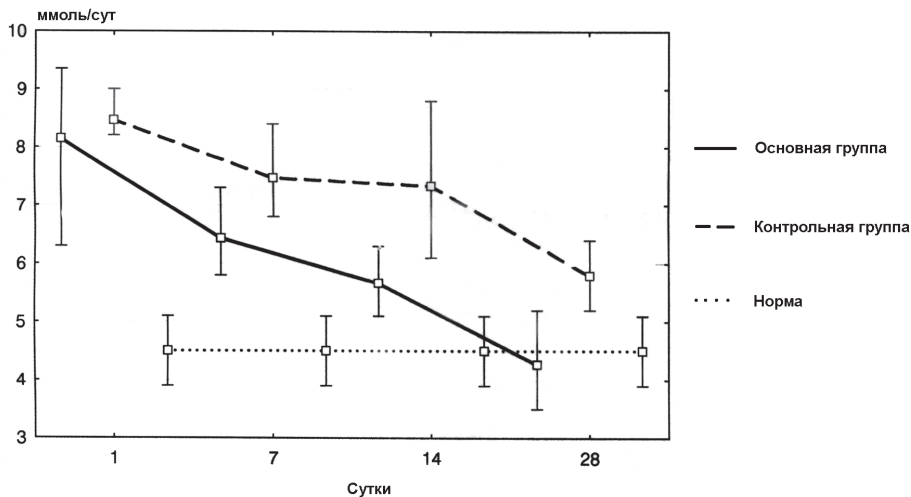


Рис. 2. Средний уровень гликемии у пациентов с ИТП 30—60 ЕД

многократные оперативные вмешательства, лихорадка, боль, микробная инвазия и пилообразное течение постагрессивного периода. Все перечисленные факторы индуцируют гипергликемию. Поэтому поддержание нормогликемии сводилось не только к введению необходимой дозы инсулина, но и к минимизации последствий постагрессивного периода (жесткий контроль боли, применение НПВП, использование ИВЛ по респираторным показаниям).

В респираторной поддержке среди выживших нуждались 10 (33%) пациентов основной и 10 пациентов (59,6%) контрольной группы.

Традиционно считается, что обширные ожоги обязательно сопровождаются бактериемией. Однако в основной группе бактериемия наблюдалась у 23 из 30 больных, а в контрольной группе — у всех больных (посев крови на стерильность проводили каждые 3 дня) [41]. У каждого больного основной группы наблюдали все 4 признака ССВО в течение первых 7 дней, затем — в течение 12—24 ч после некрэктомии. У больных контрольной группы все 4 признака ССВО были отмечены на протяжении 21—24 сут, у 5 больных — 35—40 сут. Эти данные еще раз доказывают противовоспалительные эффекты инсулина. Средняя доза инсулина составляла примерно $180,2 \pm 20$ ЕД/сут на фоне введения глюкозы $380,2 \pm 15,4$ г/сут. В контрольной группе суточная доза инсулина не превышала 100 ЕД.

Однако если у больного развивался септический шок, который сопровождался гипергликемией, то увеличение дозы инсулина (даже до 20 ЕД/ч) не приводило к купированию гипергликемии, что также отмечено и другими авторами [41]. В то же время на фоне тяжелого сепсиса (3 больных основной группы) удалось купировать гипергликемию (доза инсулина не превышала 20 ЕД/ч) и добиться благоприятного исхода. В контрольной группе все больные, у ко-

торых развился тяжелый сепсис, погибли.

Круглосуточный жесткий контроль гликемии позволил выявить значительные суточные колебания этого показателя на фоне сепсиса у выздоровевших пациентов. Значения уровня гликемии менее 3,0 ммоль/л наблюдали у 17,5% больных контрольной группы и у 7,7% больных основной группы. Эпизоды гипогликемии не были связаны с дозой вводимого инсулина. У этих же больных в течение суток отмечались эпизоды гипергликемии (до 12,8 ммоль/л, у умерших до 17,0 ммоль/л). Суточный разброс колебаний гликемии достигал 8—9 ммоль/л, у умерших — 14—15 ммоль/л (рис. 4).

У всех умерших пациентов на фоне сепсиса отмечались эпизоды гипогликемии. Основной причиной был развившийся синдром полиорганной недостаточности (СПОН), который сопровождался симпатoadrenalовой, надпочечниковой и печеночной недостаточностью [42].

Таким образом, подтверждено положение, высказанное рядом авторов, о том, что спонтанные эпизоды гипогликемии связаны не с дозой вводимого инсулина, а являются независимым фактором, идентифицирующим больных с высоким риском смерти [43—47].

На протяжении 40 сут экскреция мочевины с мочой у больных контрольной группы составляла от 1500 до 1700 ммоль/сут. У больных основной группы экскреция мочевины с мочой не превышала 1400 ммоль/сут и к 20—21 сут снижалась до 500 ммоль/сут.

Значительное снижение летальности наблюдали в группе со сверхкритическими ожогами (ИТП 100—180 ЕД), χ^2 ($P=0,001$). Безусловно, успех лечения этой категории больных определяется не только эффективностью интенсивной терапии, но и своевременностью хирургического лечения. Следует отметить, что среди выживших больных основной и контрольной группы не было пациентов с глубокими ожогами лица и головы.

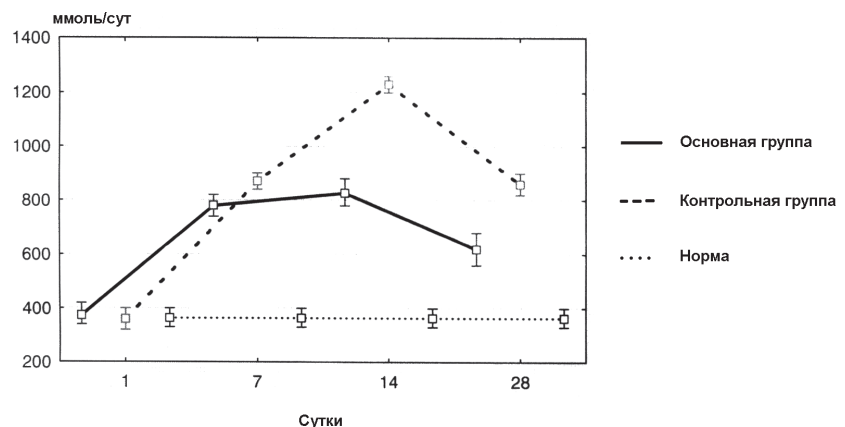


Рис. 3. Динамика экскреции мочевины с мочой у пациентов с ИТП 30—60 ЕД

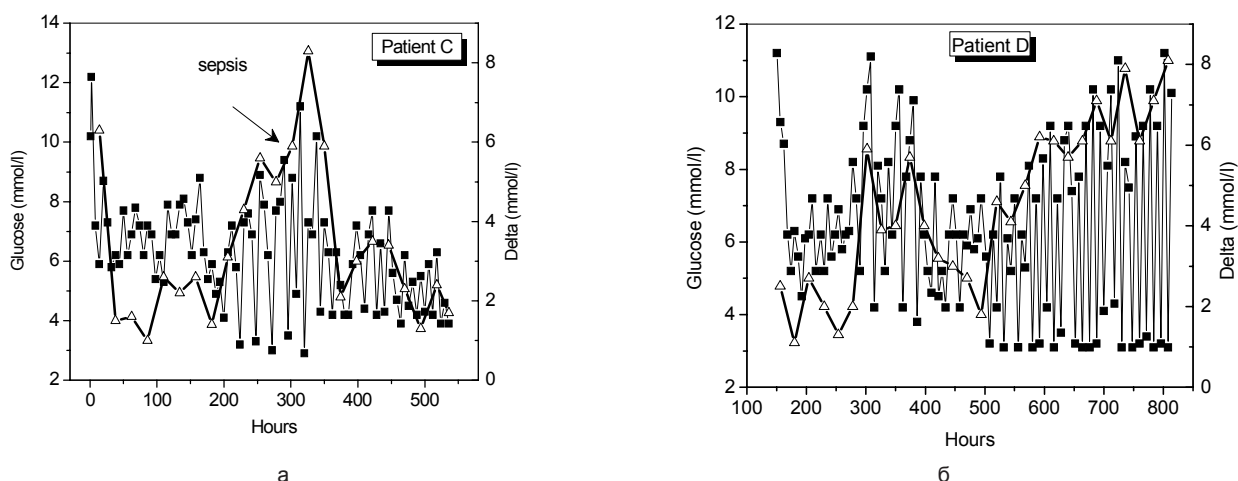


Рис. 4. Концентрация глюкозы и дельта гликемии у выжившего пациента С. (а) и у умершего D. (б) на фоне сепсиса

Как правило, на лице и голове глубина ожогов ограничивалась степенью 3А.

В основной группе выжил 21 пациент, летальность составила 56,8%, респираторная поддержка проводилась 9 (42,8%) больным среди выживших и 24 (100%) больным среди умерших пациентов. Длительность респираторной поддержки у выживших больных составляла $30,8 \pm 9,8$ сут. Бактериемия наблюдалась у всех больных этой категории, за исключением тех, которые погибли на 2—3-и сутки.

В контрольной группе летальность составила 80%. Респираторную поддержку проводили 3 (80%) больным в группе выживших и 16 (100%) пациентам среди погибших. В респираторной поддержке пациенты нуждались в среднем $45,5 \pm 7,8$ сут.

Экстракорпоральные методы детоксикации не проводили ни в основной, ни в контрольной группе.

Потери азота с мочой в группе пациентов с ИТП более 90 ЕД были значительно выше ($P < 0,05$), чем в других группах. Даже с большими дозами инсулина (до 20 ЕД/ч, соотношение глюкозы к инсулину в пода-

ваемой смеси достигало 1 г глюкозы:1—1,5 ЕД инсулина) на фоне нормогликемии сохранялся высокий уровень катаболизма. Концентрация мочевины достигала 2000 ммоль/сут. Однако такая ситуация продолжалась недолго (максимум 2 сут) и была купирована (рис. 5).

Очень сложно определить у пациентов этой категории приоритетное направление лечения (коррекция гемодинамики, гидробаланса, респираторных нарушений или своевременная антибактериальная терапия). Однако очевидна важность адекватного субстратно-энергетического обеспечения, своевременной коррекции гипергликемии, создания оптимальных условий для утилизации глюкозы со скоростью 0,2—0,25 г/кг/ч, несмотря на инсулинорезистентность, которая поддерживается такими факторами, как боль, гипертермия, повторные оперативные вмешательства, микробная инвазия.

У выживших пациентов своевременная коррекция гуморальных и метаболических нарушений путем адекватного субстратно-энергетического обеспечения позволила обеспечить «относительно» саногенное течение постагрессивного периода, предотвратить критический уровень катаболизма, сохранить структурные белки и тем самым не допустить трансформацию сепсиса в тяжелый сепсис и септический шок. Ни у одного выжившего не наблюдалось ожогового истощения, что позволило всем пациентам этой группы вернуться к нормальной (социально активной) жизни.

По данным годовых отчетов работы ожогового отделения для взрослых РОЦ, ежегодно увеличивается количество пациентов с глубокими обширными ожогами. Если в 2001 г. среди умерших пациентов трудоспособного возраста (от 18 до 55 лет) ИТП составил $85,8 \pm 2,3$ ЕД, то в 2009 г. среди умерших ИТП составил $143,6 \pm 5,4$ ЕД. Несмотря на это, летальность в РОЦ постепенно снижается с 7,6% в 2001 г. до 5,1% в 2009 г. ($P < 0,05$) (рис. 6).

По данным годовых отчетов работы ожогового отделения для взрослых РОЦ, ежегодно увеличивается количество пациентов с глубокими обширными ожогами. Если в 2001 г. среди умерших пациентов трудоспособного возраста (от 18 до 55 лет) ИТП составил $85,8 \pm 2,3$ ЕД, то в 2009 г. среди умерших ИТП составил $143,6 \pm 5,4$ ЕД. Несмотря на это, летальность в РОЦ постепенно снижается с 7,6% в 2001 г. до 5,1% в 2009 г. ($P < 0,05$) (рис. 6).

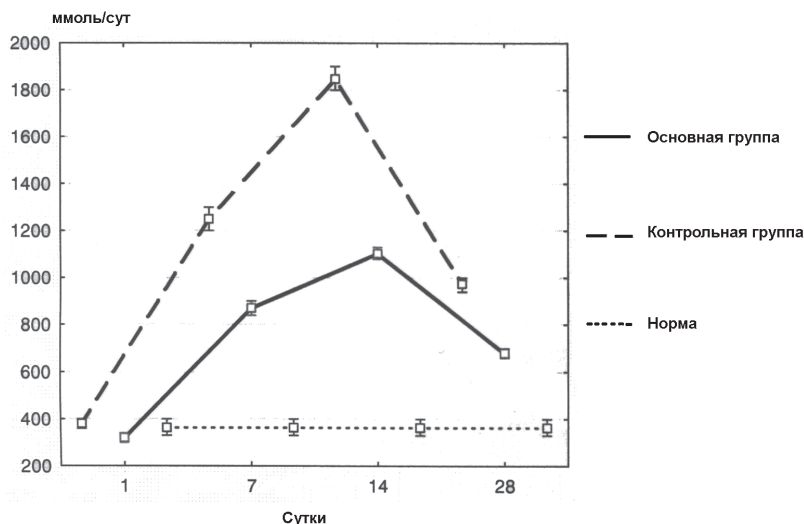


Рис. 5. Динамика экскреции мочевины с мочой у пациентов с ИТП > 90 ЕД

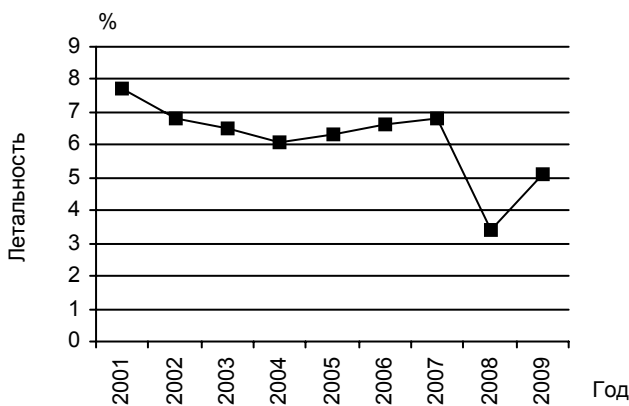


Рис. 6. Динамика летальности в РОЦ за 2001—2009 гг.

Учитывая, что количество пациентов с тяжелой ожоговой травмой (ИТП более 60 ЕД) возрастает, для оценки эффективности лечения в РОЦ более корректно использовать показатель выживаемости пациентов с обширными ожогами (рис. 7).

Из представленных данных следует, что выживаемость пациентов с ИТП более 60 ЕД и менее 100 ЕД увеличилась с 7 до 16 человек ($P < 0,01$), а с ИТП более 100 ЕД — с 1 до 6 человек в год ($P < 0,001$). Мировой опыт показывает, что радикального снижения летальности при глубоких ожогах, превышающих 30—40% ОПТ, можно ожидать только при удалении всего некроза с одномоментным закрытием ран в течение 2—3-х суток после травмы. Именно эта хирургическая методика позволяет снизить энергорасход на 40% по сравнению с пациентами, у которых некроз был удален на 7-е сутки.

К сожалению, эффективность этой методики по влиянию на гиперметаболический ответ резко снижается, если некроз удален не одномоментно, что не всегда возможно [49]. Поскольку в настоящее время в РОЦ нет возможности одномоментно удалить и закрыть ожоговые раны на площади, превышающей — 17% ОПТ, разработанная методика коррекции метаболических нарушений наряду с антибактериальной терапией, ранней респираторной поддержкой явля-

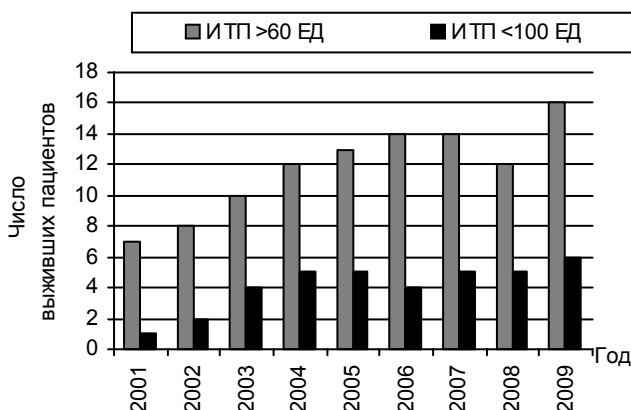


Рис. 7. Динамика выживаемости пациентов с обширными ожогами за 2001—2009 гг.

ется одной из наиболее эффективных, позволяющих добиться купирования гиперметаболического ответа.

Таким образом, комплексная коррекция метаболических нарушений путем адекватной СЭП с контролем гликемии влияет на тяжесть течения, длительность заболевания и летальность у больных с тяжелой термической травмой.

В то же время рост выживаемости пациентов с обширными ожогами неизбежно приводит к увеличению расходов на лечение. В 2009 г., по данным годового отчета, выжило 10 пациентов с ИТП более 90 ЕД (все пациенты были пролечены согласно разработанному и внедренному протоколу лечения). Ежедневные затраты на медикаменты составляли примерно 2 240 660 руб., средняя длительность лечения была 52,8 койко-дня. Затраты на весь период пребывания одного пациента в ОИТР составили:

2 240 660 руб. × 52,8 койко-дня = 118 306 848 руб.

Соответственно расходы на лечение 10 выживших в 2009 г. пациентов составили:

118 306 848 руб. × 10 = 1 183 068 480 руб.

Таким образом, несмотря на клиническую и экономическую эффективность предложенного метода лечения, который выражается в снижении длительности пребывания в ОИТР и уменьшении летальности, рост числа выживших пациентов с обширными глубокими ожогами неизбежно сопровождается увеличением расходов на лечение этой категории пациентов.

Разработанные инструкции и протокол лечения внедрены во всех ожоговых отделениях Республики Беларусь, а также в Государственной областной клинической больнице г. Новосибирска в ОИТР для тяжелообожженных, в Государственной краевой клинической больнице Красноярска в ОИТР для тяжелообожженных [48].

Выводы

1. В группе пациентов с ИТП 30—60 ЕД применение алгоритма комплексной коррекции метаболических нарушений позволило уменьшить длительность пребывания в ОИТР с $19,6 \pm 2,32$ до $12,6 \pm 1,56$ сут ($P < 0,005$), но не повлияло на летальность.

2. В группе пациентов с ИТП 61—90 ЕД коррекция метаболических нарушений способствовала уменьшению количества случаев бактеремии почти вдвое (со 100 до 54,5%) и снижению летальности с 45,7 до 27,9%.

3. В группе пациентов с ИТП более 90 ЕД использование алгоритма позволило снизить летальность с 83,3 до 56,8%.

4. Адекватная и своевременная коррекция метаболических нарушений у больных в критическом состоянии при термической травме так же важна, как и восстановление адекватного газообмена, гемодинамики, гидроионного баланса, кислотно-основного статуса.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization (WHO)//Burns. — Geneva, 2004.
2. Термические и радиационные ожоги: Руководство для врачей / Под ред. Л. И. Герасимовой, Г. И. Назаренко. — М., 2005.

3. Tompkins R. G., Remensnyder J. P., Burke J. F., et al. // *Ann. Surg.*— 1988.— Vol. 208, № 5.— P. 577—585.
4. Hart D. W., Wolf S. E., Chinkes D. L., et al. // *J. Trauma.*— 2003.— Vol. 54, № 4.— P. 755—764.
5. Engrav L. H., Heimbach D. M., Reus J. L., et al. // *J. Trauma.*— 1983.— Vol. 23, № 11.— P. 1001—1004.
6. Barret J. P., Herndon D. N. // *Arch. Surg.*—2003.— Vol. 138, № 2.— P. 127—132.
7. Самойленко Г. Е. Активная хірургічна тактика в профілактиці ускладнень понирення опіків у дітей молодшого віку: Автореф. дис... д-ра мед. наук.— Донецьк, 2008.
8. Hart D. W., Wolf S. E., Chinkes D. L., et al. // *Ann. Surg.*— 2000.— Vol. 232, № 4.— P. 455—465.
9. Wolf R. R., Durkot M. J., Allsop J. R., et al. // *Metabolism.*— 1979.— Vol. 28.— P. 1031—1039.
10. Sheridan R. L. // *N. Engl. J. Med.*— 2001.— Vol. 345.— P. 1271—1272.
11. Dossett L. A., Cao H., Mowery N. T., et al. // *Am. Surg.*— 2008.— Vol. 74.— P. 679—685.
12. Gore D. C., Chinkes D., Hegggers J., et al. // *J. Trauma.*— 2001.— Vol. 51.— P. 540—544.
13. Van den Berghe G., Wilmer A., Hermans G., et al. // *N. Engl. J. Med.*— 2006.— Vol. 354.— P. 44—461.
14. Мальцева Л. А. Ключевые рекомендации по лечению тяжелого сепсиса и септического шока с вариантом клинико-статистической модели PIRO: Практич. руководство.— Днепрпетровск, 2004.
15. Hirshberg E., Larsen G., Van Duker H. // *Pediatr. Crit. Care Med.*— 2008.— Vol. 9.— P. 361—366.
16. Corstjens A. M., van der Horst I. C., Zilistra J. G., et al. // *Crit. Care.*— 2006.— Vol. 10.— P. 216.
17. Gearhart M. M., Parbhoo S. K. // *AACN Clin. Iss.* — 2006.— Vol. 17.— P. 50—55.
18. Gravante G., Delogu D., Sconocchia G. // *Apoptosis.*— 2007.— Vol. 12.— P. 259—270.
19. Wahl W. L., Taddonio M., Maggio P. M., et al. // *J. Trauma.*— 2008.— Vol. 65.— P. 42—47.
20. Laird A. M., Miller P. R., Kilgo R. D., et al. // *J. Trauma.*— 2004.— Vol. 56.— P. 1058—1062.
21. Preiser J. C., Devos P. // *Crit. Care Med.*— 2007.— Vol. 35.— P. S503—S507.
22. Groeneveld A. B. J., Beishuizen A., Viser F. C. // *Crit. Care.*— 2002.— Vol. 6.— P. 102—105.
23. Brunkhorst F. M., Engel C., Bloos F., et al. // *N. Engl. J. Med.*— 2008.— Vol. 358.— P. 125—139.
24. Quattara A., Lecomte P., Lemanach Y., et al. // *Anesthesiol.*— 2005.— Vol. 103.— P. 687—694.
25. Vanhorebeek I., Langouche L., Van der Berghe G. // *Chest.*— 2007.— Vol. 132.— P. 268—278.
26. Почепень О. Н. // Проблемы лечения тяжелой термической травмы: Материалы VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием.— Н. Новгород, 2004.— С. 99—100.
27. Почепень О. Н. // Сб. науч. трудов I Съезда комбустиологов России.— М., 2005.— С. 79—80.
28. Почепень О. Н. // Мед. новости.— 2005.— № 5.— С. 153—157.
29. Почепень О. Н., Гурманчук И. Е., Петракова О. В. Диагностика и коррекция гуморальных и метаболических нарушений у больных с тяжелой термической травмой // Инструкция по применению. Регистр. номер 118-11.04.— Минск, 2004.
30. Почепень О. Н., Гурманчук И. Е., Петракова О. В. Диагностика и коррекция стресс-ответа на хирургическое вмешательство у больных с тяжелой термической травмой // Инструкция по применению. Регистр. номер 94-10.04.— Минск, 2004.
31. Shapiro N., Nowell M., Talmor D. // *Acad. Emerg. Med.*— 2005.— Vol. 12, № 1.— P. 352—359.
32. Клинический протокол диагностики, лечения и реабилитации детского и взрослого населения с термическими поражениями и их последствиями.— Приказ МЗ РБ № 781.
33. Теоретические предпосылки и практические основы нутриционной поддержки в клинике критических состояний / Под общ. ред. Л. В. Усенко, Л. А. Мальцевой.— Днепрпетровск, 2008.
34. Egi M., Bellomo R., Stachowski E., et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 2006.— Vol. 173.— P. 407—413.
35. Gore D. C., Chinkes D. L., Hart D. W., et al. // *Crit. Care Med.*— 2002.— Vol. 30, № 11.— P. 2438—2442.
36. Donmoyer C. M. et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*— 2003.— Vol. 284.— P. 574—582.
37. Das U. N. // *Nutritional.*— 2001.— Vol. 17.— P. 409—413.
38. Gandhi G. Y., Nutall G. A., Abel M. D., et al. // *Ann. Intern. Med.*—2007.— Vol. 146.— P. 233—243.
39. Grey N. J., Perdrized G. A. // *Endocr. Pract.*—2004.— Vol. 10 (Suppl. 2).— P. 46—52.
40. Shalvir S., Alkafaji A., Montgomery H. // *Chest.*—2006.— Vol. 129.— P. 800—804.
41. Krinsky J. S., Crover A. // *Crit. Care Med.*—2007.— Vol. 35.— P. 2262—2267.
42. Mechanick J. I., Handelsman Y., Bloomgarden Z. T. // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*—2007.— Vol. 10.— P. 193—196.
43. Reed C. C., Stewart R. M., Sherman M., et al. // *J. Am. Coll. Surg.*— 2007.— Vol. 204.— P. 1048—1054.
44. Hirshberg E., Larsen G., Van Duker H. // *Pediatr. Crit. Care Med.*— 2008.— Vol. 9.— P. 361—366.
45. Inzucchi S. E., Siegel M. D. // *N. Engl. J. Med.*—2009.— Vol. 360.— P. 1346—1349.
46. Dossett L. A., Cao H., Mowery N. T., et al. // *Am. Surg.*— 2008.— Vol. 74.— P. 679—685.
47. Barret J. P., Herndon D. N. // *Arch. Surg.*— 2003.— Vol. 138, № 2.— P. 127—132.
48. Хмельницкая Н. А., Саматов Н. Ю., Ровина А. К. // *Скорая мед. помощь.*— 2006.— Т. 7, № 3.— С. 98—99.

Поступила 06.09.10.

CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS IN PATIENTS WITH EXTENDED BURNS

O. N. Potchepen, I. E. Shimansky, L. V. Zolotukhina

Objective. To study effect of metabolic disorders complex correction by an adequate substrate and energetic support (SES) under glycemia control on the disease severity and duration and the patient lethality in case of severe thermal trauma.

Materials and methods. A randomized one-center study involving 214 patients aged 15 to 60 years having entered the Republican Burn Center (RBC) in 2001 – 2009 for extended burns was performed. The index of the damage severity (IDS) was 30 to 180 U (the prognosis is considered unfavorable when IDS exceeds 90 U). The control group included 83 patients, the basic group – 131 patients. The hemodynamic, aqueous and electrolyte balances were restored in every patient using Parkland's formula. The intensive therapy regimes differed in the basic and the control groups by the glycemic levels control and the SES performed characteristics as well as by the indications for prescribing glucocorticosteroid substitutive therapy.

Results. The complex intensive therapy in the basic group was performed in accordance with the instructions and protocols developed. The criteria for the method efficiency were the following: normal glycemia on the background of glucose infusion with the rate 0.2 – 0.25 g/kg/h, glucosuria absence, urine urea excretion reduction, proteinemia growth, potassium balance restoration, the pathologic hyperdynamics correction the arteriovenous difference being optimized according O₂ and CO₂ values, the peripheral lymphocyte number increase, the wound regeneration processes activation. That method application in the group of patients having IDS 30 – 60 U allowed reduce the DITR stay from 19.6±2.32 to 12.6±1.56 days (P<0,005) the lethality rate unchanged. In the group of patients having IDS 61 – 90 U the number of bacteremia cases reduced almost twice (from 100% to 54.5%, P<0.05) and the lethality rate reduced from 45.7% to 27.9%, agreement criterion c² (P=0,03). A significant lethality level reduction was observed the group of patients with supercritical burns (IDS 100 – 180 U). The proposed algorithm application in the group of patients having IDS exceeding 90 U allowed reduce the lethality level from 80% to 56.8%, c² (P=0,001).

Conclusion. The hormonal and metabolic disorder adequate and timely correction in patients in a critical state caused by a thermal trauma should become an important method equal to restoration of the adequate gas exchange, hemodynamics, hydro-ion balance, base-acid status.

Key words: thermal trauma, hypermetabolism, glycemia control, substrate and energetic support.



Л. П. ТИТОВ

МЕНИНГОКОККОВАЯ ИНФЕКЦИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

После относительно благоприятного снижения частоты менингококковой инфекции с 2009 г. отмечается подъем заболеваемости. Об активности эпидемического процесса косвенно свидетельствует высокое разнообразие генетических и серологических клональных комплексов, серогрупп и серотипов возбудителя. Обеспечить регулярный мониторинг и прогнозировать эпидемиологическую ситуацию позволит внедрение современных молекулярных методов. Генотипирование, основанное на анализе нуклеотидных последовательностей, даст возможность проследить передачу возбудителя, расшифровать вспышку, дифференцировать индигенные случаи от завозных, исследовать молекулярную эволюцию, определить анцестора и датировать время его возникновения на территории.

Ключевые слова: менингококковая инфекция, возбудитель, современные молекулярные методы.

Менингококковая инфекция является проблемой глобального масштаба, занимает одно из ведущих мест среди антропонозов бактериальной природы и фактически является главной инфекцией детского возраста [1, 2]. Возбудитель — грамотрицательный капсульный диплококк, принадлежащий к семейству *Neisseriaceae*, роду *Neisseria*, вид — *Neisseria meningitidis*, в ходе эволюции адаптировавшийся к репродукции на слизистой оболочке носоглотки человека. В 1879 г. А. Neisser первым идентифицировал диплококк в лейкоцитах уретрального экссудата, впоследствии названный гонококком. В 1887 г. А. Weichselbaum из цереброспинальной жидкости у 6 из 8 погибших от менингита больных выделил грамотрицательный диплококк, также отнесенный к роду *Neisseria*, *N. meningitidis* (менингококк). Человек (больной или бактерионоситель) является единственным источником инфекции. Бактерии репродуцируются на слизистой оболочке задней стенки носоглотки или верхних дыхательных путей. Инфицирование происходит воздушно-капельным путем при тесном контакте, кашле, чихании [3—6].

Бактерионосительство менингококка среди населения колеблется от 3 до 25%, в холодное время года возрастает до 30%, а в период эпидемии может достигать 90%. Частота носительства менингококка ассоциируется с возрастом: у детей 2 лет составляет 4%, в 10 лет — 6%, в 17 лет — 15%, к 40 годам снижается до 8% и в 60 лет не превышает 5% [3,5]. Только у ограниченного числа лиц (около 1%) *N. meningitidis* пенетрирует слизистую оболочку и проникает в кровоток, вызывая системное заболевание.

Эпидемический цереброспинальный менингит встречается повсеместно с частотой от 0,3 до 10 и более

случаев на 100 тыс. населения, преимущественно в холодное время года [6]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно в мире регистрируется до 1,2 млн случаев генерализованных форм менингококковой инфекции (менингит, менингококковый сепсис), летальность при этом составляет примерно 13%, то есть от данной инфекции ежегодно погибает около 135 тыс. человек, более половины из них — дети [7]. В отдельных регионах мира — Буркина Фасо, Нигер, Эфиопия, Бенин, Судан (страны так называемого африканского менингитного пояса) — заболеваемость и летальность от инфекции особенно высоки. Например, в Нигерии в течение последней эпидемии менингококковой инфекции было зарегистрировано 4164 случая и 171 летальный исход в течение одной недели. В ряде стран Европы (Исландия, Ирландия, Шотландия) заболеваемость составляет 6—13 случаев на 100 тыс. человек. В Англии, Бельгии и Голландии — 3—6, в США — 0,53, а в Италии — 0,3 случая на 100 тыс. населения. В 2009 г. в Российской Федерации она снизилась до 1,9 случая на 100 тыс. человек (в Архангельской области, например, заболеваемость менингококковой инфекцией в 1991 г. регистрировалась на уровне 6,6 случая на 100 тыс. населения, а в 2007 г. — уже 1,9), в Республике Беларусь — 1,2 [8].

Инфекция имеет давнюю историю распространения и тесно связана с эволюцией человека. Первые описания случаев менингококковой инфекции в Европе и Северной Америке датируются 1805-м годом, а в Африке — 1905-м. [7, 9]. Возможно, что суммарная популяция менингококка, самовоспроизводящаяся на слизистой оболочке дыхательного тракта, произошла от одной или нескольких предковых генетических линий, которые ассоциировались с миграцией первых групп древних людей из Африки, постепенно расселившихся на европейском и других континентах [10, 11].

Можно предположить, что эволюционирующие вместе с популяцией человека клоны менингококка имеют древнее происхождение [10, 12].

Геномическая характеристика менингококков. Пластичность вида, его приспособляемость к изменяющимся условиям внешней среды определяются генетической неоднородностью или гетерогенностью популяции возбудителя. В последние годы получено множество тому доказательств на геномном уровне. Геном *N. meningitidis* варьиабелен по размеру и состоит примерно из 2,18—2,3 млн пар оснований и содержит порядка 2046—2225 генов (рис. 1) [13—15].

Содержание G+C составляет 51,0%, имеется 2158 открытых рамок считывания (83% генома), для 1158 из которых установлена биологическая роль. Геном содержит четыре рибосомальных оперона (pРНК, 71—72 структурных РНК) и 59 tРНК специфичных всем 20 аминокислотам. Идентифицировано 234 семейства белков, включающих 678 белков (32% от общего числа).

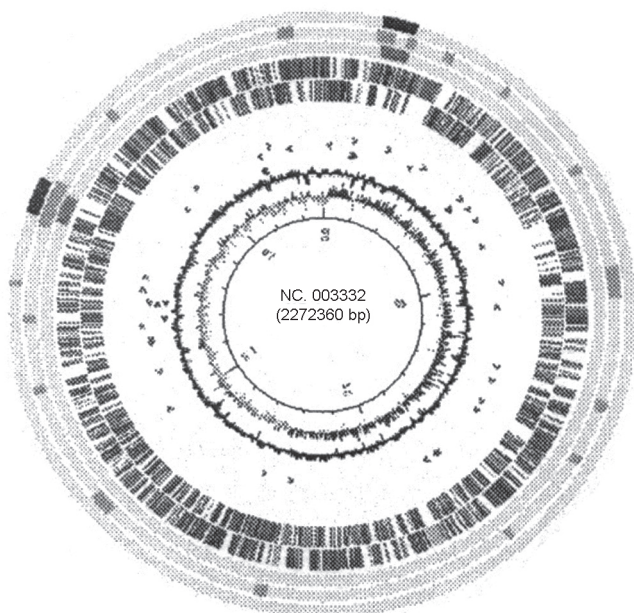


Рис. 1. Геном менингококка (штамм MC58)

Установлен 51 инсерционный элемент (22 интактных). Наиболее часто выявляются IS3, IS5, IS30, IS110 и две группы неклассифицированных семейств, близких к IS1016. Секвенирование геномов изолятов менингококка от больных и носителей из разных регионов мира стремительно возрастает. Был выполнен филогенетический анализ 5 геномов (рис. 2) штаммов менингококка — 053442 (серогруппа C, Китай, ST-4821), Z2491 (выделен от больного, серогруппа A, ST-4); FAM18 (выделен от больного, серогруппа C, ST-11), MC58 (выделен от больного, серогруппа B, ST-32), альфа-14 (выделен от носителей, *sp1*, ST-53) [13—15]. Установлено, что их геномы характеризуются относительно близким разме-

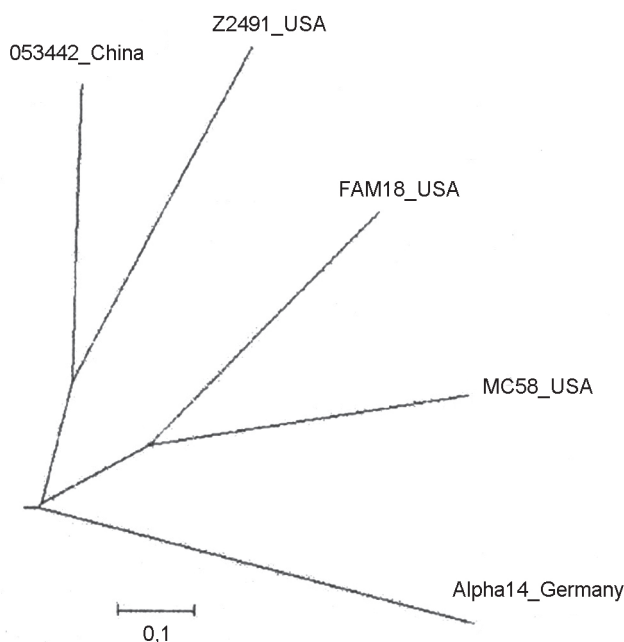


Рис. 2. Дендрогрaмма на основе 5 полных геномов штаммов менингококка

ром, но вместе с тем имеют различия по определенным группам генов, их локализации в хромосоме. Геном бескапсульного изолята менингококка от бактерионосителя в Германии (альфа-14) является анцесторным (предковым) по отношению к геномам менингококков серогрупп A, B и C, выделенных от больных. Геном штамма MC58 серогруппы B на 91,2% гомологичен таковому из серогруппы A. В его геноме отсутствуют многие гены, которые детерминируют вирулентность микроорганизма. Геномы вирулентных менингококков содержат IS элементы для встраивания филаментозного профага *Nfl*, обычно присутствующего в геноме гипервирулентных штаммов. Анализ геномов также указывает на высокую степень внутривидовых генетических рекомбинаций, а совокупный геном (пангеном) микроба представляет собой открытую систему и новые гены вследствие генетических межвидовых рекомбинаций постоянно добавляются в геномы циркулирующих среди населения штаммов. Менингококки также являются обладателями уникального механизма рецепторно-опосредованного захвата фрагментов геномов (отдельных генов или оперонов) других представителей рода *Neisseria* из окружающей среды. Он заключается в распознавании относительно коротких (до 10 000) повторяющихся нуклеотидных последовательностей, характерных для генетического материала нейссерий [10]. Таким образом, можно говорить о наличии «базового генома» менингококка или его «нулевой модели», содержащей совокупность генов, определяющих вид, которая может приобретать от особей гомологичных или гетерологичных близкородственных бактерий того же биотопа определенные гены (резистентности, вирулентности) механизмами генетических рекомбинаций. Хотя функции многих генов менингококков еще неизвестны, среди них можно выделить уникальные специфичные участки, а содержащуюся в них информацию использовать в диагностических или профилактических целях (для создания тест-систем или вакцин) [16, 17].

Мультилокусное сиквенс-типирование менингококков. В 2000 г. впервые были секвенированы полные геномы менингококков серогрупп A и B, что дало мощный толчок развитию молекулярной эпидемиологии, геномики и протеомики нейссерий [13—15]. В базе данных MLST (по состоянию на 20.07.2010) представлено 17587 изолятов, 6902 сиквенса и 8438 профилей. Для молекулярно-генетического мониторинга популяции менингококка, выявления клонов или клональных комплексов, преимущественно распространенных и лидирующих по числу вызванных ими случаев заболевания и летальных исходов, то есть представляющих повышенную эпидемиологическую опасность, используются новые методы слежения на основе выявления замещений (мутаций) нуклеотидов в генах, белковые продукты которых не подвержены влиянию иммунологического пресса. Обычно это гены, кодирующие белки, которые участвуют в обеспечении функционирования генома и базовых ферментативных процессах. Среди множества генов жизнеобеспечения микроорганиз-

ма выделяют гены «домашнего хозяйства» (хаускипинг-гены). У менингококков с этой целью выбраны следующие: *adh* (аденилатциклаза, 339 аллелей), *gdh* (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 538 аллелей), *agoE* (шикиматдегидрогеназа, 566 аллелей), *abcZ* (предположительно-ABC-переносчик, 510 аллелей), *pdhC* (субъединица пируватдегидрогеназы, 533 аллели), *pgm* (фосфоглюкомутаза, 528 аллелей), *fumC* (фумаратгидратаза, 510 аллелей) [6, 16, 18—20]. Они отвечают за внутриклеточный метаболизм (обеспечивают процессы гликолиза, биосинтеза аминокислот и нуклеотидов, катаболизм белков и т. п.). Несмотря на использование нескольких методов молекулярного типирования менингококков (пульс-электрофорез, полиморфизм длины фрагментов рестрикции) мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) является золотым стандартом молекулярной эпидемиологии менингококковой инфекции. Метод является стандартным и технологичным, облегчает сравнение результатов между лабораториями и/или информацией базы данных (<http://pubmlst.org/neisseria/>). Он базируется на постановке ПЦР с соответствующими стандартными праймерами, что позволяет амплифицировать и секвенировать гены без дополнительного культивирования микроба. Схема проведения мультилокусного сиквенс-типирования приведена на рис. 3. На первом этапе необходимо получить ДНК исследуемого изолята от больного, бактерионосителя или контактного лица. Посредством постановки ПЦР с праймерами к фрагментам указанных генов осуществляют амплификацию фрагментов длиной 450—500 пар оснований, в которых затем с помощью секвенирования устанавливают последовательность нуклеотидов [20—22].

Каждой последовательности присваивается номер аллели. Набор аллелей по фрагментам 7 генов образует аллельный профиль (упорядоченную последовательность цифр, соответствующих аллелям) (табл. 1). Каждому аллельному профилю присваивается свой номер или сиквенс-тип (СТ, ST). Например, сиквенс-типу 1

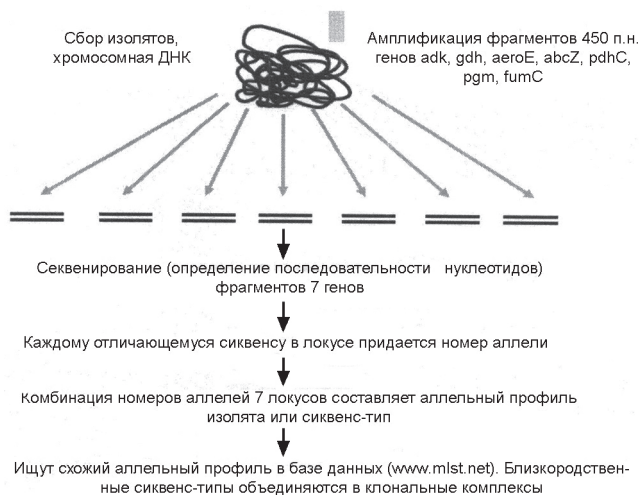


Рис. 3. Этапы проведения мультилокусного сиквенс-типирования

Таблица 1

Последовательности нуклеотидов секвенированных фрагментов генов, определение аллельного профиля и сиквенс-типа

Локус 1	Локус 2	Локус 3	Локус 4	Локус 5	Локус 6	Локус 7	СТ
ACGT	GCCT	TACG	AATC	CCTA	TTCA	CAGG	
1	1	1	1	1	1	1	1
ACGT	GCCA	TACG	AATC	GTAC	TTCA	CACG	
1	2	1	1	2	1	1	2
ACGT	GCCA	TACG	AATC	AATA	TTCA	CACG	
1	2	1	1	3	1	1	3

соответствует аллельный профиль — 1,1,1,1,1,1,1; сиквенс-типу 2 — 1,2,1,1,2,1,1; сиквенс-типу 3 — 1,2,1,1,3,1,1. Биоинформатический анализ генетической структуры популяции менингококка, циркулирующей на территории административного района, отдельной страны, крупного региона или континента, проводится с помощью компьютерных программ по специальному алгоритму кластеризации BURST (Based Upon Related Sequence Types) или BEAST (Bayesian evolutionary analysis by sampling trees) [22, 23].

Каждый из исследуемых генов характеризуется разным числом аллелей и разной скоростью эволюции. Хотя изменения в структуре хаускипинг-генов, вызванные как точечными мутациями, так и рекомбинационными процессами, являются нейтральными, такие процессы приводят к важным изменениям небольших сегментов генома и появлению высокоинвазивных и более вирулентных клональных вариантов. В настоящее время база данных MLST интенсивно пополняется новыми изолятами, аллелями и профилями, которые объединяются в 57 клональных комплексов [6, 18, 19, 21].

Результаты математической обработки данных MLST представляются в виде связанных клональных комплексов с обозначением генетического расстояния между ними. В популяции человека, населяющей страны европейского континента, доминируют несколько циркулирующих и вызывающих спорадические случаи и вспышки эпидемического цереброспинального менингита клональных комплексов гиперинвазивных менингококков. Изоляты от больных, у которых выявлена менингококковая инфекция в Великобритании, относились к ST-41/44, ST-269, ST-32, ST-213 и ST-11; в Шотландии — к ST-41/44, ST-8, ST-35, ST-22, ST-53, ST-269, ST-213, ST-254. Менингококки, выделенные от больных во Франции, принадлежали к клональному комплексу ST-11, в Испании — к ST-8, ST-11, ST-32, ST-41/44, ST-269; в Греции — к ST-269 и ST-32; в Чехии — к ST-11, ST-18, ST-41/44, ST-32. Из приведенных данных следует, что наиболее широко циркулируют штаммы менингококка, принадлежащие к клональным комплексам ST-41/44, ST-8, ST-11, ST-32, ST-269. Кроме того, прослеживается ассоциация некоторых из них с полом (ST-8 — среди женщин, ST-213 — среди мужчин) и возрастом пациентов (ST-11 — у детей до 5 лет, ST-32 — у детей и подростков до 14 лет, ST-53 — у взрослых до 40 лет и более). Для стран африканского менингитного пояса характерна несколько иная структура циркулирующих сиквенс-типов и кло-

нальных комплексов менингококка. От пациентов с менингококковой инфекцией в Буркина Фасо выделены возбудители серогруппы А, принадлежащие к клональным комплексам ST-2859, ST-6968; в Нигере — к ST-7, ST-2859; в Того — к ST-2859, ST-2881, ST-181; в Бенине — к ST-2881, ST-767, ST-181; в Чаде — к ST-11, ST-2881 и в Камеруне — к ST-2881, ST-11. В странах Латинской Америки (Аргентина, Бразилия) выявлена циркуляция менингококков, принадлежащих к клональным комплексам ST-37 и ST-11[1].

Серотипирование. Антигенная характеристика популяции менингококка обусловлена как ее генетической структурой, так и складывающимися взаимоотношениями с популяцией человека [5]. На изменение антигенной структуры популяции микроба сильное влияние оказывает наличие в сыворотке крови и секрете слизистой оболочки дыхательных путей населения высокоаффинных антител к поверхностным антигенам. Коллективный иммунитет против менингококка (иммунологический пресс) оказывает влияние на антигенную структуру популяции возбудителя. Особое значение данное явление имеет для планирования программ иммунизации и оценки изменений в результате их применения. Серотипирование менингококков представляется одним из ключевых элементов эпидемиологического надзора за инфекцией и индикаторным параметром генетической динамики популяции возбудителя инфекции, его эпидемического потенциала [3, 4]. Существует чрезвычайное разнообразие и вариабельность серогрупповой принадлежности возбудителя в зависимости от времени и географических регионов распространения. Идентифицировано 13 серологических групп менингококка, но подавляющее число случаев инвазивных форм менингококковой инфекции вызывается девятью, среди них — А, В, С, Y, X и W-135. Химическая композиция полимеров капсулы основных серогрупп менингококка представлена в табл. 2.

Серогруппа А менингококков ассоциирована с эпидемическими случаями инфекции в странах африканского менингитного пояса, в США и Европе менингококки этой группы вызывают спорадические случаи (табл. 3).

Менингококки внутри серогрупп на основании различий в химическом строении поверхностных антигенов подразделяются на серотипы и субтипы, определение которых имеет значение для совершенства

Таблица 2

Строение полимеров капсулы менингококков основных серологических групп

Серо-группа	Химическое строение полимеров капсульного вещества
А	Частично О-ацетилованный 2-ацетамид-2-дезоксид-манноза-6-фосфат
В	Альфа (2→8)-N-ацетилнейраминавая (полисиаловая) кислота
С	Альфа (2→9)-N-ацетилнейраминавая кислота
Y	О-ацетилованная D-глюкоза и N-ацетилнейраминавая кислота
X	Альфа (2→4)-2-ацетамид-2-дезоксид-D-глюкопираноза
W-135	D-галактоза и N-ацетилнейраминавая кислота

Таблица 3

Серогрупповая структура популяции менингококков в разных странах

Страна	Серогруппа, %					Год
	А	В	С	W-135	Y	
Аргентина	0	69,6	4,5	38,9	4,5	2008
Беларусь	16,0	68,0	8,0	0	0	2010
Бразилия	9,0	63,0	31,0	2,8	?	2008
Германия	0	69,1	28,6	1,2	1,2	2008
Польша	3,0	51,0	44,0	1,5	0,5	2008
Россия	36,1	24,1	18,5	?	?	2006
Архангельск	2,0	22,1	17,3	0,8	1,1	2007
Санкт-Петербург	8,3	62,5	25,9	3,3	сумма ост.	2007
Франция	1,0	67,0	24,0	3,0	4,0	2008
Швеция	0	37,2	34,8	4,6	20,9	2007

ния системы эпиднадзора за инфекцией, включая планирование мероприятий по иммунопрофилактике. По строению поринов наружной мембраны PorA и PorB менингококки делятся более чем на 20 серотипов. По антигенным различиям липополисахаридов (ЛПС) выделяют 13 иммунотипов. Наличие у изолятов 2-го, 4-го, 15-го или 16-го типов оценивается в качестве маркеров вирулентности, так как менингококки таких серотипов выявляются преимущественно в период подъема заболеваемости или при вспышках [17, 19, 20]. При серологическом типировании менингококков определяют серогруппу, серотип, субтип и субсеротип. Например, В:2а:Р1,2:L3,7, что означает: штамм менингококка относится к серогруппе В, серотипу 2а, субтипу 1,2, иммунотипу 3,7 [24, 25, 27, 28].

Факторы риска. В качестве факторов риска многие авторы рассматривают массу тела при рождении ребенка, иммунодефицитные состояния и иммуногенетическую структуру индивидуума и популяции, возраст, пол, курение, сезонность, респираторные инфекции, нарушение слуха и социально-экономические факторы [29, 30, 33]. Выявлен высокий дополнительный риск между массой тела ребенка при рождении (менее 2500 г) и развитием менингококкового менингита. Данная тенденция прослеживается в первый год жизни и на протяжении всего детства. Если у ребенка отсутствуют в сыворотке крови антитела и антиген-специфические клоны Т-лимфоцитов, то основными механизмами защиты являются неспецифические — комплементзависимый бактериолиз и фагоцитарная реакция нейтрофилов [7, 31, 32]. Отсутствие продукции специфических антител, гипогаммаглобулинемия, генетические варианты маннозосвязывающего белка, пропердина, Fc-гамма рецепторов II (CD32) и III (CD16) типов, дефекты поздних компонентов комплемента C5-C9, толл-рецептора 4-го типа, приобретенная иммуносупрессия вследствие спленэктомии, ВИЧ-инфекции и поражений почек ассоциируются с высокой степенью предрасположенности к инфекции [29, 31, 34]. Дети с дефектами слуха и перенесенными операциями по восстановлению слуха также восприимчивы к инфекции, так как открывается близкий путь для проникновения микроба в ЦНС (больше характерно для пневмококка).

Заболеемость и летальность от менингококковой инфекции ассоциируется и с возрастом пациентов. В первые месяцы жизни новорожденного случаи инфекции относительно редки, затем к 3—4 мес, когда эффективность материнского гуморального иммунитета заметно снижается, заболеемость повышается [33, 34]. В развивающихся странах мира первый пик заболеемости, наиболее высокий, отмечается у детей младше 5 лет, второй, несколько меньший, — среди подростков. Второй пик заболеемости у подростков обусловлен стилем жизни (тесные контакты, поцелуи, курение). Заболеемость и летальность от менингококковой инфекции среди взрослых ассоциируется, как правило, с тяжестью течения других возрастных заболеваний, которые снижают защитный потенциал иммунной системы индивидуума [34]. Курение (пассивное и активное) — один из предрасполагающих к развитию менингококковой инфекции фактор. Так, в США и Чехии получены данные, что существует высокий дополнительный риск развития менингококковой инфекции у детей, родители которых курят. Курение снижает уровень продукции секреторного иммуноглобулина А, повреждает респираторный эпителий, снижает функциональные резервы гуморального и клеточного иммунитета.

Есть данные о связи климатических условий региона с частотой развития менингококковой инфекции. Высокая влажность, пониженная температура воздуха ассоциируются с возникновением вспышек менингококковой инфекции, вызванной серогруппой В менингококка в Новой Зеландии и Дании. В Дании неблагоприятный период длится с декабря по апрель. Климатические факторы разной степени выраженности оказывают влияние на состояние слизистой оболочки дыхательных путей: вызывают покраснение, воспаление слизистой оболочки носоглотки, присоединение респираторной вирусной инфекции (гриппа), что способствует усиленной репродукции менингококка и облегчает его передачу. В странах африканского менингитного пояса факторами, способствующими поддержанию заболеемости на высоком уровне (до 1000 случаев на 100 тыс. населения), являются сухой сезон (с января по июнь), запыленность воздуха, плохие условия жизни, демографическая ситуация, иммунодефицитные состояния и др. Зимой у людей, как правило, отмечается недостаток витамина D, участвующего в регуляции многих функций иммунной системы. Туризм, внутри- и межконтинентальная миграция людей также повышают риск инфицирования во время пребывания в странах с высоким уровнем заболеемости. В процесс распространения инфекции активно вовлечены отдельные группы лиц или коллективов — дошкольники, школьники, студенты, призывники, заключенные [33, 34].

Факторы патогенности. Факторами патогенности менингококков являются капсула, белки наружной мембраны, липополисахарид, белковые антигены, ферменты, обеспечивающие инвазию, — гиалуронидаза, протеаза, фибринолизин, нейраминидаза, эндотоксин, освобождающийся при гибели возбудителя и обладающий пирогенным, некротическим и летальным дей-

ствием, токсический фактор-IgA — протеаза, которая расщепляет и инактивирует молекулы IgAs [26]. Почти все факторы вирулентности бактерий регулируются генетически, при этом их экспрессия связана с различными сигналами окружающей среды (температура, концентрация ионов, содержание железа, осмолярность, pH и др.) [4].

Капсула менингококков защищает от фагоцитоза полиморфно-ядерными гранулоцитами, предохраняет от бактерицидного действия факторов сыворотки, ингибируя активацию комплемента и опсонизацию. Кластер генов, ответственный за синтез капсулы, включает 5 регионов: регион А содержит гены, кодирующие синтез полисахаридов, гены региона В отвечают за модификацию липидов, гены региона С контролируют транспортировку полисахаридов, гены региона D вовлечены в синтез липополисахарида, а регион Е содержит *tex* ген. Ген *ctrA* является консервативным и используется как маркер для детекции микроба [4, 34].

Наружная мембрана менингококка играет важную роль в патогенезе болезни и иммунитете. В состав белков наружной мембраны входят порины, липопротейны и более 10 второстепенных белков. Порины обеспечивают адаптацию бактерий, участвуют в адгезии, модулируют иммунновоспалительную реакцию, индуцируют выброс IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF, IFN- γ , активируют систему комплемента и индуцируют апоптоз. PorA формируют 1-й класс белков наружной мембраны, PorB — 2-й и 3-й классы [7, 36].

ЛПС является основным компонентом внешней оболочки грамотрицательных бактерий, состоит из иммуногенной полисахаридной части и консервативной липидной, именуемой липидом А. Последний выступает в качестве основного структурного компонента клеточной стенки, ответственного за токсичность. Высвобождаясь при разрушении бактерии в кровь, вызывает ряд системных эффектов, приводящих к некрозу тканей, внутрисосудистому свертыванию крови и интоксикации. При высвобождении высоких концентраций ЛПС в кровь развивается тяжелое течение болезни в форме инфекционно-токсического шока [30, 31].

Молекулярный патогенез. Патогенез заболевания включает ряд этапов взаимодействия молекулярных паттернов патогена с рецепторами клеток и белков хозяина. Адгезия к эпителию бескапсульных вариантов менингококка осуществляется путем связывания поверхностного белка пилей бактериальной клетки с мембранной молекулой CD46 эпителиоцитов и колонизации носоглотки. Молекула CD46 — регуляторный белок системы комплемента — является также рецептором для вируса кори (штамм Эдмонстон) и вируса герпеса 6-го типа, которые, как известно, обладают нейротропностью [4]. Капсульные формы бактерий на этом этапе взаимодействия с человеком используют механизм генетического выключения капсулообразования, то есть в течение последующих генераций они становятся бескапсульными. Роль пилей как молекул прикрепления на следующих этапах не столь важна, так как процесс колонизации происходит в форме пленкообразования

в первые 12—18 ч после инфицирования. Биопленка на слизистой оболочке носоглотки формируется посредством связывания рецепторов микроба с железосодержащими белками внеклеточного матрикса — трансферрином и лактоферрином [1, 7]. В качестве рецепторов выступают поверхностные белки менингококка, связывающие трансферрин (ThrA, ThrB) и лактоферрин (LpA, LpB), а также белок наружной мембраны, взаимодействующий с адгезивными молекулами эпителиоцитов — СЕСАМ и CD66. В организме человека содержание железа относительно невысокое, у отдельных людей отмечается его недостаток. Менингококк нуждается в ионах железа и удовлетворяет потребность в нем за счет содержащегося в организме хозяина, активируя экспрессию генов, отвечающих за вирулентность. Менингококки в биопленке слизистой заключены в сеть внеклеточного белкового матрикса, не образуют капсулу, располагаются в виде столбиков (микроролоний), защищены от воздействия внешних факторов, выделяют продукты жизнедеятельности (липополисахариды, сериновые эндопротеазы), взаимодействующие с белками и клеточными элементами слизистой, что приводит к локальному воспалению слизистой оболочки носоглотки (назофарингит). Биопленка способствует персистенции (бактерионосительство) микроба в организме человека, внутри- и межвидовому обмену генетическим материалом, поддерживает передачу возбудителя контактным лицам и его циркуляцию среди населения [10, 34].

Проникновение *N. meningitidis* в клетку связывается с продукцией гиалуронидазы, которая расщепляет гиалуроновую кислоту, входящую в состав межклеточного вещества, и повышает проницаемость слизистых оболочек и соединительной ткани. Фермент нейраминидаза способствует проникновению возбудителя в ткани, расщепляет нейраминную кислоту, которая входит в состав поверхностных рецепторов клеток слизистых оболочек. IgA1-протеаза расщепляет лизосомальный мембранный протеин и способствует выживаемости *N. meningitidis* в эпителиальных клетках. Белок наружной мембраны PorB блокирует созревание и формирование фаголизосом нейтрофилов. У пациентов с назофарингитом возможна инвазия микроба в подслизистый слой, лимфатическую систему, кровь и генерализация процесса в виде септицемии, с последующим преодолением гематоэнцефалического барьера, проникновением в ЦНС и развитием гнойного воспаления мозговых оболочек — цереброспинального менингита. В субарахноидальное пространство *N. meningitidis* проникает, минуя эндотелий гематоэнцефалического барьера, через околушное сплетение бокового желудочка [26, 34].

При проникновении в кровь бактерий или их компонентов, эндотелиоциты сосудов крови экспрессируют на мембране толл-рецепторы 2-го, 4-го и 9-го типов, распознающие молекулярные структуры (паттерны) менингококков, и в ответ продуцируют провоспалительные цитокины (α -ФНО, IL-1, IL-6 и др.), а также оксид азота (NO). На этом этапе вновь включается экспрессия генов, контролирующая капсулообразование [34].

Контроль менингококковой инфекции средствами иммунопрофилактики. Первая менингококковая вакцина была лицензирована в США в 1974 г. Первичная профилактика новых случаев заболеваний как ключевой механизм контроля менингококковой инфекции видится посредством внедрения в практику здравоохранения эффективной программы вакцинации [35, 36]. В конце 2005 г. шесть европейских стран внедрили в практику здравоохранения иммунизацию против менингококка серогруппы С конъюгированной полисахаридной вакциной (МСС). Лицензирована тетравалентная менингококковая вакцина против менингококков четырех серогрупп А, С, W-135, Y (ACWY) [1, 7]. В странах Западной Европы после внедрения в практику рутинной иммунизации групп риска МСС частота случаев заболеваний, вызванных серогруппой С возбудителя, прогрессивно снижалась и стали доминировать случаи инфекции, обусловленные менингококком серогруппы В. Среди новорожденных число случаев элиминировано более чем на 90%, а у лиц 15—17 лет — на 82%. Опыт специалистов европейских стран показывает, что менингококковая вакцина является лучшим методом предупреждения менингококковых заболеваний. МСС играет важнейшую роль в профилактике заболевания на протяжении десятилетий, безопасна и эффективна в контроле вспышек и эпидемий. Менингококковые полисахаридные неконъюгированные вакцины не индуцируют эффективный иммунный ответ у детей до 2 лет, в то время как менингококковые полисахаридные конъюгированные с белком-носителем (дифтерийный и столбнячный анатоксины, CRM197) вакцины индуцируют гуморальный иммунный ответ, образование антител и В-, Т-клеток памяти, обеспечивая хороший анамнестический (бустерный) ответ на введение повторной дозы. Комбинированная тетравалентная вакцина индуцирует выработку эффективного иммунитета у 75—90% иммунизированных детей старше 2 лет. Кроме того, иммунизация обеспечивает усиление антибактериального локального иммунитета слизистых оболочек носоглотки у вакцинированных лиц, угнетение колонизации их менингококком, что и приводит к снижению числа носителей и интенсивности передачи возбудителя в популяции. Вакцина не оказывает влияния на эпидемический процесс, обусловленный распространением менингококка серогруппы В, а индуцированный иммунитет длится от 2 до 5 лет. Менингококковая инфекция (серогруппа В) встречается повсеместно как в эпидемической, так и в спорадической форме, вызывая случаи инфекции и летальности среди новорожденных. В 1999 г. в Англии была зарегистрирована первая конъюгированная вакцина против менингококка С и в 2000 г. она была включена в календарь прививок (табл. 4). Квадривалентная полисахаридная менингококковая вакцина рекомендована комитетом по вакцинации США для иммунизации подростков в возрасте 11—12 лет [7].

Вакцины против менингококков серогруппы В. Опыт применения полисахаридной вакцины ACWY показал, что так обеспечивается контроль менингококковой инфекции, обусловленной возбудителями указан-

Таблица 4

Применение вакцины против менингококковой инфекции

Страна	Первая прививка, (мес)	Бустер, лет	Начало (год)
Англия	2, 3, 4	18—24	1999
Ирландия	2, 4, 6	до 23	2000
Испания	2, 4, 6	6	2000
Нидерланды	14	1—19	2002
Бельгия	12	1—5/1—18	2002
Исландия	6, 8	до 20	2002
Португалия	3, 5, 15	до 18	2006

ных серогрупп. Однако это приводит и к изменению серогрупповой структуры циркулирующих менингококков с преобладанием представителей серогруппы В. Исследователи считают, что это ставит новую задачу — внедрить в практику новую вакцину против серогруппы В. В середине 80-х годов XX века Норвежский институт здоровья разработал вакцину против менингококка В на основе белка PoreA и провакцинировал 100 тыс. подростков. Аналогичная вакцина также была разработана Центром биотехнологии Кубы. Обе вакцины показали достаточно хорошую иммуногенность и протективность в 50—80% случаев. Однако у детей до 4 лет защитный эффект отмечался непродолжительное время и при этом не наблюдалось снижения бактерионосителей. В Новой Зеландии разработана вакцина на основе рекомбинантного PoreA белка менингококка серогруппы В [7, 24, 33].

Профилактика вторичных случаев менингококковой инфекции. Во многих странах мира (США, Великобритания, Австралия) разработаны и опубликованы руководства по профилактике и контролю менингококковых заболеваний, которые доступны on-line как для профессионалов, так и для населения. С точки зрения эпидемиологической терминологии взаимосвязанные случаи инфекции могут быть названы ассоциированными. Если два связанных случая возникли в первые 24 ч, они называются копервичными случаями, а если они возникли по истечении 24 ч — они называются первичными, вторичными, третичными случаями и т. д. [7, 33, 37]. Предупреждение вторичных случаев является чрезвычайно важной задачей практического здравоохранения. В этих целях в Дании используют следующий алгоритм: 1) выявление лиц, тесно контактировавших (контактных) в последние 10 дней с больным (совместное проживание, сон в одной постели, поцелуи в губы, уход за больным, включая медицинских сестер и др. работников здравоохранения); 2) проведение контактным лицам химиопрофилактики (предпочтительно в первые 24 ч) и информирования о ранних симптомах менингококковой инфекции; 3) для обеспечения достоверности микробиологической диагностики случая инфекции выделенную чистую культуру возбудителя *N. meningitidis* направляют в референс-лабораторию для молекулярно-генетического типирования, детекции генов резистентности и определения МИК к антибактериальным препаратам; 4) организация (обеспечение) профилактической вакцинации контактным лицам, ко-

торым была проведена химиопрофилактика (используют вакцину в соответствии с серогруппой выделенного от больного возбудителя).

Антибактериальные препараты для борьбы с менингококковой инфекцией используют в двух главных направлениях: антибиотикотерапия больных и химиопрофилактика вторичных случаев среди контактных лиц. Целью химиопрофилактики является элиминация носительства менингококка у чувствительного к патогену бактерионосителя до возможного развития инвазивной формы инфекции, что позволит снизить распространение возбудителя среди населения. Как показывают результаты проведенных в ряде стран исследований, химиопрофилактика на 89% снижает вторичные случаи в семье больного. Использование ципрофлоксацина, цефтреаксона и рифампицина является более эффективным по сравнению с ампициллином и миноциклином. Кроме того, применение первых двух препаратов предпочтительнее приема рифампицина, к которому у менингококков формируется резистентность. В последнее время было зарегистрировано снижение чувствительности *N. meningitidis*, выделенных от больных с менингококковой инфекцией в Республике Беларусь, к различным антимикробным препаратам [38]. Все штаммы (100%) были чувствительны к цефотаксиму, цефалору и амоксициллину, клавулановой кислоте. Высокой была чувствительность к цефуросиму и амоксициллину (92,3%). К амоксициллину чувствительность составила 92,3% (12 из 13 изолятов), ампициллину — 90,0% (9 из 10 изолятов), доксициклину — 87,5% и тетрациклину — 84,6%. Авторы статьи отмечают, что резистентность менингококков к антибактериальным препаратам в последние десятилетия возросла в несколько раз, что указывает на необходимость постоянно вести коллекцию изолятов от больных и бактерионосителей, определять чувствительность их к антибактериальным препаратам с помощью фенотипических и генотипических методов, выявлять клональное распространение резистентных форм менингококков.

Заключение

Острота проблемы менингококковой инфекции для здравоохранения и общества в целом в новом столетии не снижается. Отмечается ускорение эволюции популяции возбудителя. В настоящее время наблюдается высокое разнообразие его генетических и серологических клональных комплексов, серогрупп и серотипов, что косвенно свидетельствует об активности эпидемического процесса, нахождении патогенов в популяции человека, в условиях, благоприятных для репродукции биотопов. Эволюционный процесс возбудителя обеспечивается как за счет приобретения в результате горизонтального внутри- и межвидового переноса генов резистентности/вирулентности, то есть генетических рекомбинаций и распространения их в популяции, так и за счет мутационных изменений. Также следует отметить повсеместное и постоянно усиливающееся воздействие (давление) антропогенных факторов на популяцию менингококка — расширяющееся

применение антибиотиков и иммунизации, что также оказывает влияние на эволюционные процессы на уровне популяций микроорганизма. С середины XX века происходят не менее значимые эволюционные процессы и в популяции человека, которые можно расценивать как благоприятные для существования менингококков. В обществе возрастает доля лиц, имеющих те или иные врожденные или приобретенные дефекты иммунной системы, которые не позволяют организму препятствовать инвазии патогена во внутреннюю среду — кровь и ЦНС. Иными словами, доля лиц, восприимчивых к менингококку, увеличивается, а урбанизация, рост численности и плотности населения на планете создают предпосылки, способствующие передаче возбудителя. Важнейшей задачей современной медицинской науки и системы здравоохранения является обеспечение эффективного ответа на новые угрозы со стороны мира микробов. Поэтому разработка современных молекулярных подходов типирования менингококков, циркулирующих на территории страны, является одной из актуальных задач. Внедрение в широкую практику современных молекулярных методов, исследование гетерогенности популяции позволяют определить пространственную характеристику эпидпроцесса (генеогеографию), сделать возможным регулярный мониторинг и прогнозировать эпидемиологическую ситуацию. Генотипирование, основанное на анализе нуклеотидных последовательностей, позволяет проследить передачу возбудителя, расшифровать вспышку, дифференцировать индигенные случаи от завозных, исследовать молекулярную эволюцию, определить анцестора и датировать его возникновение на территории. Рассматриваемые подходы важны для создания в стране системы молекулярно-эпидемиологического мониторинга менингококковой инфекции. Впервые исследованы возможности мультилокусного сиквенс-типирования для молекулярной характеристики менингококков от больных и бактерионосителей, изучен полиморфизм 7 генов «домашнего хозяйства» (*adk*, *gdh*, *aroE*, *abcZ*, *rdhC*, *pgm*, *fumC*), показана гетерогенность популяции, проведен углубленный биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов генов и сравнение 5 полных геномов менингококка. Анализ показал, что существенный вклад в формирование внутривидового аллельного разнообразия менингококка вносят как общие, так и редкие аллели. Выявленные сиквенс-типы штаммов (ST-41/44, ST-11) имеют генетическое сходство с циркулирующими на территории России и Европы. Эпидемиологические данные свидетельствуют, что после относительно благоприятного снижения частоты менингококковой инфекции с 2009 г. отмечается некоторый подъем заболеваемости. Важно быстрое выявление (определение) случаев заболевания в соответствии с рекомендациями ВОЗ, раннее назначение пациенту антибактериальной и патогенетической терапии, обязательное лабораторное подтверждение случая болезни и предоставление лабораториями учреждений здравоохранения штаммов возбудителя для молекулярно-генетического типирования в

РНПЦ ЭМ. Для профилактики вторичных случаев инфекции контактным лицам необходимо применять эффективные антибиотики и вакцинацию. Как показывает эпидемическая обстановка и накопленный опыт иммунопрофилактики менингококковой инфекции в мире, вероятно, назрел вопрос о введении вакцинации детского населения конъюгированной вакциной против менингококка С или комбинированными — С+В, ACWY. Нельзя не отметить, что достаточно высокий процент летальности от инвазивных форм менингококковой инфекции связывают с поздним поступлением пациентов в стационар и, соответственно, поздним назначением этиопатогенетической терапии. Поэтому необходимо усиливать санитарно-просветительную работу среди населения, освещать в печати вопросы этиологии и эпидемиологии инфекции, обращать внимание родителей на ранние клинические симптомы и алгоритм действий в этой ситуации. Известно, что основным лимитирующим фактором является короткое время инкубационного периода (2—3 дня), время появления первых симптомов (головная боль, повышение температуры, ригидность шейных мышц и рвота) и стремительное развитие полной клинической картины и тяжелого состояния (септико-геморрагического синдрома).

ЛИТЕРАТУРА

1. Dinleyici E. C., Kurugol Z. // *Expert Rev Vaccines*.— 2010.— Vol. 9, № 3.— P. 261—272.
2. Vestergard D., David K. P. // *Ugeskr. Laeder*.— 2008.— Vol. 170.— P. 3044—3047.
3. Королева И. С., Белошицкий Е. В., Закроев И. М. и др. // *Эпидемиология и инфекционные болезни*.— 2006.— № 3.— С. 31—36.
4. Покровский В. И., Поздеев О. К. *Медицинская микробиология*.— М., 1999.
5. Жемчужов В. Е. // *Эпидемиология и инфекционные болезни*.— 2004.— № 3.— С. 54—58.
6. Титов Л. П., Шиманец О. О., Янович О. О. и др. // *Здравоохранение*.— 2006.— № 11.— С. 16—18.
7. Tan L. K. K., Carlone G. M., Borrow R. // *N. Engl. J. Med*.— 2010.— Vol. 362, № 16.— P. 1511—1520.
8. Титова Л. В., Самодова О. В., Бузинов П. В., Гордиенко Т. А. // *Эпидемиол.*— 2010.— Т. 11, №1.— С. 10—15.
9. Carwright K. // *Handbook of Meningococcal Disease* / Ed. M. Frosch, M. C. Maiden.— Weinheim, 2006.— P. 1—13.
10. Feil E. J. et al. // *PNAS*.— 2001.— Vol. 98.— P. 182—187.
11. Cavalli-Sforza L. L., Piazza A., Menozzi P., Mountain J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* — 1988.— Vol. 85, № 16.— P. 6002—6006.
12. Cox M. P., Hammer M. F. // *BMC Biology*.— 2010.— Vol. 8.— P. 98—109.
13. Parkhill J. et al. // *Nature*.— 2000.— Vol. 404.— P. 502—506.
14. Schoen C., Blom J., Claus H., et al. // *PNAS*.— 2008.— Vol. 105, № 9.— P. 3473—3478.
15. Tettelin H et al. // *Science*.— 2000.— Vol. 287.— P. 1809—1815.
16. Платонов А. Е., Шипулин Г. А., Платонова О. В. // *Генетика*.— 2000.— Т. 36, № 5.— С. 597—605.
17. Цеслюк М. В., Гуцин А. Е., Савочкина Ю. А. и др. // *Клин. лаб. диагностика*.— 2008.— № 7.— С. 48—52.
18. Глазкова С. Э., Титов Л. П. // *Здравоохранение*.— 2008.— №11.— С. 31—34.
19. Глазкова, С. Э., Носова Е. С., Титов Л. П. // *Здравоохранение*.— 2007.— № 8.— С. 43.
20. Maiden M., Bygraves J., Feil E., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.— 1998.— Vol. 95.— P. 3140—3145.
21. Enright M. C., Spratt B. G. // *Trends Microbiol*.— 1999.— Vol. 7, № 12.— P. 482—487.

22. Brehony C., Jolley K. A., Maiden M. C. J. // *FEMS Microbiol. Rev.*— 2007.— Vol. 31.— P. 15—26.
23. Drummond A. J., Rambaut A. // *BMC Evolutionary Biology.*— 2007.— Vol. 7.— P. 214—224.
24. Frasci C., Zollinger W., Poolman J. // *Rev. Infect. Dis.*— 1985.— Vol. 7.— P. 504—510.
25. Feavers I. M., Fox A. J., Gray S., et al. // *Clin. Diagnost. Lab. Immunol.*— 1996.— Vol. 3.— P. 444—450.
26. Vidarsson G., Overbeeke N., Stemerding A., et al. // *Infect. Immun.*— 2005.— Vol. 73.— P. 6721—6726.
27. Trotter C. L., Ramsay M. E. // *FEMS Microbiol. Rev.*— 2007.— Vol. 31.— P. 101—107.
28. Trotter C. L., Edmonde W. J. // *BMJ.*— 2002.— Vol. 324.— P. 809—812.
29. Тутов Л. П. // *Изв. НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук.*— 2001.— № 2.— С. 68—76.
30. Тутов Л. П. // *Изв. НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук.*— 2006.— № 3.— С. 95—110.
31. Тутов Л. П. *Иммунология: терминологический словарь.*— М., 2008.
32. Roozendall R., Carroll M. C. // *Cell.*— 2006.— Vol. 125.— P. 29—32.
33. van Looveren M., Caugant D. A., Chapelle S., et al. // *J. Med. Microbiol.*— 2001.— Vol. 50.— P. 986—990.
34. Gottfredsson M., Diggle M. A., Lawrie D. I., et al. // *Emerging Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 12, № 7.— P. 1066—1072.
35. Учайкин В. Ф., Шамшиева О. В. // *Эпидемиология и инфекционные болезни.*— 2006.— № 4.— С. 17—22.
36. Bentley S. D., et al. *Meningococcal genetic variation mechanisms viewed through comparative analysis of serogroup C strain FAM18.* *Plos Genet.*— 2007.— Vol. 3.— P. 23—33.
37. Canica M., Dias R., Ferreira E. // *Emerg. Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 10, № 3.— P. 350—357.
38. Кудин А. П., Барановская Г. В., Астапов А. А., Ключко Н. С. // *Мед. новости.*— 2000.— № 3.— С. 60—63.

Поступила 28.07.10.

MENINGOCOCCAL INFECTION: CURRENT STATE OF PROBLEM

L. P. Titov

The relatively favorable period of the meningococcal infection frequency reduction completed beginning from 2009 the disease rate increase is registered. A high variability of genetic and serological clone complexes, the pathogenic agent serogroups and serotypes evidence indirectly about the epidemic process activity. The regular monitoring provision and the epidemic situation prediction can be favored by implementation of current molecular methods. Genotyping based on the nucleotide sequences analysis will allow trace the pathogenic agent transmission, decrypt the outbreak, differentiate between the indigenous and imported cases, study the molecular evolution, determine the ancestor and date its appearance on the territory.

Key words: meningococcal infection, pathogenic agent, current molecular methods.

В. Ф. ЕРЕМИН, Е. Л. ГАСИЧ, С. В. СОСИНОВИЧ,
Е. Г. АМБАРЦУМЯН, О. Н. СУЕТНОВ, И. А. КАРПОВ

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПО ВИЧ/СПИДУ В БЕЛАРУСИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь, Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Белорусский государственный медицинский университет

Цель исследования. Определить субтипы ВИЧ-1, циркулирующие в популяции больных ВИЧ/СПИДом в Беларуси.

Материал и методы. Проанализированы результаты генотипирования 84 образцов сыворотки/плазмы больных ВИЧ/СПИДом, собранные со всех областей республики. Для исследований применяли серологические, молекулярно-биологические, статистические методы.

Результаты. Эпидемический процесс по ВИЧ/СПИДУ поддерживается циркуляцией в популяции больных ВИЧ/СПИДом субтипа А ВИЧ-1 (87%). На территории Беларуси выявляют субтипы В (3,6%), С (2,4%), G (1,2%), а также рекомбинантные формы ВИЧ-1 CRF02_AG (1,2%), CRF03_AB (2,4%), CRF06_crx (2,4%), что свидетельствует о заносах вируса из-за пределов республики.

Заключение. Впервые на территории Беларуси выявлены рекомбинантные формы CRF02_AG и CRF06_crx ВИЧ-1.

Ключевые слова: ВИЧ-1, субтипы, циркулирующие рекомбинантные формы ВИЧ-1, секвенирование.

По данным официальной статистики, на 1 июня 2010 г. в Республике Беларусь зарегистрировано 11 096 ВИЧ-инфицированных (117 на 100 тыс. населения), из них 2035 скончались. Только за 5 мес 2010 г. впервые выявлено 406 новых случаев ВИЧ-инфекции. Таким об-

разом, ежедневно в стране инфицируется в среднем 3 человека. На 1 июня 2010 г., по данным Министерства статистики и анализа, численность населения страны составила 9 469 900 человек.

Основную роль в борьбе с распространением ВИЧ/СПИДа играют профилактические мероприятия, направленные, в первую очередь, на наиболее уязвимую часть населения — молодежь. Однако без внедрения современных молекулярно-эпидемиологических методов проведение профилактических мероприятий будет недостаточно эффективным.

В настоящей работе приведены результаты молекулярно-эпидемиологического мониторинга, проведенного в лаборатории диагностики ВИЧ и сопутствующих инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Материал и методы

Материалом для исследования служила плазма крови от ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом. Ее образцы были получены из диспансерных кабинетов у 84 пациентов со всех регионов республики.

Выделение РНК из плазмы проводили с использованием модуля для выделения РНК коммерческой тест-системы «ViroSeq HIV-1 Genotyping System» v. 2.0 («Celera Diagnostics», США) согласно инструкции, прилагаемой к набору.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР): синтез кДНК на матрице изолированной РНК ВИЧ-1 и последующую ПЦР проводили с использованием модуля ОТ-ПЦР коммерческой тест-системы «ViroSeq HIV-1 Genotyping System» v. 2.0 («Celera Diagnostics», США) согласно инструкции, прилагаемой к набору.

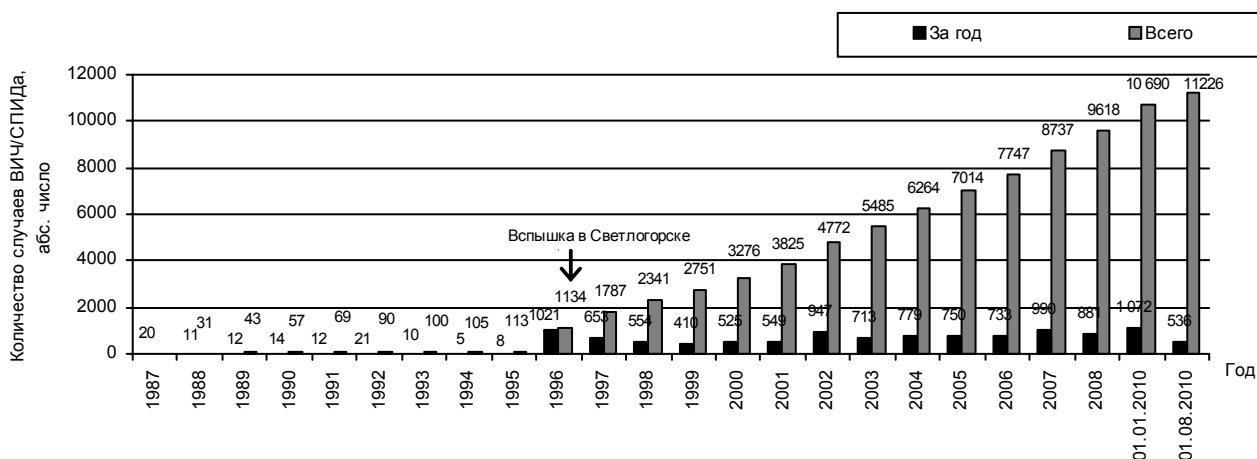


Рис. 1. Динамика развития эпидемии ВИЧ/СПИДа в Беларуси

Очистку продуктов ПЦР проводили на колонках-микроконцентраторах согласно прилагаемой к ним инструкции.

Электрофорез и определение концентрации полученных фрагментов ДНК осуществляли с использованием набора реактивов и контролей, прилагаемых к тест-системе «ViroSeq HIV-1 Genotyping System» v. 2.0 («Celera Diagnostics», США) согласно инструкции, прилагаемой к набору.

Секвенирующую ПЦР с рабочими концентрациями кДНК образцов проводили с использованием модуля для секвенирования тест-системы «ViroSeq HIV-1 Genotyping System» v. 2.0 («Celera Diagnostics», США) согласно инструкции, прилагаемой к набору. Полученные фрагменты после секвенирующей ПЦР очищали ацетатно-спиртовой преципитацией. Секвенирование очищенных фрагментов проводили на генетическом анализаторе «ABI Prism 3100 Avant» («Applied Biosystems», США).

Определение мутаций резистентности полученных секвенсов образцов проводили с использованием компьютерных программ «ViroSeq HIV-1 Genotyping System v. 2.0» и базы данных Стенфордского университета.

Для выравнивания и последующего филогенетического анализа полученных секвенсов использовали программы «SeqScape v. 2.6», «BioEdit» и «MEGA 4.1».

Филогенетические деревья строили с использованием программы «MEGA» (деревья с корнем, построенные методом присоединения соседей, neighbor-joining method). Нуклеотидные дистанции рассчитывали по методу Кимуры. Позиции, содержащие делеции, не учитывали при попарном сравнении последовательностей. В качестве референс-последовательностей использовали ранее охарактеризованные индивидуальные последовательности субтипов и групп ВИЧ-1 с указанием их номера в Генбанке. Достоверность филогенетических отношений определяли методом бутстреп-анализа с построением 100 деревьев. Указывали только значения бутстреп-анализа, превышающие 70.

Результаты и обсуждение

В настоящее время в Республике Беларусь наблюдают рост заболеваемости ВИЧ/СПИДом (рис. 1).

Наибольшая заболеваемость как по абсолютным, так и по относительным показателям зарегистрирована в областных городах и крупных промышленных центрах республики. По официальным данным (www.aids.by), в Гомельской области зарегистрировано 5692 случая ВИЧ-инфекции (389,9 на 100 тыс. населения), в Минской области — 1459 (93,6 на 100 тыс. населения), в Минске — 1545 (84,5 на 100 тыс. жителей), в Могилевской области — 600 (55 на 100 тыс. населения), в Брестской области — 798 (53,2 на 100 тыс. населения), в Витебской области — 556 (41,7 на 100 тыс. населения) и в Гродненской области 446 (40 на 100 тыс. населения) (рис. 2).

Из данных, представленных на рис. 2, следует, что среди областных центров Беларуси наибольшая заболеваемость ВИЧ/СПИДом зарегистрирована в Гомеле (666/138,6), наименьшая — в Гродно (71/22,2). В Минске на 1 июня 2010 г. выявлено 1545 ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом (88,1 на 100 тыс. населения).

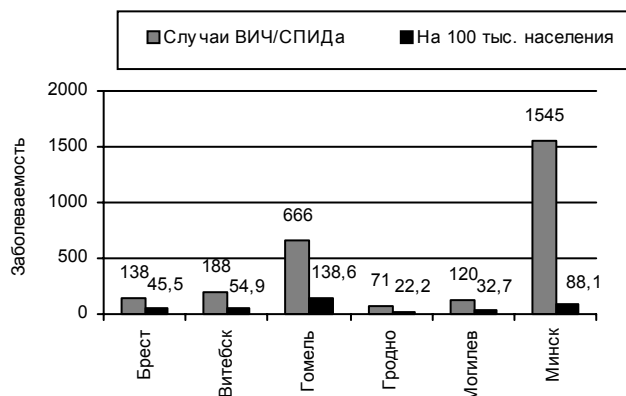


Рис. 2. Заболеваемость ВИЧ/СПИДом в областных центрах Беларуси и Минске

По уровню заболеваемости ВИЧ/СПИДом среди крупных промышленных центров как по абсолютным, так и по относительным показателям лидирует Светлогорск Гомельской области — 2478 и 3456,1 соответственно, за ним следуют Жлобин Гомельской области — 706/962,7 и Солигорск Минской области — 767/756,4 (рис. 3).

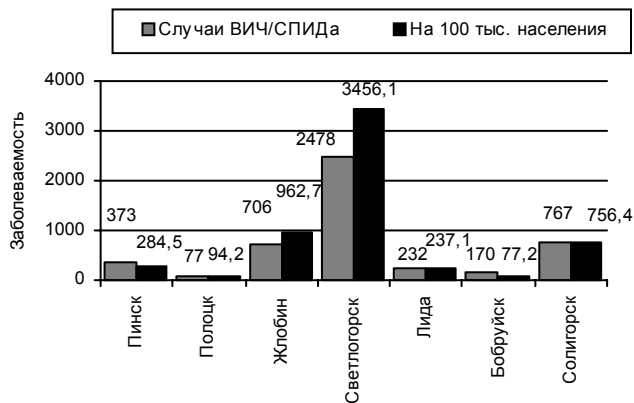


Рис. 3. Заболеваемость ВИЧ/СПИДом в крупных промышленных центрах Беларуси

Развитие эпидпроцесса на территории Республики Беларусь происходит по классическим канонам, то есть один механизм инфицирования (парентеральный — более 90% в 1996 г.) заменяется другим (гетеросексуальный — 75% в настоящее время). Изменяется и возрастная структура заболевших: в настоящее время чаще заражаются молодые люди 19—29 лет, а также мужчины и женщины старше 40 лет.

Ранее проведенные исследования по определению генотипов ВИЧ-1, выявляемого в популяции инъекционных наркопотребителей и больных, заразившихся половым путем, показали, что в обеих группах пациентов преобладал субтип А ВИЧ-1. Наблюдалась циркуляция субтипа В среди ВИЧ-инфицированных гомосексуалистов и больных, заразившихся половым путем [1—3].

Нуклеотидные последовательности гена *pol* ВИЧ-1 длиной 1480 пар нуклеотидов были получены от 79 ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом, в том числе от 15 детей. Проведенный филогенетический анализ (рис. 4, стр. 27) показал, что из 79 проанализированных образцов 67 (84,8%) относились к субтипу А, а 4 (5,1%) — к субтипу В. В то же время были выявлены субтипы G и C, а также рекомбинантные формы CRF02_AG, CRF06_cpx ВИЧ-1, которые ранее не выявлялись на территории Беларуси, а также рекомбинантная форма CRF03_AB, выделенная и описанная авторами несколько лет назад от супружеской пары инъекционных наркопотребителей, съездивших на экскурсию в Калининград, где была вспышка ВИЧ-инфекции рекомбинантной формы ВИЧ-1 CRF03_AB [4].

На филогенетическом дереве образцы ВИЧ-1 субтипа А кластеризовались вокруг «украинских» и «рос-

сийских» консенсусных образцов. Нуклеотидные р-дистанции между вирусами субтипа А варьировали в пределах от 0,029 до 0,059, со средним значением 0,043, что указывает на близкородственное происхождение проанализированных вирусов. При этом необходимо отметить, что не наблюдалось кластеризации вирусов субтипа А ни по административным территориям, ни по способу заражения. Исключение составили образцы из Солигорска. Средние нуклеотидные дистанции между этими пробами были 0,034 и варьировали в пределах 0,027—0,041. На филогенетическом дереве эти образцы образовывали одну группу, обозначенную как «А-Soligorsk». В эту же группу вошел один образец из Барановичей.

Рекомбинантная форма CRF06_cpx была выявлена у брата и сестры инъекционных наркоманов из Минской области. Средние нуклеотидные р-дистанции между вирусами у больных составили 0,025, а с референс-штаммом CRF06_cpx, описанным в России, — 0,027. Все эти данные указывают на единый источник заражения обоих пациентов: занос вируса на территорию Беларуси из России. У больных выявлен ВИЧ-1 с мутациями резистентности к нуклеозидным и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы.

Таким образом, использование методов молекулярной эпидемиологии позволяет дать качественную характеристику эпидемическому процессу, определить направления и время заноса вируса в страну, контролировать циркуляцию вируса в популяции ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом, определять резистентные штаммы вируса и давать рекомендации по лечению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lukashov V. V., Karamov E. V., Eremin V. F., et al. // *AIDS Res. Hum. Retrov.*— 1998.— Vol. 14.— P. 1299—1303.
2. Lazouskaya N.V., Eremin V. F., Adema K.W., et al. // *AIDS Res. Hum. Retrov.*— 2005.— Vol. 21.— P. 830—833.
3. Лукашов В. В., Лазовская Н. В., Карамов Э. В. и др. // *Вопр. вирусологии.*— 2006.— № 6.— С. 22—26.
4. Masharsky A. E., Eremin V. F., Kozlov A. P. // *XIV International AIDS Conference: Abstr.*— Barcelona, 2002.— P. 365.

Поступила 23.07.10.

DESCRIPTION OF EPIDEMIOLOGICAL HIV/AIDS PROCESS IN BELARUS

V. F. Eremin, E. L. Gasich, S. V. Sosinovich, E. G. Ambartsumyan, O. N. Suetnov, I. A. Karpov

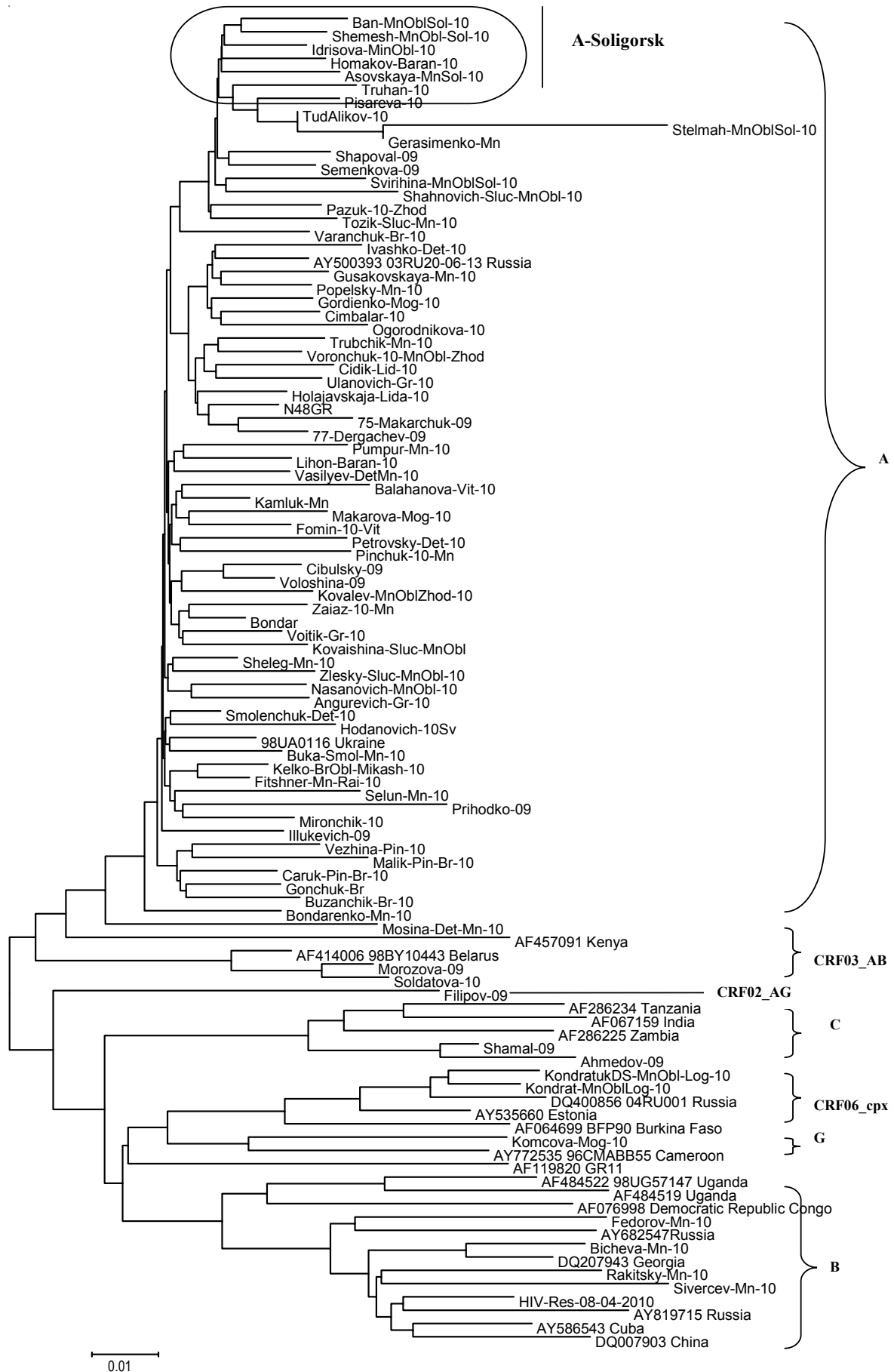
Objective. To determine the HIV-1 subtypes circulating in the Belarus population of HIV/AIDS patients.

Material and methods. The results obtained while genotyping 84 samples of plasma of HIV/AIDS patients from the republic various regions were analyzed. Serological, molecular-and-biological, statistical methods were applied for the studies.

Results. The epidemiological HIV/AIDS process is supported by the HIV-1 subtype A (87%) circulation in the population of HIV/AIDS patients. In addition the subtypes B (3.6%), C (2.4%), G (1.2%) as well as the HIV-1 recombinant forms such as CRF02_AG (1.2%), CRF03_AB (2.4%), CRF06_cpx (2.4%) evidencing about the virus arrival from foreign territories are separated on the territory of Belarus.

Conclusion. The HIV-1 recombinant forms such as CRF02_AG and CRF06_cpx have been detected for the first time on the territory of Belarus.

Key words: HIV-1, subtypes, circulating HIV-1 recombinant forms, sequencing.

Рис. 4. Филогенетический анализ по гену *pol* образцов плазмы крови, собранных в 2009—2010 гг. в Беларуси

Е. Л. ГАСИЧ, В. Ф. ЕРЕМИН, С. В. СОСИНОВИЧ,
М. Г. ПИНЧУК

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Определить генотипы и филогенетические связи вируса гепатита С, циркулирующего на территории Республики Беларусь.

Материал и методы. Исследован 181 образец сыворотки/плазмы крови, полученный у пациентов из Минска и всех регионов Беларуси в 2006—2009 гг. РНК вируса гепатита С амплифицирована с помощью обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с праймерами для региона *core/E1* вируса гепатита С. Анализ нуклеотидных последовательностей и филогенетический анализ выполнены с помощью программ «Sequencing Analysis Software v. 5.1.1», «BioEdit v. 7.0.9.0», «SeqScape v. 2.6», «ClustalW», «Mega 4».

Результаты. Установлена частота выявления различных генотипов вируса гепатита С на территории Республики Беларусь в группах пациентов с моноинфекцией вируса гепатита С и в группах с коинфекцией вируса гепатита С и вируса иммунодефицита человека, вируса гепатита С и вируса гепатита В, а также всех 3 вирусов вместе. Выявлено, что преобладание генотипа 1b ВГС на территории страны во всех регионах, за исключением Гродно и Гродненской области, где в 40% случаев гепатит С обусловлен генотипом 1a.

Ключевые слова: вирус гепатита С, вирус гепатита В, вирус иммунодефицита человека, генотип, филогенетический анализ.

Вирусный гепатит С (ВГС) в настоящее время является одной из важных проблем здравоохранения вследствие своего широкого распространения в мире, различных путей передачи и недостаточно разработанной терапии. Примерно 3% от всего населения в мире (около 170 млн человек) инфицировано ВГС [1]. ВГС вызывает развитие острого гепатита в 20% случаев, у 70—85% инфицированных диагностируют хронический гепатит, который через 15—20 лет вызывает цирроз печени у половины этих больных.

Распространенность ВГС в различных регионах мира колеблется от 0,1 до 26%. В Западной Европе частота выявления ВГС составляет 0,7—4,9% [2]. В Беларуси, по данным Министерства здравоохранения Республики Беларусь, ежегодно регистрируют около 2 тыс. случаев хронического гепатита С и только за последние 10 лет официально зарегистрировано около 20 тыс. больных с хроническими гепатитами.

Генотипирование ВГС имеет большое значение как в определении стратегии интерферонотерапии хронического гепатита С, так и в эпидемиологических исследованиях. Установлено, что у больных, инфицированных ВГС генотипом 1b, отмечается более тяжелое течение инфекции и плохая чувствительность к лечению интерфероном. На сегодняшний день известно 6 основных генотипов ВГС более чем с 60 субтипами [3]. Генотипы различают по чувствительности к лечению интерфероном, по виремии (содержание вируса в кро-

ви) и географическому распространению. Наибольшее распространение имеют генотипы 1a, 1b, 2a, 2b и 3a. Они доминируют в Европе, Северной Америке, Азии и Океании. В Европейских странах на долю генотипа 1b приходится 50—91% (Германия — 59%, Бельгия — 65%, Венгрия — 84%, Италия (Сицилия) — 91%), а генотипа 1a — не более 40% (Германия — 32%, Дания — 40%, Франция — 35%). В США превалирует генотип 1a, который получил название «американский генотип ВГС». Частота выявления генотипов 1a и 1b в США в среднем составляет 37% и 30% соответственно. Все остальные генотипы ВГС встречаются не более чем в 10% случаях. В Японии, Тайване, Китае (особенно в Южном Китае), Сингапуре, Индонезии и Южной Корее чаще выявляют генотип 1b, так называемый японский генотип ВГС. На Филиппинах частота выявления генотипа 1a достигает 54,5% [4]. В результате применения генотипирования ВГС при изучении распространения гепатита С в разных группах населения были отмечены различия в частоте выявления того или иного генотипа в зависимости от пути инфицирования. Так, например, в Европейских странах генотипы 1a и 3a ассоциируются с заражением, произошедшим при внутривенном введении наркотиков, 1b — при переливании контаминированной ВГС крови или плазмы. В Италии среди пациентов с ВИЧ-инфекцией чаще выявляют генотип 1a. Распространение того или иного генотипа ВГС связано также и с миграцией населения.

По результатам исследований, проведенных в России, генотип 1b определяют как у пациентов с хроническим гепатитом С, так и у людей, получающих препараты крови (82% и 77% соответственно) [5]. Значительно реже выявляют генотипы 3a, 2a (10% и 17%; 4% и 6% соответственно). Генотип 1a был определен только в группе пациентов с хроническим гепатитом С. При этом не было выявлено статистически значимых различий в распределении генотипов в разных регионах России внутри группы пациентов с хроническим гепатитом С или в группе лиц, получающих множественные трансфузии препаратов крови.

Цель исследования — проведение молекулярно-генетического мониторинга для установления распространения различных генотипов ВГС, циркулирующих на территории Республики Беларусь, и определение их филогенетических связей.

Материал и методы

Исследовали 181 образец сыворотки/плазмы крови, полученный у пациентов за 2006—2009 гг. с лабораторно подтвержденной ВГС-инфекцией из различных регионов Республики Беларусь (из них из Минска и Минской области было 62 образца: ВГС — 40, ВГС+ВИЧ — 21, ВГС+ВГВ (вирус гепатита В) — 1; из Бреста и Брестской области — 20 образцов: ВГС — 18, ВГС+ВИЧ — 2; из Витебска и Витебской области — 25 образцов; из Гомеля и Гомельской области — 19 образцов: ВГС — 18, ВГС+ВГВ — 1; из Гродно и Гродненской области — 34 образца: ВГС — 25, ВГС+ВИЧ — 9; из Могилева и Могилевской области — 11 образцов). Все образцы

предварительно протестировали методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие антител к ВГС, ВИЧ, ВГВ. Для определения маркеров ВГС, ВИЧ, ВГВ использовали иммуноферментные тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия): «КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ», «Вектоген В — HBs-антиген-стрип», «Бест анти-ВГС».

Выделение РНК ВГС проводили с использованием коммерческого набора «РНК-сорб» (Центральный НИИ эпидемиологии, Россия) согласно прилагаемой инструкции.

Полимеразную цепную реакцию в гнездовом варианте проводили на амплификаторе «Corbet Research» (Австралия) в два этапа в объеме 25 мкл. Синтез кДНК проводили с использованием random (случайный) праймеров по следующей схеме: 25°C — 10 мин, 42°C — 60 мин, 70°C — 10 мин.

Праймеры были синтезированы в ОДО «Праймтех» (Беларусь).

Первый раунд ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5 мкл кДНК, 2,5 ммоль MgCl₂, 0,4 ммоль dNTPs, 0,50 ммоль каждого праймера (fw 290 5'-TGCCTGATAGGGTGCTTGCGAG, поз. 290—311; rw 5'-ACCAGTTCATCATCATATCCCATGCCAT, поз. 1293—1320), 1U Taq-полимеразу и 1-кратный буфер для ПЦР. После начальной денатурации при 95°C в течение 5 мин проводили 40 циклов ПЦР по следующей схеме: 95°C — 1 мин, 63°C — 1 мин и 72°C — 1 мин, с последующей инкубацией 5 мин при 72°C и охлаждением до 4°C. Образец кДНК предварительно развели в 10 раз.

Продукт первой ПЦР использовали для второго раунда ПЦР, выполненной при тех же условиях, но с другим fw-праймером (5'-CGCGCGACTAGGAAGACTTC, поз. 480—499) и температурой отжига 62°C. Образец ДНК предварительно развели в 100 раз.

Анализ ПЦР-амплифицированной ДНК проводили методом гель-электрофореза согласно инструкции, прилагаемой к набору «ЭФ вариант 200», используя комплект реагентов для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле (Центральный НИИ эпидемиологии, Россия).

Полученные фрагменты специфической ДНК очищали с помощью колонок «SigmaSpin™ Post-Reaction Clean-up Columns» («Sigma», США).

Для проведения секвенирующей ПЦР применяли набор «BigDye terminators v. 3.1» («Applied Biosystems», США) со следующим режимом амплификации: 1 мин при 96°C — 1 цикл; 10 с при 96°C, 5 с при 50°C, 2 мин при 60°C — 25 циклов.

Продукты амплификации очищали ацетатно-спиртовой преципитацией.

Электрофорез очищенных фрагментов после секвенирующей ПЦР проводили на приборе «ABI PRISM 3100-AVANT» («Applied Biosystems», США). Анализ полученных фрагментов генома ВГС осуществляли с использованием программных продуктов «Sequencing Analysis Software v. 5.1.1», «BioEdit v. 7.0.9.0», «SeqScape v. 2.6».

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы «Mega 4» (дерева с корнем построены методом присоединения соседей (neighbor-joining methods). Для выравнивания генетических последовательностей использовали программу «Clustal W».

Результаты и обсуждение

Образцы плазмы/сыворотки крови были доставлены в лабораторию из всех областей Республики Беларусь. Все образцы протестировали на наличие специфических антител к ВГС, ВИЧ и ВГВ. Результаты представлены в табл. 1.

Данные табл. 1 свидетельствуют, что антитела к ВГС методом ИФА выявлены во всех образцах. При этом в 147 (81,2%) случаях выявили только антитела к ВГС. В 32 (17,8%) образцах, поступивших из Минска, Бреста, Гомеля и Гродно, выявили маркеры ВИЧ, в 2 (1,%) случаях — маркеры ВГВ.

Все образцы использовали для дальнейшего генотипирования и филогенетического анализа ВГС по участку core/E1 генома ВГС. Результаты определения генотипов вируса в различных регионах Беларуси представлены в табл. 2 и на рис. 1—6.

Таблица 1

Результаты выявления антител к ВГС, ВИЧ и ВГВ методом иммуноферментного анализа в сыворотке/плазме больных

Регион Беларуси	Количество образцов	Выявляемые антитела		
		ВГС	ВГС+ВИЧ	ВГС+ВГВ
Минск и Минская область	62	40 (64,5%)	21 (33,9%)	1 (1,6%)
Брест и Брестская область	20	18 (90%)	2 (10%)	Не выявлено
Витебск и Витебская область	25	25 (100%)	Не выявлено	Не выявлено
Гомель и Гомельская область	19	18 (94,7%)	Не выявлено	1 (5,3%)
Гродно и Гродненская область	44	35 (79,5%)	9 (20,5%)	Не выявлено
Могилев и Могилевская область	11	11 (100%)	Не выявлено	Не выявлено
Итого...	181	147 (81,2%)	32 (17,8%)	2 (1%)

Таблица 2

Результаты генотипирования ВГС

Регион	Наличие коинфекции	Генотип ВГС				
		1a	1b	2a	2b	3a
Брест и Брестская область	ВГС	Не выявлено	10 (55,5%)	2 (11,2%)	Не выявлено	6 (33,3%)
	ВГС+ВИЧ	Не выявлено	Не выявлено	Не выявлено	Не выявлено	2 (100%)
Витебск и Витебская область	ВГС	Не выявлено	17 (68,0%)	Не выявлено	2 (8,0%)	6 (24,0%)
Гомель и Гомельская область	ВГС	Не выявлено	9 (50,0%)	1 (5,5%)	Не выявлено	8 (44,5%)
	ВГС+ВГВ	Не выявлено	Не выявлено	1 (100%)	Не выявлено	Не выявлено
Гродно и Гродненская область	ВГС	14 (40,0%)	11 (31,4%)	Не выявлено	Не выявлено	10 (28,6%)
	ВГС+ВИЧ	5 (55,6%)	1 (11,1%)	Не выявлено	Не выявлено	3 (33,3%)
Могилев и Могилевская область	ВГС	Не выявлено	8 (72,7%)	1 (9,1%)	Не выявлено	2 (18,2%)
Минск и Минская область	ВГС	4 (10,0%)	27 (67,5%)	1 (2,5%)	1 (2,5%)	7 (17,5%)
	ВГС+ВИЧ	3 (14,3%)	12 (57,1%)	1 (4,7%)	Не выявлено	5 (23,9%)
	ВГС+ВГВ	Не выявлено	1 (100%)	Не выявлено	Не выявлено	Не выявлено
Всего...	ВГС	18 (12,2%)	82 (55,8%)	5 (3,4%)	3 (2,0%)	39 (26,6%)
	ВГС+ВИЧ	8 (25,0%)	13 (40,6%)	1 (3,1%)	Не выявлено	10 (31,3%)
	ВГС+ВГВ	Не выявлено	1 (50,0%)	1 (50,0%)	Не выявлено	Не выявлено

В результате проведенных исследований установлено, что в Бресте и Брестской области в группе пациентов с моноинфекцией ВГС генотипы ВГС распределились следующим образом: чаще всего выявляли генотип 1b (55,5%), у 6 (33,3%) обследованных — генотип 3a, у 2 — генотип 2a. У больных с коинфекцией ВГС и ВИЧ исследовали только 2 образца и в обоих случаях был отмечен генотип 3a. Результаты филогенетического анализа представлены на рис. 1. Средняя эволюционная р-дистанция внутри нуклеотидных последовательностей каждого генотипа составила 0,04 и 0,05 для генотипов 1b и 3a соответственно, что свидетельствует о низкой гетерогенности образцов, циркулирующих внутри каждой группы. Результаты представлены в табл. 3.

Молекулярно-генетические исследования по генотипированию ВГС, выполненные в Гомеле и Гомельской области, не выявили значимых различий в частоте рас-

пространения генотипов 1b и 3a: у 9 (50,0%) человек с моноинфекцией ВГС отмечали генотип 1b и у 8 (44,5%) — генотип 3a. Только в 1 образце (5,5%) был выявлен генотип 2a. В 1 случае с коинфекцией ВГС и ВГВ также определен генотип 2a. Результаты филогенетического анализа по генотипированию ВГС в Гомеле и Гомельской области представлены на рис. 2.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей специфического фрагмента генома ВГС, полученных из образцов сыворотки/плазмы крови у лиц с ВГС-моноинфекцией, проживающих в Витебске и Витебской области, показал, что на данной территории циркуляция генотипа 1b отмечена в 2,8 раза чаще (68%), чем 3a (24%). В 2 (8%) случаях выявлен генотип 2b, который практически не встречается в других регионах страны.

Несмотря на то, что количество исследований, проведенных в Могилеве и Могилевской области, несколько меньше, чем в других областях Беларуси, в этом регионе также прослеживается четкая тенденция к преобладанию генотипа 1b: частота выявления генотипа 1b в 4 раза выше по сравнению с генотипом 3a (72,7% и 18,2% соответственно). В 1 случае (9,1%) был выявлен генотип 2a. Результаты исследования представлены в табл. 2 и на рис. 4.

Результаты исследований, проведенных в Гродно и Гродненской области, показали преобладание генотипа 1a в данном регионе. ВГС-моноинфекция (40% случаев) обусловлена генотипом 1a. Частота выявления генотипов 1b и 3a была примерно на одном уровне (31,4% и 28,6% соответственно). Данная закономер-

Таблица 3

Определение средних р-дистанций внутри различных генотипов ВГС

Регион	Генотип ВГС		
	1a	1b	3a
Брест и Брестская область		0,04	0,05
Витебск и Витебская область		0,08	0,05
Гомель и Гомельская область	0,09	0,07	0,09
Гродно и Гродненская область	0,03	0,07	0,07
Минск и Минская область	0,05	0,08	0,06
Могилев и Могилевская область		0,08	
Всего в Беларуси	0,06	0,07	0,06

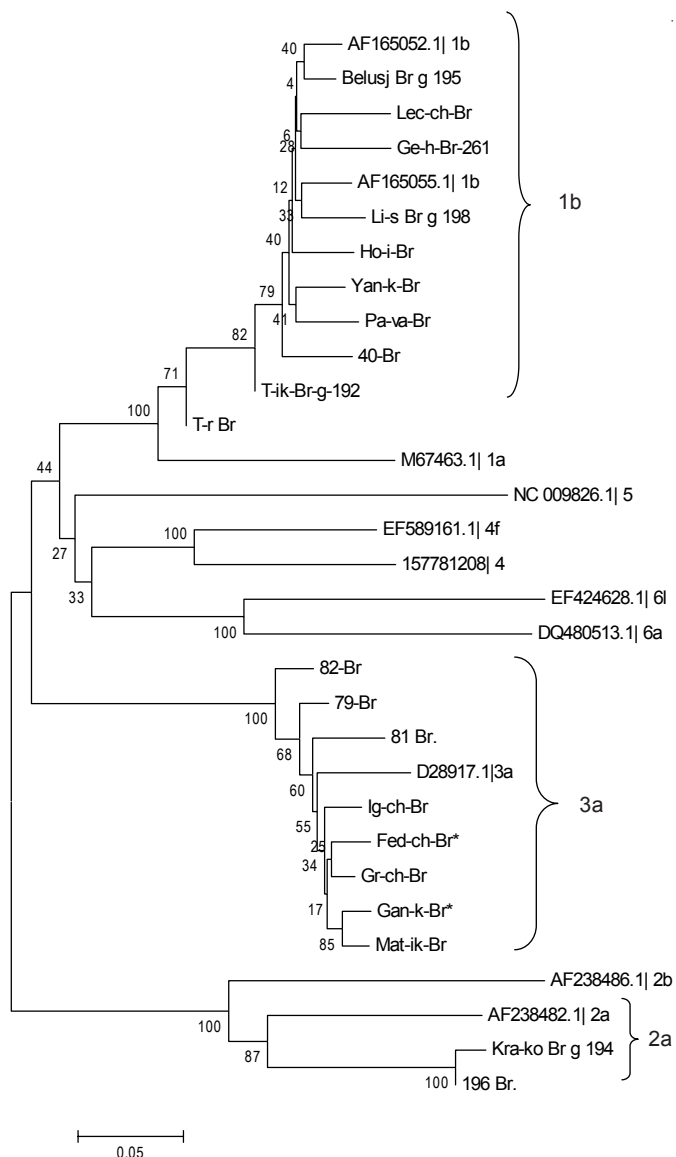


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенного у пациентов, проживающих в Бресте и Брестской области

ность сохраняется и в группе больных с коинфекцией ВГС и ВИЧ: генотип 1а определен в 55,6% случаев, генотипы 3а и 1b выявлены только в 33,3% и 11,1% обследованных образцов соответственно. Результаты представлены в табл. 2 и на рис. 5. Средняя р-дистанция составила 0,03, что свидетельствует о гомогенности популяции генотипа 1а, который выявляется, как правило, среди наркоманов, принимающих инъекционные наркотики.

Наиболее полно были выполнены исследования в Минске и Минской области как в группе с ВГС-моноинфекцией, так и в группе с коинфекцией ВГС и ВИЧ. Анализ полученных результатов показал, что частота выявления генотипа 1b ВГС в группе с моноинфекцией в 3,8 раза выше, чем генотипа 3а (67,5% и 17,5% соответственно). Такая же ситуация отмечена и в других регионах Беларуси, при этом случаи выявления генотипов 1а (10%), 2а (2,5%) и 2b (2,5%) были единичны-

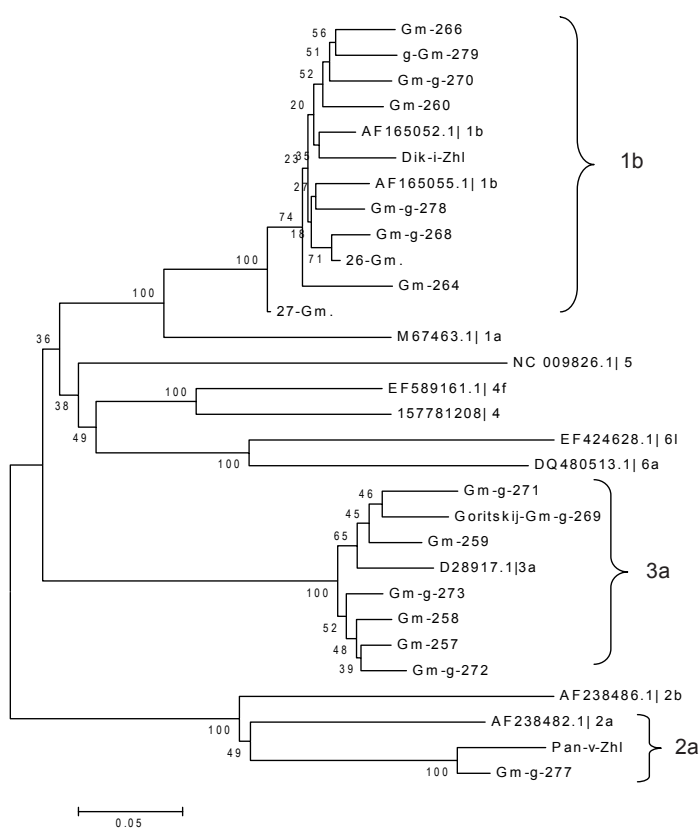


Рис. 2. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенного у пациентов, проживающих в Гомеле и Гомельской области

ми. Аналогичная закономерность прослеживается и в группе пациентов с коинфекцией ВГС и ВИЧ, где преобладал генотип 1b (57,1%). Генотипы 3а, 1а и 2а в данной группе встречали реже (23,9%, 14,3%, 4,7% соответственно). Результаты исследований представлены в табл. 2 и на рис. 6.

Таким образом, впервые были проведены исследования и представлены данные по генотипированию и филогенетическому анализу ВГС в Республике Беларусь.

Установлено, что на территории Беларуси в популяции пациентов с моноинфекцией ВГС и коинфекцией ВГС и ВИЧ преобладают генотипы 1b (53%) и 3а (27,1%) вируса. В то же время в Гродно и Гродненской области чаще выявляют генотип 1а (40%). Распространенность в Беларуси различных генотипов ВГС представлена на рис. 7.

Полученная карта распределения генотипов ВГС в республике соответствует данным о распространенности этих генотипов в Западной Европе, России, Эстонии и Грузии [6—8]. В то же время необходимо отметить, что частота выявления генотипа 1b в России в 1997 г. была в 4 раза выше, чем генотипа 3а [5]. Аналогичные данные получены в Минске и Витебске, где частота выявления генотипа 1b по сравнению с генотипом 3а в 2,8—3,7 раза выше, чем в других регионах страны.

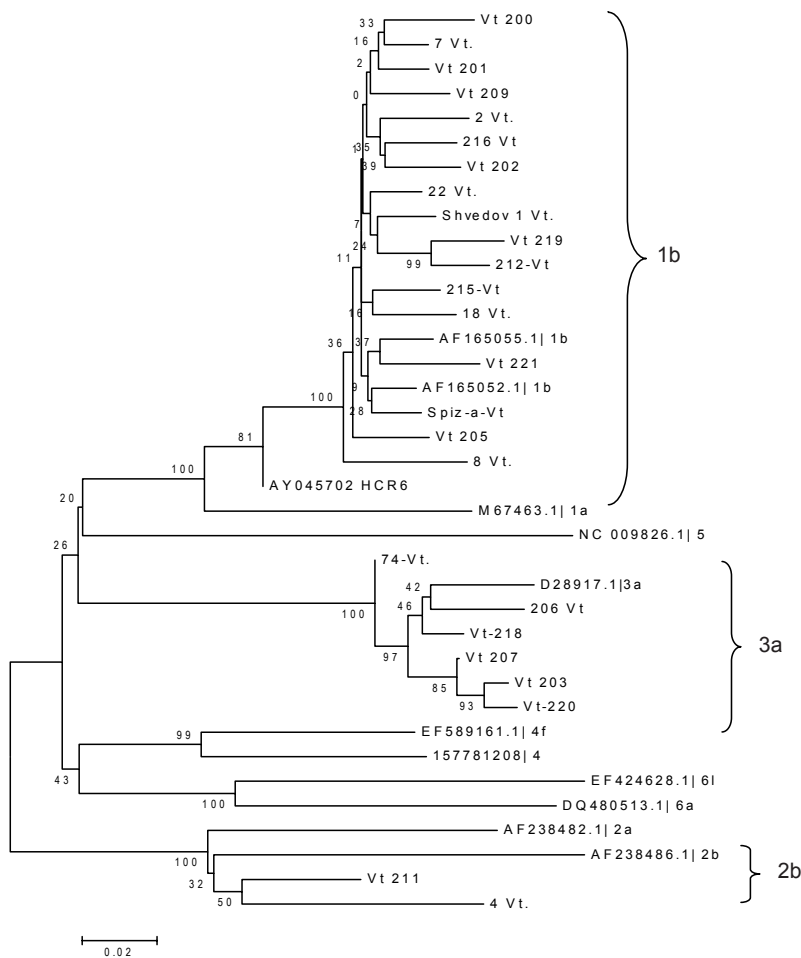


Рис. 3. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенного у пациентов, проживающих в Витебске и Витебской области

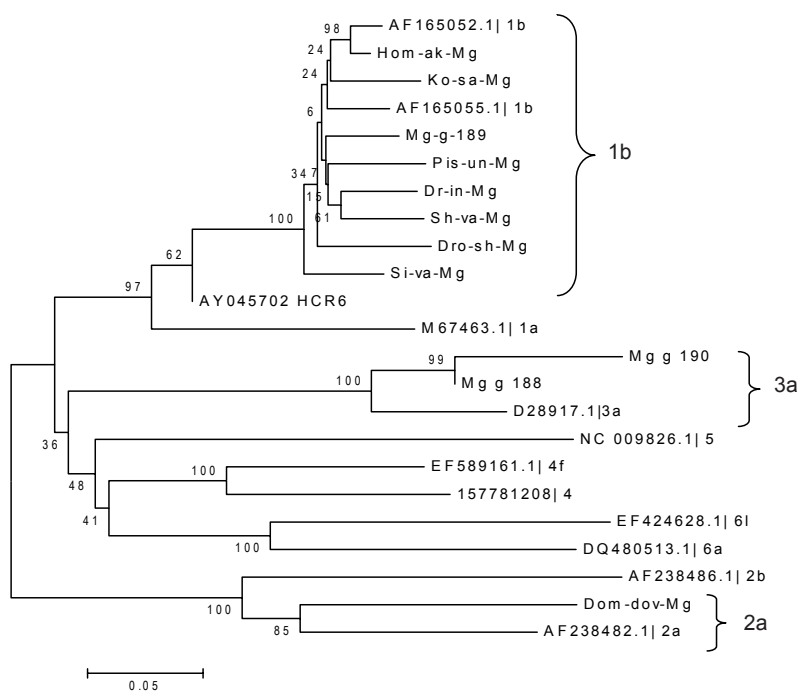


Рис. 4. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенного у пациентов, проживающих в Могилеве и Могилевской области

Результаты молекулярно-генетического генотипирования ВГС показали, что в группе пациентов с ВГС-моноинфекцией 55,8% и 26,6% случаев приходится на долю генотипов 1b и 3a соответственно. Аналогичные данные получены при проведении исследований образцов из Минской инфекционной больницы в 2004—2006 гг. у пациентов с хроническим гепатитом С. Филогенетически генотипы ВГС распределились следующим образом: генотип 1b — 53,8%, 3a — 38,5%, 1a — 5,1% [9].

Аналогичная картина наблюдалась и в группе больных с коинфекцией ВГС и ВИЧ: генотип 1b выявлен в 13 случаях (40,6%), 3a — в 10 (31,3%), генотип 1a обнаружен у 8 (25%) пациентов. Генотип 2a ВГС выявлен только в 1 (3,1%) из 32 исследованных образцов.

В 2 случаях с коинфекцией ВГС и ВГВ выявлены генотипы 1b и 2a.

Средние нуклеотидные р-дистанции внутри групп различных генотипов ВГС составляли 0,07, 0,06 и 0,06 для генотипов 1b, 1a и 3a соответственно, что свидетельствует о циркуляции одних и тех же штаммов ВГС на территории республики на протяжении длительного времени.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов генома core/E1 ВГС, полученных в результате исследований и данных из GeneBank, продемонстрировали, что они не формируют новую эволюционную ветвь и значительно не отличаются от группы генотипов, циркулирующих в других географических регионах.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о реально существующей проблеме вирусного гепатита С в Республике Беларусь. Эта проблема является не только медицинской, но и социальной.

Выводы

1. На территории Беларуси преобладает генотип 1b ВГС (53%) как в группе больных с ВГС-моноинфекцией, так и в группе пациентов с коинфекцией ВГС и ВИЧ.

2. В Гродно и Гродненской области 40% от всех случаев инфицирования ВГС обусловлено генотипом 1a ВГС.

3. Необходимо постоянно проводить молекулярно-эпидемиологический мониторинг для совершенствования системы противоэпидемиологических мероприятий.



Рис. 5. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенного у пациентов, проживающих в Гродно и Гродненской области

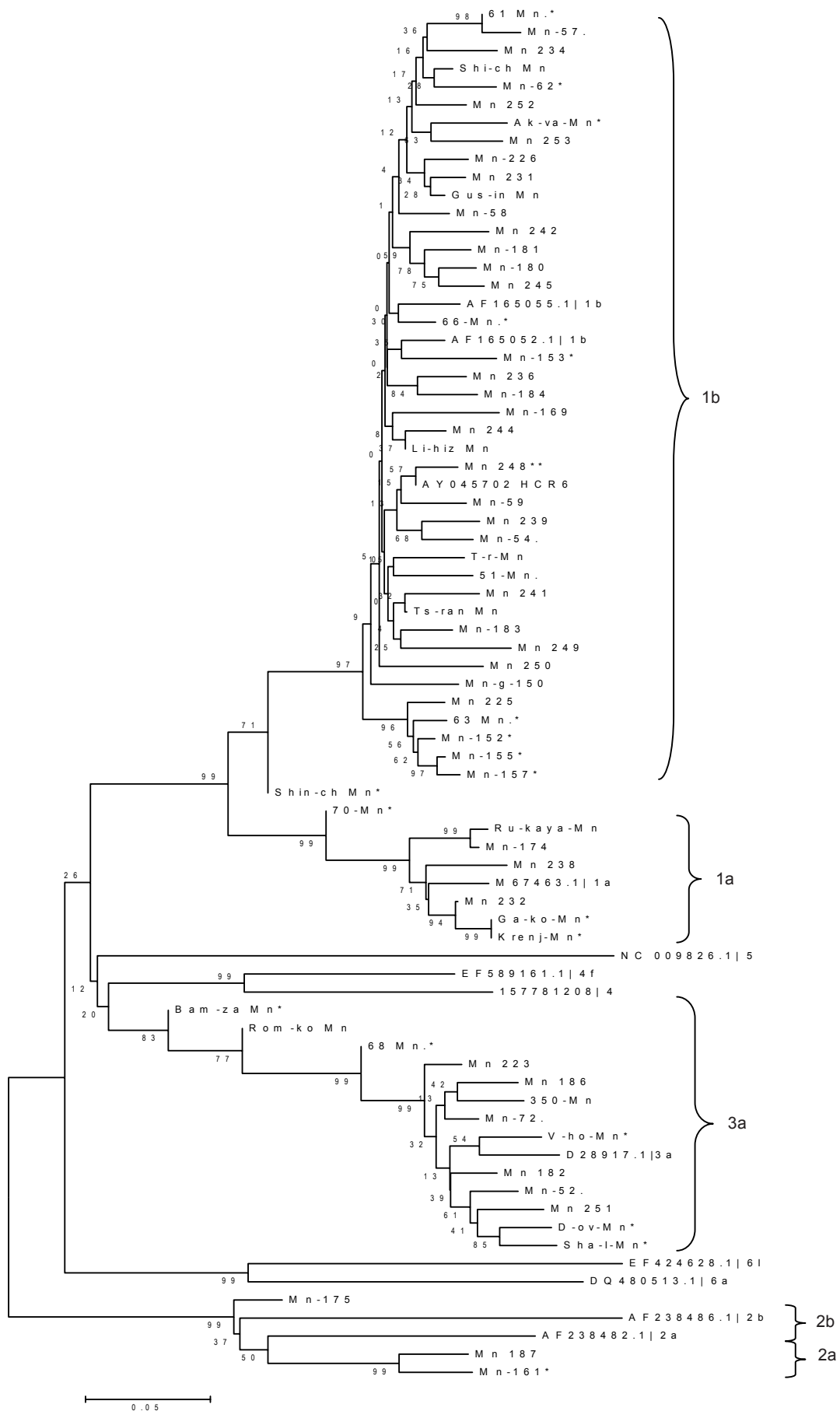


Рис. 6. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, выделенного у пациентов, проживающих в Минске и Минской области

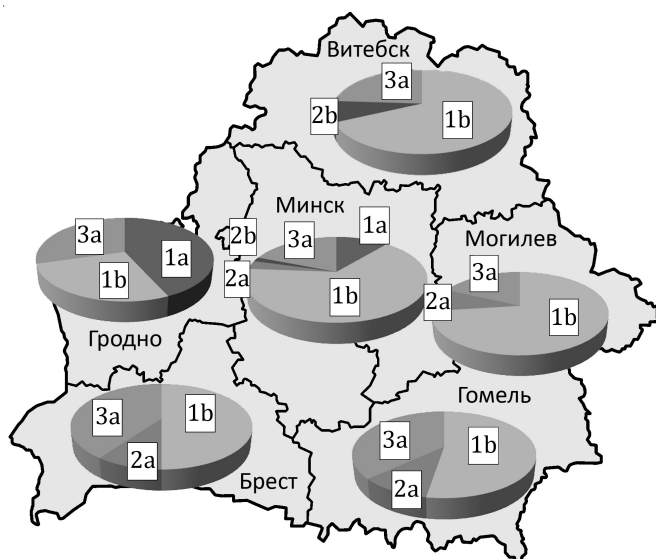


Рис. 7. Распространенность различных генотипов ВГС в Беларуси

ЛИТЕРАТУРА

1. Alter M. J. // *J. Gastroenterol.*— 2007.— Vol. 13, № 17.— P. 2436—2441.
2. Memon M. I., Memon M. A. // *J. Viral. Hepat.*— 2002.— Vol. 9.— P. 84—100.
3. McHutchison J. G. // *Am. J. Manadg. Care.*— 2004.—Vol. 10, № 2.— P. 521—529.
4. Shepard C. W., Finelli L., Alter M. J. // *Lancet Infect. Dis.*— 2005.— Vol. 5.— P. 558—567.

Л. Д. ГАЗИУМАРОВА, Е. Ф. ПАНЬШИНА, А. Э. ПЫЖ,
И. В. ШНЫП, Л. П. ТИТОВ

НОВАЯ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Разработка новой тест-системы «Кампи-Бел-стрип» для биохимической идентификации наиболее значимых видов кампилобактерий.

Материал и методы. В работе использованы тест-штаммы *Campylobacter* — *C. lary*, *C. jejuni*, *C. coli*, а также клинические изоляты *C. jejuni*, выделенные из испражнений кур. При постановке биохимических реакций для идентификации кампилобактерий использовались общепринятые методы и реактивами.

Результаты. Разработана технология получения отечественной биохимической тест-системы для дифференциации наиболее значимых видов кампилобактерий. Основным преимущественным отличием от известных тест-систем является простота ее изготовления, полноценный рецептурный состав минимальных питательных сред и сокращение сроков исследования за счет подбора наиболее рациональной схемы идентификации культур по биохимическим признакам.

Ключевые слова: кампилобактерии, выделение и идентификация, биохимическая тест-система.

5. Viazov S., Kuzin S., Paladi N., et al. // *J. Med. Virol.*— 1997.— Vol. 53.— P. 36—40.

6. Shervadze L., Nelson K. E., Imnadze P., et al. // *Georgian Med. News.*— 2008.— Vol. 165.— P. 71—77.

7. Shustov A. V., Kochneva G. V., Sivolobova G. F., et al. // *J. Med. Virol.*— 2005.— Vol. 77.— P. 382—389.

8. Zusinaite E., Metskla K., Salupere R. // *World J. Gastroenterol.*— 2005.— Vol. 11.— P. 488—491.

9. Olinger C. M., Lazouvsckaya N. V., Eremin V. F., et al. // *Clin. Microbiol. Infect.*— 2008.— Vol. 14.— P. 575—581.

Поступила 23.07.10.

MOLECULAR AND GENETIC DESCRIPTION OF HEPATITIS C VIRUS IN REPUBLIC OF BELARUS

E. L. Gasich, V. F. Eremin, S. V. Sosinovich, M. G. Pinchuk

Objective. To determine the genotypes and phylogenic associations of the hepatitis C virus circulating on the territory of the Republic of Belarus.

Material and methods. One hundred and eighty one samples of serum/plasma of patients living in Minsk and in Belarus various regions in 2006 - 2009 were studied. The hepatitis C virus RNA was amplified in reverse transcription and polymerase chain reaction with primers for the core/E1 region of hepatitis C virus. The nucleotide sequences were analyzed and the phylogenic analysis was performed applying the programs Sequencing Analysis Software v. 5.1.1, BioEdit v. 7.0.9.0, SeqScape v. 2.6, ClustalW, Mega 4.

Results. Frequency of revealing hepatitis C virus various genotypes in the groups of patients suffering either from the hepatitis C virus monoinfection or from the hepatitis C virus and HIV co-infection or from the hepatitis C virus and the hepatitis B virus co-infection or from the three viruses at a time was determined. It was found that the hepatitis C virus genotype 1b dominates in all the regions of the country territory except Grodno and Grodno region were hepatitis C was caused by the genotype 1a in 40% of cases.

Key words: hepatitis C virus, hepatitis B virus human insufficiency virus, genotype, phylogenic analysis.

Кампилобактериоз — острая зооантропонозная инфекционная болезнь, вызываемая патогенными микроорганизмами рода *Campylobacter*, которая довольно широко распространена на всех континентах и во многих странах мира (Великобритания, США, Япония). По данным ВОЗ, кампилобактериоз является наиболее частой этиологической формой в структуре острых кишечных инфекций (ОКИ) и в зависимости от региона на его долю приходится до 73% всех ОКИ бактериальной этиологии, что превышает заболеваемость сальмонеллезами и шигеллезами вместе взятыми [1]. Разнообразие клинических проявлений существенно осложняет диагностику кампилобактериоза — требуется обязательное лабораторное подтверждение. Следует отметить, что в Республике Беларусь, в Российской Федерации и в других странах СНГ лабораторное подтверждение случаев инфекции крайне низкое, а статистические данные по заболеваемости практически отсутствуют. Однако имеются предпосылки, указывающие на необходимость проведения микробиологического мониторинга возбудителя данной инфекции: стабильно высокий уровень заболеваемости ОКИ неустановленной этиологии, высокий уровень развития промышленного птицеводства на территории республики, широкое потребление в пищу продуктов птицеводства (основной фактор передачи кампилобактериоза) различными слоями населения [2, 3].

До настоящего времени диагностику заболевания, вызванного кампилобактериями, осуществляли культуральным методом, считающимся золотым стандартом. Для этих целей используется как транспортная, так и другие питательные среды с добавлением селективных добавок и без внесения таковых, которые выпускаются различными зарубежными фирмами (Merck; ГНЦ прикладной микробиологии (Оболensk); НИИ питательных сред (Махачкала) [4—6]. Помимо культурального метода для диагностики кампилобактериоза используют современные серологические и биохимические методы идентификации кампилобактерий с помощью высокоспецифических тест-систем, разработанных в основном зарубежными фирмами «R. Biopharm AG», «BioMérieux» и др.). В нашей стране отсутствуют препараты для диагностики кампилобактериоза как культуральным методом, так и с помощью биохимических, иммуноферментных и молекулярно-генетических тест-систем. В связи с этим разработка и усовершенствование современных, достоверных методов лабораторной диагностики кампилобактериоза, а также использование тестов и наиболее значимых подходов к идентификации возбудителя сохраняет свою актуальность. Ранее была разработана новая сухая селективная среда для выделения кампилобактерий из различных клинических источников и объектов внешней среды [7]. Отработаны физико-химические и бактериологические методы контроля, гарантирующие качество препарата при его серийном производстве. В настоящее время среда проходит клинические испытания в различных учреждениях микробиологического профиля Минска по единой утвержденной программе.

Цель исследования — разработка тест-системы «Кампи-Бел-стрип» для биохимической идентификации наиболее значимых видов кампилобактерий.

Материал и методы

В работе использованы тест-штаммы *Campylobacter*: *C. lari* (получен из коллекции культур Городского центра гигиены и эпидемиологии), *C. jejuni* ATCC 29428, *C. coli* ATCC 43478 из коллекции лабораторий клинической и экспериментальной микробиологии, а также клинические изоляты *C. jejuni*, выделенные из испражнений птиц (кур). Штаммы хранили в лиофилизированном состоянии в холодильнике при 2—8°C, рабочие культуры этих штаммов — в тиогликолевом бульоне при такой же температуре с обязательным пересевом на селективный агар с кровью для изучения их морфологии, чистоты популяции с окраской по Грамму. Изолированные жизнеспособные колонии бактерий использовали в работе для контроля качества

сред и тест-системы. При постановке биохимических реакций для идентификации кампилобактерий пользовались общепринятыми методами и реактивами. Математическую обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики [8].

Результаты и обсуждение

1. Оптимизация панели биохимических тестов для дифференциации кампилобактерий. Прототипом тест-системы для дифференциации бактерий рода *Campylobacter* может служить тест-система «API Campy» («BioMérieux», Франция), позволяющая дифференцировать по 21 биохимическому тесту 18 видов и подвидов кампилобактерий [9]. На практике существует необходимость дифференцировать значительно меньше видов кампилобактерий.

С этой целью была поставлена задача оценить относительную значимость тестов «API Campy» для различных видов и подвидов бактерий рода *Campylobacter*. Проведено ранжирование указанных признаков в зависимости от того, по каким из них есть различия между большим числом пар видов кампилобактерий. Принимались во внимание лишь случаи, когда в паре видов для одного из них зарегистрирована положительная реакция у 90—100% штаммов (+), для другого — от 0 до 10% (-); для 117 видовых пар имеются различия минимум по 1 тесту, иногда по 2—3 тестам и более. Для 37 пар различия были менее значимы, то есть для одного вида положительны 0—20% (в дальнейшем обозначено как d), для другого — 80—100% (обозначено D). Для 3 пар по одному или нескольким признакам по 30—40% или 50—60% штаммов дают различные реакции, то есть 3 пары практически невозможно дифференцировать, так как сложно опираться на подобные значения в связи с высокой вероятностью наличия противоположных значений признака. Таким образом, биохимические признаки кампилобактерий в тест-системе «API Campy» ранжировались следующим образом (рис. 1).

Несмотря на довольно высокий ранг, тест-активности гамма-глутамилтрансферазы (GGT) и ассимиляции малата (MLT) недостаточно эффективно дифференци-

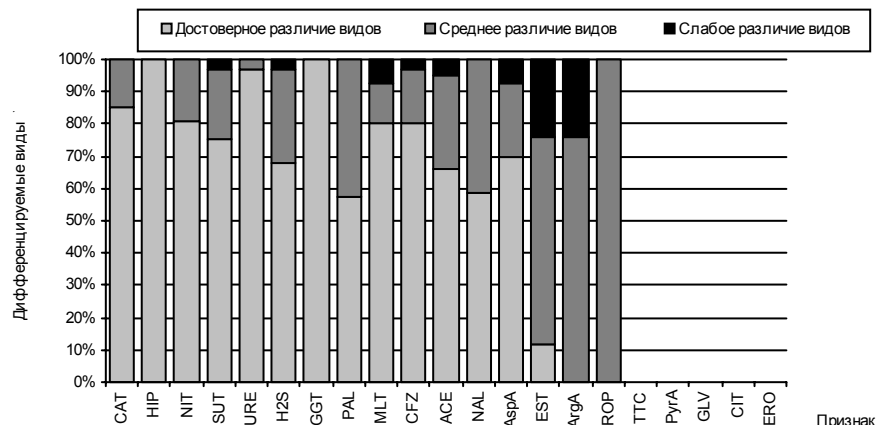


Рис. 1. Ранжирование признаков API Campy

руют кампилобактерии. Тесты на чувствительность к цефазолину (CFZ) и к налидиксовой кислоте (NAL) также мало полезны в связи с высокой вероятностью изменения чувствительности штаммов [10]. Эти и еще четыре теста — на аргининариламидазу (ArgA), аспаргатамидазу (AspA), эстеразную активность (EST) и ассимиляцию пропионата (PROP) — также могут быть использованы как дополнительные для уточнения дифференциации и ее подтверждения.

Тесты восстановления хлорида до трифенилтетразолиум (TTC), на пирролидонариламидазу (PyrA), глюкозу (ассимиляция) (GLU), цитрат (ассимиляция) (CIT), чувствительность к эритромицину (ERO) вообще бесполезны, так как не обеспечивают достоверных различий ни в одной из пар.

Также были пересмотрены виды кампилобактерий, включаемые в дифференциацию, в соответствии с данными определителя Берджи. По этим данным, вид *C. cinaedi* в 1991 г. отнесен к роду *Helicobacter* как *Helicobacter cinaedi*. Вид *C. cryaerophila* отнесен к новому роду *Arcobacter* как *Arcobacter cryaerophilus*. Вид *C. fennelliae* отнесен к роду *Helicobacter* как *Helicobacter fennelliae* [11]. В связи с этим данные виды, как и *Helicobacter pylori*, были исключены из дальнейшего рассмотрения. В результате в табл. 1 включены 14 видов и подвидов кампилобактерий, дифференцируемых по 8 основным биохимическим признакам.

Из табл. 1 видно, что по данному набору признаков указанные микроорганизмы достаточно хорошо различаются. Нет четкой дифференциации между подвидами *C. jejuni ssp. jejuni 1* и *C. jejuni ssp. jejuni 2*, но их можно различить по одному из дополнительных тестов — на глутамилтрансферазу. Сложности могут возникнуть с дифференциацией подвидов *C. fetus ssp. fetus* и *C. fetus ssp. venerealis*, при диагностике бактериальных внутриутробных инфекций (ВУИ). Отличить эти подвиды можно по способности к росту в присутствии 1% глицина и 3,5% NaCl. *C. fetus ssp. fetus* нечувствителен к наличию в питательной среде данных препаратов, в то время как *C. fetus ssp. venerealis* не способен

к росту в подобных условиях. Если же принять во внимание, что частота обнаружения *C. fetus ssp. fetus* составляет 88,5±4,4% от всех выделенных штаммов этого вида, к использованию дополнительных подтверждающих тестов приходится прибегать довольно редко [10]. Практически такая же ситуация наблюдается по видам *C. concisus* и *C. mucosalis*, последний должен давать только положительную реакцию по сероводороду. Однако, учитывая, что до рода дифференциация достаточно точна, а перечисленные выше виды являются редко встречающимися, подобный набор признаков может быть вполне достаточным для определения видовой принадлежности основных кампилобактерий.

Таким образом, на основе имеющихся данных составлена схема дифференциации кампилобактерий по биохимическим признакам. Проведено ранжирование признаков, оценена их относительная полезность для дифференциации. Проведен анализ возможных методов постановки необходимых биохимических реакций с учетом работы в микрообъемах в стрипах.

Следовательно, выбранные для тест-системы «Кампи-Бел-стрип» биохимические признаки этих микроорганизмов позволят установить родовую и (в большинстве случаев) видовую принадлежность изолятов, что является вполне приемлемым для практических лабораторий.

2. Подбор минимальных питательных сред для дифференциации кампилобактерий. Известно, что при разработке биохимических тест-систем необходимо использование минимальных питательных сред со всеми входящими в их состав ингредиентами, взятыми в оптимальных для роста культур концентрациях. В среде «AUX», используемой для этих целей в наборе «API Camпу», не конкретизирован набор ингредиентов. Поэтому было испытано по несколько вариантов питательных сред.

При приготовлении сред по указанной рецептуре использовали ферментативный пептон для бактериологических питательных сред и питательный бульон (ГМФ-бульон), полученные из рубцов, летошки крупного ро-

Таблица 1

Дифференциация кампилобактерий по 8 основным признакам

Вид	Гидролиз гиппурата	Гидролиз индоксил-ацетата	Восстановление нитратов	Уреаза	Каталаза	Продукция сероводорода	Утилизация сукцината	Утилизация ацетата
	HIP	INDA	NIT	URE	CAT	H ₂ S	SUT	ACE
<i>C. jejuni ssp. jejuni 1</i>	+	+	+	-	+	-	+	D
<i>C. jejuni ssp. jejuni 2</i>	+	+	+	-	+	-	+	D
<i>C. jejuni ssp. doylei</i>	+	+	-	-	+	-	D	D
<i>C. coli</i>	-	+	+	-	+	-	+	D
<i>C. upsaliensis</i>	-	+	+	-	d	-	d	-
<i>C. fetus ssp. fetus</i>	-	-	+	-	+	-	+	D
<i>C. fetus ssp. venerealis</i>	-	-	+	-	+	D	+	d
<i>C. sputorum ssp. fecalis</i>	-	-	+	-	+	+	+	+
<i>C. lari ssp. UPTC</i>	-	-	+	+	+	+	-	-
<i>C. lari</i>	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>C. hyointestinalis</i>	-	-	D	-	+	-	+	+
<i>C. sputorum ssp. bubulus</i>	-	-	D	-	-	+	D	D
<i>C. concisus</i>	-	-	-	-	-	D	+	D
<i>C. mucosalis</i>	-	-	-	-	-	+	+	+

Таблица 2

Подбор среды для изучения способности к гидролизу гиппурата натрия

Состав	Концентрация компонентов, г/100 мл дистиллированной воды		
	№ 1	№ 2	№ 3
Пептон	0,5	1,0	0
ГМФ-бульон	0	0	1,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,2	0,2	0,2
Агар	0,15	0,15	0,15
Фосфатный буфер (K ₂ HPO ₄ /Na ₂ HPO ₄)	0	0,06 М	0

гатого скота и мяса кур. Как было указано ранее, пептон отличался высокой питательной ценностью и использовался при производстве сухой селективной среды для выделения кампилобактерий. Питательный бульон, кроме того, содержит дополнительно в качестве гидролизуемых компонентов мясо говядины и конины. В качестве тестовых штаммов были использованы *S. jejuni*, *S. coli*, *S. lari*. Первоначально для испытания образцов сред применяли пробирочный тест, внося в микропробирки по 1,5 мл среды и суспензии культур (эквивалент стандарту мутности 6 Мак-Фарланда). Сравнительные испытания образцов сред, приготовленных на указанных гидролизатах, показали принципиальную возможность их использования в качестве минимальных сред для культивирования испытуемых микроорганизмов. Однако оптимальный рост культур наблюдался на образце № 2, в котором был использован ферментативный пептон в концентрации 1,0 и 0,06 М, фосфатный буфер (ФБ), состоящий из смеси солей K₂HPO₄ и Na₂HPO₄, приготовленных по классической прописи.

При проверке теста на восстановление (редукцию) нитратов подошли оба варианта минимальных сред с использованием указанного выше пептона, равно как и среда Кристенсена для определения уреазной активности. В тестах утилизации сукцината и натрия ацетата для роста культур были использованы минимальные питательные среды, содержащие в качестве источника питания соответствующие органические кислоты и индикатор бромтимоловый синий, приготовленные по классической прописи.

3. Схема постановки опыта биохимической идентификации кампилобактерий с помощью тест-системы «Кампи-Бел-стрип». В качестве реагентов апробированы тест-реагтивы, обычно используемые для дифференциации кампилобактерий в тест-системах

аналогичного типа. Приготовленные питательные среды разливали в заранее подготовленные колбы, закрывали ватно-марлевыми пробками, стерилизовали в автоклаве при 0,5 атм. в течение 30 мин. Внесение сред в лунки стрипов стандартизировали с помощью автоматической микропипетки. Объем среды, вносимой в одну лунку, составлял 0,2 мл. Все реагенты растворяли в небольшом количестве воды или растворителя, доводя общий объем до 100 мл. Устанавливали pH 7,2, добавляя индикаторы.

Камеры со стрипами помещали в термостат для инкубации при 37°C в микроаэрофильной атмосфере в течение 18—24 ч. При соответствующих условиях в среду, находящуюся в лунке стрипа, выделяются продукты метаболизма бактерий, которые либо изменяют цвет индикатора, либо цветность реакции при добавлении соответствующих реагентов. Оценку результатов проводили по изменившейся или неизменившейся окраске среды в лунке стрипа согласно таблице интерпретации результатов реакций (табл. 4).

Для музейных штаммов кампилобактерий должно быть характерно соответствие положительных и отрицательных биохимических реакций, указанных для данного вида в таблицах идентификации в инструкции по применению.

Как видно из данных табл. 5, на основе подобранных тестов можно достаточно четко дифференцировать род *Campylobacter* до основных его видов.

Схема выделения и идентификации кампилобактерий с использованием 8 биохимических тестов представлена на рис. 2.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработана технология получения отечественной биохимической тест-системы для дифференциации наиболее значимых видов кампилобактерий.

Основным преимущественным отличием от известных тест-систем для кампилобактерий является простота ее изготовления, полноценный рецептурный состав

Таблица 3

Подбор среды для изучения восстановления (редукции) нитратов

Состав	Концентрация компонентов, г/100 мл	
	№ 1	№ 2
Пептон	0,5	0,5
KNO ₃	0,02	0,01
NaCl	0	0,25
pH	7,4	7,1—7,2

Таблица 4

Интерпретация результатов биохимических реакций

Биохимический признак	Обозначение	Положительный результат (+)	Отрицательный результат (-)
Гидролиз гиппурата	HIP	Темно-фиолетовый	Бесцветный
Восстановление нитратов	NIT	Красный	Бесцветный
Уреазная активность	URE	Красный	Желтый
Продукция сероводорода	H ₂ S	Почернение	Бесцветный
Ассимиляция сукцината	SUC	Желтый	Бесцветный
Ассимиляция ацетата	ACE	Желтый	Бесцветный
Каталазная активность (вне стрипа)	CAT	Выделение газа при контакте с перекисью водорода	Отсутствие газообразования
Гидролиз индоксилацетата (вне стрипа)	INDA	Сине-зеленое окрашивание	Бесцветный

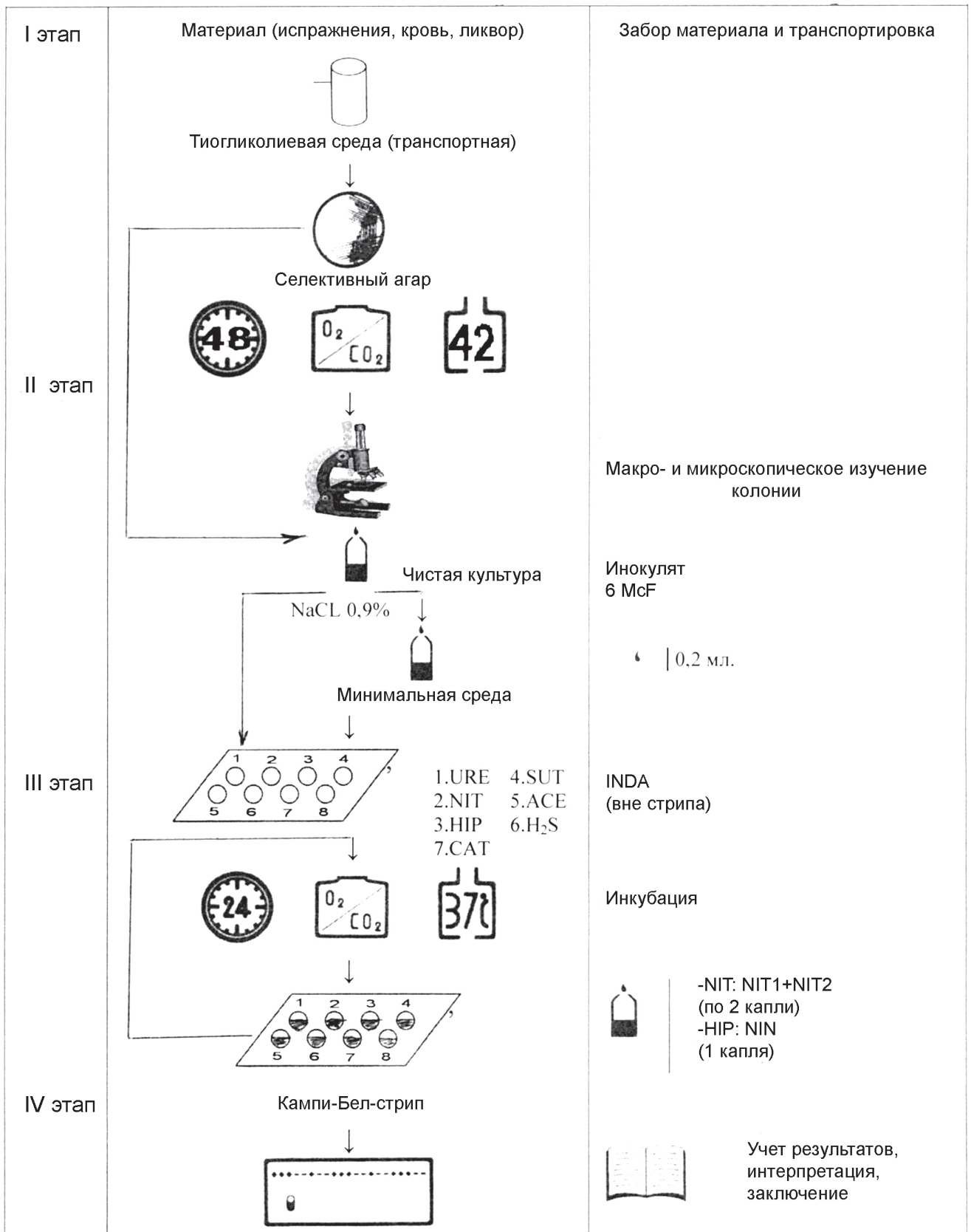


Рис. 2. Схема выделения и идентификации кампилобактерий

Таблица 5

Результаты биохимических реакций
трех видов кампилобактерий

Биохимическая реакция	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>
Гидролиз гиппурата	+	-	-
Восстановление нитратов	-	+	+
Уреазная активность	-	-	-
Каталазная активность	+	+	+
Продукция сероводорода	-	-	-
Ассимиляция сукцината	+	+	-
Ассимиляция ацетата	+	+	-

минимальных питательных сред и сокращение сроков исследования за счет подбора наиболее рациональной схемы идентификации культур по биохимическим признакам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Газиумарова Л. Д., Панышина Е. Ф., Титов Л. П. // *Здравоохранение*.—2008.— № 11.— С. 18—23.
2. Инфекционная заболеваемость за 2007, 2008, 2009 г. по Республике Беларусь // *Санитарно-эпидемиологическое благополучие населения*. Информ. бюл.— Минск, 2007.— №№ 6, 8; 2008.— № 3; 2009.— № 1—3.
3. Санитарные и ветеринарные правила «Кампилобактериоз» МЗ РБ.— Минск, 2003.
4. *Microbiology Manual*.— Merck, 1996/97.— P. 27.
5. *Бактериальные среды: Каталог*.— Оболенск, 1999.

Т. С. ЕРМАКОВА, Л. П. ТИТОВ, Л. А. ВИННИЧЕК,
Л. И. ДАШУКЕВИЧ, Л. П. КРАМАРЕНКО

ЭТИОЛОГИЯ ОСТРЫХ
РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

РПНЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Изучить видовой состав и антибиотикорезистентность возбудителей бактериальной природы у пациентов с острой респираторной инфекцией (ОРИ) внебольничного происхождения.

Материал и методы. Материалом для исследования служили пробы мокроты, отделяемое из полости рта, носа, рото- и носоглотки. Изучали следующие группы бактерий: стрептококки, гемофилы, стафилококки, энтеробактерии, дрожжеподобные грибы. Исследовано 2150 изолятов.

Результаты. Установлены изменения в этиологии ОРИ за счет расширения спектра возбудителей инфекций. У взрослых пациентов в этиологии ОРИ важную роль играют *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*, коагулазонегативные стафилококки, ГОБ и др. Препаратами выбора для грамположительной микрофлоры могут быть ингибиторозащищенные пенициллины, цефалоспорины III—IV поколения (цефтриаксон, цефтазидим, цефотаксим, цефепим), линкозамиды, ванкомицин. Высокой природной активностью в отношении грамотрицательных бактерий обладают ингибиторозащищенные пенициллины, цефалоспорины III—IV поколения, карбапенемы, фторхинолоны.

Заключение. Полученные данные помогут врачам поликлинического звена повысить эффективность эмпирической

6. *Справочник по микробиологическим питательным средам и микротест-системам*.— Махачкала, 1999.

7. Титов Л. П., Газиумарова Л. Д. // *Современные проблемы инфекционной патологии человека: Сб. науч. трудов*.— Минск, 2009.— Вып. 2.— С. 436—440.

8. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*.— М., 1999.

9. *Определитель бактерий Берджи* / Под ред. Дж. Холлта и др.— М., 1997.— Т. 1.

10. Шухама Я. А., Поздеев О. К., Ибрагимова А. А. и др. // *ЖМЭИ*.— 2009.— № 1.— С. 80—83.

11. Vandamme A. et al. // *Int. J. Sys. Bacteriol.*— 1991.— Vol. 41.— P. 88—103.

Поступила 23.07.10.

IDENTIFICATION NEW DIAGNOSTIC TEST-SYSTEM FOR
CAMPILOBACTER

L. D. Gaziumarova, E. F. Panshina, A. E. Pyzh, I. V. Shnyp,
L. P. Titov

Objective. Development of the new test-system Campi-Bel-Strip for biochemical identification of the most important *Campilobacter* species. **Material and methods.** The *Campilobacter* test-strains *C. lari*, *C. jejuni*, *C. coli* as well as *C. jejuni* clinical isolates isolated from chicken feces were used for the test-system development. When performing biochemical reactions for *Campilobacter* identification the known methods and reagents were used.

Results. A technology for obtaining a national biochemical test-system differentiating between the most important *Campilobacter* species was developed. Simplicity of its production, the minimal nutritional media composition and reduction of the study terms due to selecting of a most rational scheme for the culture identification by the biochemical signs are the main advantages as compared with the known test-systems.

Key words: *Campilobacter*, isolation and identification, biochemical test-system.

рациональной антибиотикотерапии, снизить частоту применения неэффективных антибактериальных препаратов, что будет способствовать снижению распространения множественно-устойчивых бактерий среди населения.

Ключевые слова: острая респираторная инфекция, этиология, антибиотикорезистентность.

Острые респираторные заболевания (ОРИ), вызванные условно-патогенными микроорганизмами, относятся к наиболее частым заболеваниям человека. Большая часть пациентов с такими инфекциями наблюдается врачами амбулаторного звена здравоохранения, и случаи возникновения таких инфекций относятся к внебольничным [1, 2]. Распространенность данных воспалительных процессов имеет важное значение не только в медицинском, но и в социально-экономическом аспекте, так как характеризуется высокой частотой как у детей, так и у взрослых, приводит к ограничению трудоспособности, является частой причиной госпитализации и возникновения хронических воспалительных заболеваний нижних отделов дыхательных путей. Кроме того, наибольшая частота эмпирически назначаемых лечебными врачами антибиотиков приходится на амбулаторную практику поликлинического звена учреждений здравоохранения, и в этой связи необходимы глубокие знания об этиологии и антибиотикочувствительности возбудителей, их влиянии на экологию и эпидемиологию микробной резистентности [3, 4, 8].

Проблему резистентности микроорганизмов до начала 90-х годов прошлого столетия обычно обсуждали применительно к возбудителям госпитальных инфекций. В последние десятилетия в мире отмечены также неблагоприятные тенденции в динамике антибиотикорезистентности возбудителей ОРИ внебольничного происхождения.

Появление устойчивости к антибактериальным препаратам возбудителей внебольничного происхождения — логическое следствие расширяющегося нерационального использования антибиотиков в общеврачебной практике [5—7]. Бесконтрольное эмпирическое назначение антибиотиков приводит к формированию и циркуляции среди населения (в семьях, в организованных коллективах) множественно-устойчивых штаммов. Вследствие этого нерациональное использование антимикробных средств наносит огромный финансовый ущерб и приводит к неоправданным потерям ресурсов Министерства здравоохранения и всего народного хозяйства страны. Нельзя не отметить и роль применяемых в животноводстве и птицеводстве антимикробных препаратов, остаточное количество которых в мясе и молоке способствует возникновению и распространению устойчивых форм нормальной микрофлоры человека [9]. В результате селективного прессинга антибиотиков, применяемых в медицинской и ветеринарной практике, распространение антибиотикорезистентности приняло глобальный характер. Бактерии, вызывающие спорадические случаи и вспышки ОРИ среди населения, потенциально могут быть возбудителями вспышек и в стационаре. В связи с этим назначение препаратов врачами амбулаторного звена без определения этиологической значимости микроорганизмов и чувствительности к антибиотикам в большинстве случаев бывают не только нерациональны, но и ничем не обоснованы. Складывается ситуация, когда привычно назначаемые годами препараты оказываются просто недейственными, что весьма серьезно отражается на эффективности лечебного процесса.

Целью настоящей работы было изучение этиологии ОРИ бактериальной природы и изучение чувствительности к антибиотикам этиологически значимых выделенных возбудителей.

Материал и методы

Исследования выполнены в лаборатории клинической и экспериментальной микробиологии РНПЦ эпидемиологии и микробиологии в 2009—2010 гг.

Объектом исследования были пациенты обоего пола в возрасте от 25 до 60 лет, обратившиеся по направлению лечащих врачей поликлиник с диагнозом ОРИ, не находящиеся на стационарном лечении.

Материалом для исследования служили пробы мокроты, отделяемое из полости рта, носа, рото- и носоглотки. Клинический материал у больных с респираторной патологией забирали в соответствии с правилами взятия материала [3, 4]. Исследовали следующие группы бактерий: стрептококки, гемофилы, стафилококки, энтеробактерии, дрожжеподобные грибы. Не по-

зднее 1—2 ч от момента забора высевали на чашки с 5% кровяным, желточно-солевым, дезоксихолатным или Эндо агаром, Конгорот агаром, шоколадным агаром и агаром Сабуро. Посев материала проводили количественным методом с пересчетом количества микроорганизмов на 1 мл материала. Высеянные жидкие и плотные питательные среды инкубировали при 37°C в течение 24—48 ч. Идентификацию выделенных культур бактерий осуществляли на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств [4], отбирали штаммы, титр которых был 10^6 и более. Исследовано 2150 изолятов.

В работе использовали среды и реактивы российского производства, тест-системы для биохимической идентификации энтеробактерий производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии. Определение антибиотикочувствительности идентифицированных микроорганизмов проводили диско-диффузионным методом на среде с использованием агара Мюллера—Хинтона.

Для верификации видовой принадлежности выделенных микроорганизмов и определения антибиотикочувствительности использовали микробиологический анализатор «Vitek 2 Compact» («Biomérieux»).

Результаты обрабатывали статистически с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

Посев клинического материала на дифференциально-диагностические среды с полуколичественной оценкой выделенной микрофлоры с последующим определением антибиотикочувствительности является общепринятым и позволяет выявить этиологически значимые титры инфекционного агента (10^6 кл./мл и более), дает возможность в максимально короткие сроки изучить его антибиотикорезистентность и вирулентность, что помогает в выборе лекарственных препаратов для стартовой антибактериальной терапии.

Этиология ОРИ обычно обусловлена представителями нормальной микрофлоры верхних отделов дыхательных путей (полость рта, носа, рото- и носоглотка). Из множества видов микроорганизмов, колонизирующих верхние отделы дыхательных путей, лишь некоторые, обладающие повышенной вирулентностью, способны вызвать воспалительную реакцию даже при минимальных нарушениях защитных механизмов. Известно более 100 видов микроорганизмов, способных вызывать острые респираторные заболевания, почти все они хотя бы однократно были выделены из клинического материала.

Характеристика микрофлоры верхних отделов дыхательного тракта у пациентов с ОРИ представлена в табл. 1.

Как следует из представленных данных, наиболее часто в клиническом материале больных возбудителями ОРИ в 2009 г. были стрептококки (33,3%) и стафилококки (39,5%), которые в сумме по удельному весу составляли 74,1% от общего числа идентифицированных штаммов. Реже встречались энтеробактерии (17,9%) и гемофильные палочки (1,9%). Другие

Таблица 1

Структура и удельный вес основных видов бактерий, выделенных у пациентов с острыми респираторными заболеваниями

Микроорганизм	Количество штаммов	Удельный вес, %
Семейство <i>Streptococcaceae</i>		
<i>Streptococcus agalactiae</i>	213	9,9
<i>Streptococcus viridans</i>	167	7,8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	210	9,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	125	5,8
Семейство <i>Staphylococcaceae</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	530	24,7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	320	14,8
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>		
<i>Escherichia coli</i>	128	5,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	120	5,6
<i>Proteus mirabilis</i>	55	2,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	50	2,3
<i>Citrobacter diversus</i>	36	1,6
Семейство <i>Moraxellaceae</i>		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10	0,5
Семейство <i>Pseudomonadaceae</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	97	4,6
Семейство <i>Pasteurellaceae</i>		
<i>Haemophilus influenzae</i>	40	1,9
<i>Actinobacillus hominis</i>	4	0,2
Семейство <i>Bacillaceae</i>		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	28	1,3
Семейство <i>Micrococcaceae</i>		
<i>Micrococcus luteus</i>	17	0,8
Всего...	2150	100

изоляты микроорганизмов составляли 9,3% от общего числа изученных штаммов. В материале пациентов с ОРВИ до 30% случаев выявлялась ассоциация двух и более микроорганизмов (стафилококк—энтеробактерия, стрептококк—энтеробактерия, стрептококк—стафилококк).

Как известно, наиболее часто эмпирически назначаемое и потребляемое количество антибиотиков в стране приходится на амбулаторную практику. В этой связи нельзя не учитывать их влияние на экологию нормальной микрофлоры и эпидемиологию микробной резистентности, то есть резистентности эпитопа дыхательных путей. Как свидетельствуют результаты определения антибиотикорезистентности, устойчивость к антибиотикам этиологически значимых возбудителей внебольничных инфекций из года в год, как правило, возрастает [10—12]. Результаты определения антибиотикорезистентности идентифицированных видов стрептококков представлены в табл. 2.

Как следует из представленных данных, клинически значимые стрептококки — *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* проявили пониженную чувствительность к препаратам группы пенициллинов (до 40% устойчивых штаммов), к эритромицину (до 34,7% устойчивых штаммов), тетрациклину (до 25,6% устойчивых штаммов). Однако к аминопенициллинам (амоксциллин) и ингибиторозащищенным пенициллинам (ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат) устойчивых штаммов было выявлено только от 10 до

14%. Низкий уровень резистентности стрептококков выявлен в отношении цефалоспоринов. Цефотаксим и цефепим (III—IV поколение цефалоспоринов) проявили высокую эффективность в отношении как *Streptococcus pneumoniae*, так и *Streptococcus pyogenes* (0—0,6% резистентных штаммов). Выявленная устойчивость к эритромицину дает основание предположить, что эффективность и других макролидных антибиотиков заметно уменьшается. Применение этих антибиотиков при респираторных инфекциях снижается за последние годы [6]. В отношении ранних фторхинолонов (ципрофлоксацин, офлоксацин) частота резистентных штаммов стрептококков составляет 1,5%. Новые фторхинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин) характеризуются высокой активностью, и стрептококковой резистентности в настоящее время не отмечено. Этиологическая значимость стафилококков возрастает у больных пожилого возраста, а также на фоне ОРВИ и особенно после перенесенного гриппа.

Как следует из представленных в табл. 2 данных, до 92% штаммов *Staphylococcus aureus* устойчивы к пенициллину, так как продуцируют β-лактамазы, разрушающие природные и полусинтетические пенициллины. Однако эти ферменты подавляются ингибиторами защищенных пенициллинов, что хорошо прослеживается по резистентности к амоксициллин/клавуланату — 12,4—14,6% для *S. haemolyticus* и *S. aureus* соответственно. Низкий уровень резистентности стафилококков выявлен в отношении цефалоспоринов II—IV поколения, а также фторхинолонов. Среди препаратов данной группы наибольшее значение имеют «респираторные» фторхинолоны — левофлоксацин, моксифлоксацин, — которые активны в отношении большинства возбудителей ОРВИ. Устойчивость стафилококков к этим препаратам составляет от 0 до 1,5%. Средствами выбора для лечения стафилококковых ОРВИ являются оксациллин, амоксициллин/клавуланат, цефалоспорины II—IV поколения, среди фторхинолонов самой высокой антистафилококковой активностью обладает моксифлоксацин. Как следует из приведенных данных, против грамположительных возбудителей ОРВИ внебольничного происхождения высокоактивны гликопептиды — ванкомицин.

Несмотря на то, что грамотрицательные бактерии (ГОВ) не относятся к ведущим возбудителям бронхолегочной инфекции, поскольку (см. табл. 1) удельный вес в структуре возбудителей ОРВИ у *E. coli* составляет 5,9%, *K. pneumoniae* — 5,6%, *P. aeruginosa* — 4,6%, важно, особенно на первоначальном этапе лечения, правильно выбрать лекарственное средство для подавления этих возбудителей с учетом современных представлений об этиологии заболевания и антибиотикорезистентности в разных группах больных.

Антибиотикорезистентность *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* представлена в табл. 3.

Как следует из представленных в табл. 3 данных, *E. coli* в качестве возбудителя ОРВИ проявила высокую устойчивость к пенициллинам (к амоксициллину — 70% устойчивых штаммов), чувствительность к защищен-

Таблица 2

Устойчивость к антимикробным препаратам основных видов стрептококков и стафилококков у больных ОРИ внебольничного происхождения

Антимикробный препарат	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>Streptococcus pyogenes</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
	n	устойчивость, %	n	устойчивость, %	n	устойчивость, %	n	устойчивость, %
Пенициллин	127	38,2	103	40,0	385	92,2	294	84,8
Амоксициллин	110	14,0	71	14,0	146	58,2	107	57,0
Оксациллин	110	12,2	190	10,9	385	12,2	284	14,8
Ампициллин/сульбактам	110	11,1	149	10,4	158	22,7	115	19,1
Амоксициллин/клавуланат	90	13,1	90	14,0	397	14,6	292	12,4
Цефалексин	110	12,8	190	12,6	530	13,6	399	13,0
Цефазолин	110	16,0	190	15,0	339	16,8	249	16,4
Цефуроксим	110	2,9	190	3,8	203	4,9	148	4,0
Цефотаксим	110	0,2	190	0,6	530	6,5	396	6,0
Цефепим	110	0	190	0	530	1,4	399	1,1
Офлоксацин	110	1,6	190	1,5	455	1,7	334	1,5
Ципрофлоксацин	110	1,5	190	1,5	530	1,8	390	1,9
Моксифлоксацин	90	0	50	0	90	0,1	68	0
Левифлоксацин	110	0,1	190	0,2	439	1,5	302	0,6
Гентамицин	-*	-	-	-	88	5,6	64	4,7
Амикацин	-	-	-	-	530	2,0	399	2,2
Эритромицин	110	34,7	190	31,3	460	63,0	338	58,9
Тетрациклин	110	25,6	190	24,2	460	42,1	338	39,8
Нитрофурантоин	110	16,9	190	16,2	338	17,1	249	16,4
Ванкомицин	90	0,1	60	0,1	335	1,1	90	0,3

*Аминогликозиды не имеют клинически значимой активности в отношении стрептококков.

Таблица 3

Устойчивость ГОБ к антимикробным препаратам

Антимикробный препарат	<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	n	устойчивость, %	n	устойчивость, %	n	устойчивость, %
Амоксициллин	92	70,0	100	76,0	94	100,0
Амоксициллин/клавуланат	86	14,8	100	14,2	92	97,7
Пиперациллин/тазобактам	96	12,5	120	20,6	97	39,3
Цефазолин 1	102	100,0	120	100,0	97	100,0
Цефалексин 1	118	100,0	106	100,0	94	100,0
Цефуроксим 2	100	56,7	102	58,9	95	100,0
Цефтриаксон 3	118	17,0	100	30,0	91	36,1
Цефтазидим 3	144	16,3	100	27,5	91	30,0
Цефотаксим 3	118	13,5	100	23,3	91	60,2
Цефепим 4	119	0	100	0	97	10,4
Офлоксацин	100	15,0	100	20,9	97	33,3
Ципрофлоксацин	98	2,8	100	3,8	97	15,4
Моксифлоксацин	98	1,0	100	0,9	90	35,8
Левифлоксацин	110	2,1	100	2,2	90	21,5
Гентамицин	100	26,6	98	27,8	97	41,8
Амикацин	108	18,8	100	32,1	97	30,3
Меропенем	102	0	100	0	90	0
Имипинем	102	0	100	0	90	0

*Природная устойчивость.

ным пенициллинам (пиперациллин/тазобактам, амоксициллин/клавуланат 12,5% и 14,8% устойчивых штаммов соответственно). Цефалоспорины III—IV поколения (цефтриаксон, цефтазидим, цефотаксим, цефепим) высокоэффективны в отношении этого возбудителя (устойчивых штаммов от 0 до 17,0%), тогда как цефалоспорины I—II поколения малоэффективны. Наибольшей природной активностью в отношении этого возбудителя обладают аминогликозиды (амикацин, гентамицин), карбапенемы, фторхинолоны.

Klebsiella pneumoniae встречается, как правило, у больных с тяжелыми сопутствующими заболеваниями (сахарный диабет, застойная сердечная недостаточ-

ность, цирроз печени и др.). Более высокую антимикробную активность в отношении этого возбудителя проявили защищенные пенициллины (пиперациллин/тазобактам, амоксициллин/клавуланат), цефалоспорины III—IV поколения (цефтриаксон, цефтазидим, цефотаксим, цефепим), карбапенемы (имипенем, меропенем), фторхинолоны (моксифлоксацин, левифлоксацин).

P. aeruginosa при ОРИ в редких случаях может вызывать заболевание у больных с бронхоэктазами и иммуносупрессией. По данным проведенных исследований, в отношении синегнойной палочки проявили активность некоторые β-лактамы (пиперациллин/тазобактам, цефтазидим, цефоперазон, цефепим, имипенем,

меропенем), аминогликозиды и фторхинолоны (наиболее активен ципрофлоксацин). Выделенные штаммы *P. aeruginosa* были резистентны к остальным изученным классам антибиотиков.

Таким образом, у пациентов с ОРИ внебольничного происхождения в период с октября 2009 по февраль 2010 г. установлены изменения в этиологии данной инфекции за счет расширения спектра возбудителей. У взрослых пациентов в этиологии ОРИ доминирующую роль играют *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*, коагулазонегативные стафилококки, ГОБ и др. Необходимость установления этиологического агента для обоснования этиотропной терапии у пациентов амбулаторного звена разделяют и зарубежные авторы [6, 8, 9, 12], так как важно на первоначальном этапе лечения правильно выбрать лекарственное средство для подавления инфекции с учетом современных представлений об этиологии заболевания в разных группах больных и фармакологических характеристик химиопрепаратов.

Полученные результаты показывают, что препаратами выбора для лечения пневмококковой инфекции являются аминопенициллины (амоксциллин), ингибиторозащищенные пенициллины (амоксциллин/клавуланат и др.) и цефалоспорины III поколения (цефотаксим, цефтриаксон). Высокой эффективностью обладают респираторные фторхинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин) и ванкомицин. Препаратами выбора при стафилококковых ОРИ могут быть ингибиторозащищенные пенициллины, цефалоспорины III—IV поколения (цефтриаксон, цефтазидим, цефотаксим, цефепим), линкозамиды, ванкомицин. Высокой природной активностью в отношении возбудителей семейства *Enterobacteriaceae* обладают ингибиторозащищенные пенициллины, цефалоспорины III—IV поколения, карбапенемы, фторхинолоны. Тенденция формирования антибиотикорезистентности ведущих этиологических агентов ОРИ в общей популяции человека представляет несомненный интерес. Вполне очевидно, что селекция и распространение микроорганизмов, резистентных к антибиотикам, может происходить не только на фоне их применения в современной клинической практике, но и в ветеринарии. Вероятно, распространение множественной устойчивости среди внебольничных штаммов микроорганизмов является лишь вопросом времени. Следовательно, время жизни современных антибиотиков как эффективных антимикробных средств во многом зависит от их разумного применения.

Полученные данные помогут врачам поликлинического звена повысить эффективность эмпирической рациональной антибиотикотерапии, снизить частоту применения неэффективных антибактериальных препара-

тов, что будет способствовать снижению распространения множественно-устойчивых бактерий среди населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по инфекционному контролю в стационаре.— Второе издание.— Международное общество по инфекционным болезням (ISID) / Под ред. Р. Венцлер, Т. Бревер, Ж.-П. Бутцлер.— 2003.— С. 44—70.
2. Горбунов В. А., Титов Л. П., Ермакова Т. С., Блыга Е. Г. // Материалы науч.-практ. конф. «75 лет санитарно-эпидемиологической службы».— Минск, 2001.— С. 372—377.
3. Ермакова Т. С., Горбунов В. А., Титов Л. П. // Проблемы бактериологии и иммунологии.— Минск, 2005.— С. 74—77.
4. Зубков М. Н., Самойленко В. А., Гуцуцидзе Е. Н., Чучалин А. Г. // Пульмонология.— 2001.— № 3.— С. 38—41.
5. Синопальников А. И., Стречунский Л. С. // Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия.— 2001.— № 3.— С. 54—68.
6. American Thoracic Society. Guidelines for the Management of Adults with Community-Acquired Pneumonia // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 2001.— Vol. 163.— P. 1730—1754.
7. Bartlett J. C., Mundy L. M. // *N. Eng. J. Med.*— 1995.— Vol. 333.— P. 1618—1624.
8. Bartlett J. G., Dowell S. F., Mandell L. A., et al. // *Clin. Infect. Dis.*— 2000.— Vol. 31.— P. 347—382.
9. British Thoracic Society. British Thoracic Society Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults // *Thorax.*— 2001.— Vol. 56 (Suppl. IV)— P. iv1—iv64.
10. Gorbunov V. A., Titov L. P., Ermakova T. S., Blyha K. H. // *FEMS Congress of European microbiologists: Abstr.*— Ljubljana, 2003.— P. 8—14, P. 298.
11. Cuchna B. A. // *Clin. Microbiol. Infect.*— 2001.— Vol. 7.— P. 581.
12. Mandell L. A., Marrie T. J., Grossman R. E., et al. // *Clin. Infect. Dis.*— 2000.— Vol. 31.— P. 383—421.

Поступила 23.07.10.

ETIOLOGY OF ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS

T. S. Ermakova, L. P. Titov, L. A. Vinnichuk, L. I. Dashukevich, L. P. Kramarenko

Objective. To study the species composition and the bacterial pathogenic agents resistance to antibiotics in patients with acute respiratory infections (ARI) of out-of-hospital origin.

Materials and methods. Samples of sputum, discharges from the mouth, nose, pharynx and nasopharynx served as materials for studies. The following groups of bacteria were studied: streptococci, hemophilii, staphylococci, enterobacteria, yeast-like fungi. In total 2150 isolates were studied.

Results. Certain changes were revealed in the ARI etiology due to the infectious agents spectrum extension. In adults *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*, coagulase negative staphylococci, gram-negative bacteria, etc. were determined to play an important role in the ARI etiology. Inhibitors protecting penicillins, cephalosporins of the III—IV generations (ceftriaxon, ceftazidim, ceftotaxim, cephepim), lincosamids, vancomycin can be preparations of choice against the gram-positive microflora. Inhibitors protecting penicillins, cephalosporins of the III—IV generations, carbapenems, fluorquinolones demonstrate high natural activity against gram-negative bacteria.

Conclusion. The data obtained will help polyclinic physicians increase the empiric rational antibioticotherapy efficiency, reduce the frequency of inefficient anti-bacterial drugs administration thus favoring reduction of multi-resistant bacteria spread among the population.

Key words: acute respiratory infection, etiology, resistance to antibiotics.

А. А. ШТЫРОВ, С. В. ОРЛОВА

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АДЕНОВИРУСОВ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Целью работы являлась разработка и оптимизация условий постановки диагностической ПЦР для детекции ДНК аденовируса. Были исследованы и оптимизированы условия постановки ПЦР: температура отжига праймеров, состав реакционной смеси, концентрация праймеров, чувствительность и специфичность праймеров. В подобранных условиях чувствительность праймеров была эффективнее по сравнению с тест-системой производства «AmpliSense» (Россия).

Ключевые слова: диагностическая полимеразная цепная реакция, аденовирусы.

Аденовирусы человека являются безоболочечными ДНК-содержащими вирусами и относятся к роду *Mastadenovirus* семейства *Adenoviridae*. Семейство представляет собой гетерогенную группу, насчитывающую 52 типа возбудителей. Аденовирусы размножаются в эпителиальных клетках, способны поражать ткани дыхательных путей, глаз, желудочно-кишечного тракта и являются этиологическими агентами ряда заболеваний. Они вызывают обширные вспышки в организованных коллективах, больничных отделениях, среди студентов и молодого пополнения военнослужащих срочной службы. Некоторые типы аденовирусов (например, серотипы аденовирусов группы С) служат причиной латентных форм инфекции, создающих условия для развития хронических форм заболеваний [1—3].

В профилактике и лечении вирусных болезней быстрая и точная лабораторная диагностика имеет важное значение для определения этиологии заболевания, формирования объективного диагноза, выбора форм и способов лечебных процедур и организации профилактических противоэпидемических мероприятий. Ранняя диагностика аденовирусной инфекции позволяет избежать необоснованного применения антибиотиков и тем самым снижает риск развития резистентности к ним [4, 5].

Диагностику аденовирусной инфекции осуществляют путем изоляции вируса на культурах клеток, обнаружения вируса с помощью электронной микроскопии и специфической детекцией вирусных антигенов иммунофлюоресцентным и иммуноферментным методами. Кроме этих методов, в последнее время все больше применяют молекулярные методы диагностики, основанные на определении наличия нуклеиновых кислот. Одним из таких методов является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Этот метод высокоспецифичен и очень чувствителен. Для достижения высокой достоверности результата при детекции ДНК аденовируса важным этапом является отработка оптимальных условий постановки реакции и подбор необходимой концентрации компонентов реакционной смеси [3, 6, 7].

Целью настоящей работы являлось исследование и оптимизация условий постановки диагностической полимеразной цепной реакции для детекции ДНК аденовируса.

Материал и методы

В работе использовали аденовирусы 1—3, 5—7-го серотипов. Для накопления вируса проводили 3 последовательных пассажа на культуре клеток Her-2С.

В качестве ростовых сред использовали питательную среду Игла, модифицированную Дульбеко (DMEM). Для роста клеток использовали DMEM с добавлением 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота. При длительном культивировании клеток проводили еженедельную смену ростовой среды на среду поддержки, содержащую 1—2% сыворотки крови.

Выделение ДНК проводили в соответствии с инструкцией по применению комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» («АмплиСенс», Россия). При постановке ПЦР использовали стандартную реакционную смесь (0,5 ед. Taq-polymerase, 1,5 ммоль $MgCl_2$, 100 мкмоль dNTP, 5 мкл ДНК, буфер и праймеры) с определенными вариациями в концентрациях солей буфера и праймеров. Реакцию осуществляли при следующих условиях: после начальной денатурации ДНК (3 мин при 94°C) проводили 35 циклов с разной температурой и временными показателями амплификации. В последнем цикле амплификации элонгацию проводили в течение 5 мин. В качестве контроля использовали набор «АмплиСенс Adenovirus-Eph» и смесь ПЦР-2-blue («АмплиСенс», Россия).

Синтез ПЦР-продуктов анализировали методом электрофореза в 1,5% агарозном геле в трис-ацетатном буфере, рН 8,5 (0,04 М трис-ацетат, 0,002 М ЭДТА) с добавлением этидия бромистого («Invitrogen», Бельгия).

Результаты и обсуждение

Разработка диагностической ПЦР включала этап подбора праймеров с целью нахождения оптимальных способов детекции аденовирусного антигена в разных биологических материалах.

При подборе праймеров придерживались следующих условий:

- праймеры должны локализоваться в пределах высококонсервативной области генома аденовируса для успешной детекции любого из 52 известных в настоящее время генотипов;
- для увеличения точности анализа праймер не должен быть слишком коротким (в данном случае это приводит к увеличению вероятности ложноположительного результата) или слишком длинным. Оптимальная длина праймеров для детекции аденовируса составляет от 19—21 до 24—27 нп;
- размер ампликона при электрофоретическом детектировании должен составлять 300—500 нп;
- эффективность работы праймеров должна быть как можно более высокой для достижения максимальной чувствительности реакции.

Анализ заданных критериев показывает, что всем вышеуказанным условиям удовлетворила одна пара праймеров Ad1 и Ad2 (табл.). Синтез праймеров был выполнен в ОДО «ПраймТех» (Беларусь). Длина ампликона, получаемого при ПЦР, соответствует 482 нп [8—10].

Следующий этап исследования включал определение оптимальных условий проведения ПЦР. Для оптимизации условий использовали поиск температуры отжига для праймеров, определение состава реакционной смеси, установление необходимой концентрации праймеров, определение чувствительности и специфичности разработанных праймеров. Для отработки всех этапов реакции использовали ДНК аденовируса 3-го серотипа.

Для определения оптимальной температуры отжига проводили разовую реакцию амплификации в модификации «touch-down». В данной модификации в течение нескольких циклов температура отжига снижается на 2°C, затем остается постоянной до конца реакции. Этот метод позволяет определить оптимальную температуру отжига праймеров и уменьшить влияние неспецифического связывания праймеров на образование ампликона. При определенной температуре система пройдет через полосу оптимальной специфичности праймеров к ДНК, в которой располагается оптимальная температура отжига. Реакцию проводили в диапазоне температур 50—64°C. Было установлено, что оптимальная температура отжига составляет 55—58°C (рис. 1).

Как видно из рис. 1, при температуре ниже 54°C накопление специфического продукта снижается, отжиг происходит с посадкой праймеров на неспецифические участки ДНК с появлением ампликонов разной длины. При температуре выше 58°C образование четкой

специфической полосы ампликона уменьшается или же связывание праймеров с ДНК не происходит.

Для подтверждения специфичности работы праймеров в выбранном интервале проводили разовую реакцию амплификации с температурой отжига 55—57°C. Синтез специфического ампликона происходил при всех исследуемых температурах. Таким образом, в дальнейшем при постановке ПЦР отжиг праймеров осуществляли при температуре 56°C.

Следующий этап состоял в определении оптимального состава реакционной смеси. Для этого оценивали эффективность амплификации специфического продукта при использовании буферов разного состава: буфер «К» — 10 ммоль ТрисHCl (pH 8,8), 50 ммоль KCl, 0,08% Nonidet P40; буфер «А» — 65 ммоль ТрисHCl (pH8,8), 16,6 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0,02% Твин 20.

Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси следующего состава: буфер для ПЦР, 1,5 ммоль MgCl₂, 1 мкл смеси дНТФ, по 0,2—2,5 пмоль каждого праймера, 1 ед. Taq-ДНК-полимеразы (все реагенты «ПраймТех», Беларусь). Для сравнения эффективности работы буферов в качестве контроля использовали ПЦР-смесь-2blue («АмплиСенс», Россия). На полученной электрофореграмме видно, что оптимальным буфером для накопления специфического продукта амплификации является буфер «А» (рис. 2).

Исследовали продолжительность временных показателей каждого сегмента цикла на эффективность амплификации. Денатурацию, отжиг и элонгацию праймеров проводили в течение 60, 30, 20 и 10 с. Результаты показали, что при сокращении длительности исследуемых параметров цикла происходило значительное снижение эффективности амплификации при использовании буфера «К» (см. рис. 2). При использовании смеси ПЦР-2blue и буфера «А» накопление ампликона происходит при всех временных показателях. Оптимизация полученных результатов определяет следующий режим проведения ПЦР: 94°C — 3 мин (начальная денатурация), 94°C — 20 с, 75°C — 20 с, 72°C — 20 с (1 раунд, 40 циклов), 72°C — 5 мин.

Отличительной особенностью постановки ПЦР является оптимизация концентрации праймеров для получения чистой картины на электрофореграмме без появления неспецифических продуктов, таких как шмеры и димеры. Появление таких продуктов реакции приводит к значительному снижению чувствительности этого метода. Поэтому концентрация праймеров должна быть оптимальной и подобрана таким образом, чтобы праймеры были полностью задействованы в амплификации.

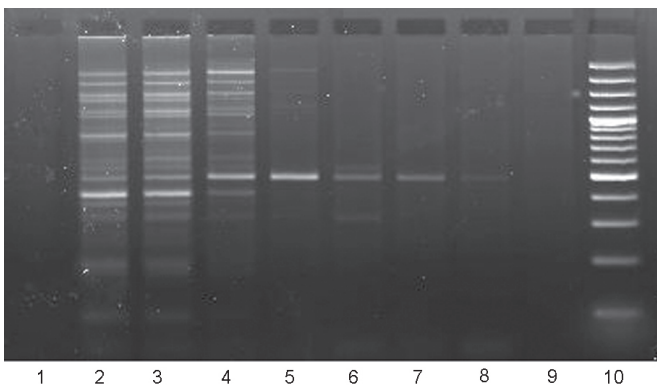


Рис. 1. Электрофореграмма амплификации ДНК аденовируса с праймерами Ad1 и Ad2 при разных температурах отжига: 1 — отрицательный контроль; 2 — 50°C; 3 — 52,3°C; 4 — 54,4°C; 5 — 56,4°C; 6 — 58,5°C; 7 — 60,6°C; 8 — 62,8°C; 9 — 64°C; 10 — ДНК маркер молекулярной массы

Праймеры, использованные при проведении ПЦР для детекции аденовирусного антигена

Название	Локализация в геноме	Последовательность, 5'-3'
ADVAtoF-OF3	755—778	5'-TACATGCACATCKCSGGVCAGGA-3
ADVAtoF-OR3	1761—1787	5'-CCRGCCARHACHCCCATRTTDCCHGT-3
AdUniv F	657—677	5'- TGCTTGCCTHAAAATGGGCA-3'
AdUniv R	838—857	5'- CGCTAAGAGCGCCGCTAGTA-3'
Ad1	1834—1853	5'- TCCCCATGGCICAYAACAC-3'
Ad2	2315—2296	5'- CCCTGGTAKCCRATRTTGTA -3'

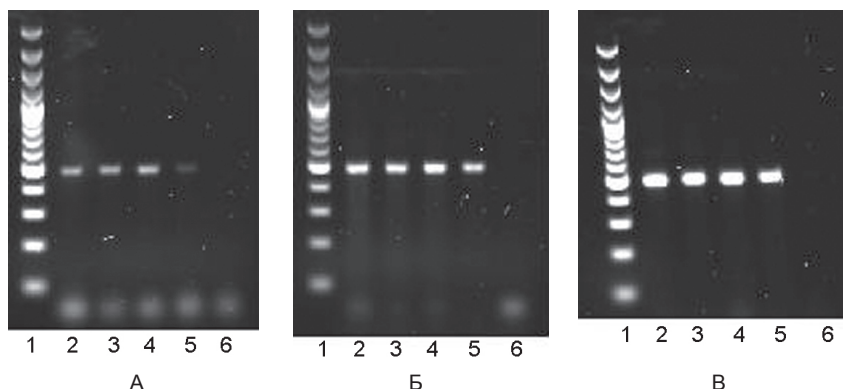


Рис. 2. Электрофореграмма амплификации ДНК аденовируса при использовании буфера «К» (А), буфера «А» (Б) и смесь ПЦР-2blue (В) с праймерами при изменении длительности сегментов цикла реакции: 1 — ДНК-маркер молекулярной массы; 2 — длительность сегментов реакции 60 с; 3 — длительность сегментов реакции 30 с; 4 — длительность сегментов реакции 20 с; 5 — длительность сегментов реакции 10 с; 6 — отрицательный контроль

Учитывая вышесказанное, поиск оптимальной концентрации праймеров осуществляли в диапазоне 2,5; 1; 0,5; 0,25; 0,1 пмоль/мкл в конечном разведении (рис. 3).

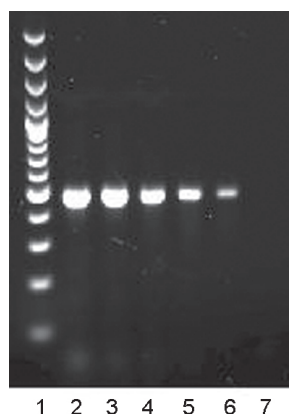


Рис. 3. Электрофореграмма амплификации ДНК аденовируса с праймерами Ad1 и Ad2 при разных концентрациях: 1 — ДНК маркер молекулярной массы; 2 — 2,5 пмоль; 3 — 1 пмоль; 4 — 0,5 пмоль; 5 — 0,25 пмоль; 6 — 0,1 пмоль; 7 — отрицательный контроль

Исследования показали, что оптимальная концентрация праймеров составила 0,25 пмоль/мкл. Отрицательный контроль, как и все остальные пробы, прошел без образования димеров и шмеров, что свидетельствует об эффективности полимеразной реакции при данных концентрациях праймеров.

Для оценки чувствительности праймеров к подобранным условиям готовили последовательные 10-кратные разведения культуральной жидкости аденовируса 3-го серотипа, содержание вируса в ней составляло 2 Ig ТЦД₅₀/мл. Из каждого разведения выделяли ДНК, которую использовали в качестве матрицы при постановке ПЦР. Положительные результаты были получены во всех разведениях до 10⁻⁶ включительно (рис. 4). Для сравнения использовали коммерческую тест-систему ПЦР для выявления аденовирусов производства «AmpliSense» (Россия).

Как видно из рис. 4, при подобранных выше условиях постановки ПЦР ДНК аденовируса определяется при разведении 10⁻⁶ по сравнению с аналогичными условиями, но с приготовленной ПЦР-смесью, где аденовирусная ДНК определяется лишь до 10⁻⁴ разведения. Отметим также, что при самостоятельном приготовлении ПЦР-смеси полимеразная реакция проходит без образования димеров и шмеров по сравнению с ПЦР-смесью, где начиная с 10⁻⁵ разведения ДНК видны еле заметные неспецифические полосы ампликона.

Специфичность оптимизированной ПЦР для детекции ДНК аденовируса определяли с использованием 6 значимых серотипов аденовируса (1—3-и, 5—7-й

серотипы), вызывающих заболевания респираторного тракта, а также вирусов, вызывающих сходные с аденовирусом симптомы: вирус гриппа А, респираторно-синцитиальный вирус, вирус парагриппа. С помощью оптимизированного метода специфический ПЦР-продукт был получен только в пробах, содержащих аденовирус всех 6 серотипов (рис. 5). С гетерологичными ДНК праймеры не вступали в реакцию амплификации.

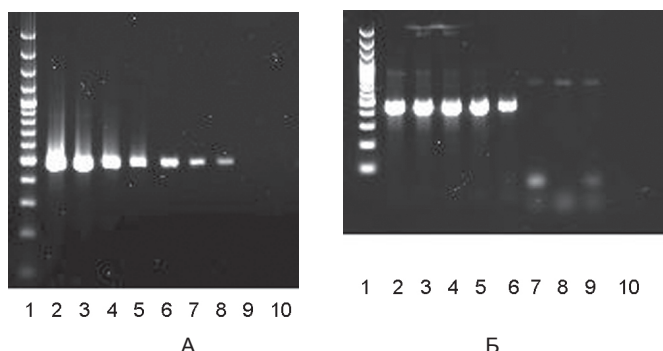


Рис. 4. Определение чувствительности амплификации ДНК аденовируса (А) и ПЦР-тест-системы «AmpliSense Adenovirus-Eph» (Б): 1 — ДНК маркер молекулярной массы; 2 — цельный; 3 — 10⁻¹; 4 — 10⁻²; 5 — 10⁻³; 6 — 10⁻⁴; 7 — 10⁻⁵; 8 — 10⁻⁶; 9 — 10⁻⁷; 10 — отрицательный контроль

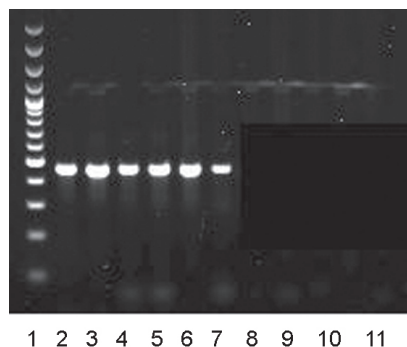


Рис. 5. Оценка специфичности праймеров Ad1 и Ad2 к вирусам, вызывающим респираторные инфекции: 1 — ДНК маркер молекулярной массы; 2—7 — серотипы аденовирусов (1, 2, 3, 5, 6, 7-й соответственно); 8 — отрицательный контроль; 9 — кДНК гриппа А; 10 — кДНК РС-вируса; 11 — кДНК вируса парагриппа

Таким образом, разработаны оптимальные условия постановки ПЦР, позволяющие определять специфичный фрагмент генома аденовируса. Рекомендованы температурный режим отжига праймеров, состав реакционной смеси, концентрация праймеров для увеличения чувствительности и специфичности реакции.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта № Б10М-169 по договору с ФФИ НАНБ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жданова В. М., Гайдамович С. Я. *Общая и частная вирусология*.— М., 1982.
2. Евстропов А. Н. // *Клинич. антимикробная химиотерапия*.— 2001.— Т. 3, № 1—2.— С. 38—41.
3. Дрейзин Р. С., Жданов В. М. *Аденовирусные инфекции*.— М., 1962.
4. Гребенникова Т. В., Киреев Д. Е., Забережный А. Д., Алинер Т. И. // *Ветеринария*.— 2006.— № 5.— С. 30—33.
5. Потапова Н. И., Гребенникова Т. В. // *Вестн. РУДН*.— 2004.— № 4.— С. 300—308.
6. Орлова С. В., Савинова О. В., Рудько Г. Ф. и др. // *Вирусные инфекции: эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика*

и профилактика: Материалы Международной науч.-практ. конф.— Минск, 2007.— С. 220—222.

7. Здродовский П. Ф. *Руководство по лабораторной диагностике вирусных и риккетсиозных болезней*.— М., 1965.

8. Lam W. Y., Apple C., Tang W., et al. // *J. Clin. Microbiol.*— 2007.— Vol. 45 № 11.— P. 3631—3640.

9. Metzagar M., Osuna M., Yingst S., et al. // *J. Clin. Microbiol.*— 2005.— Vol. 43, № 11.— P. 5743—5752.

10. Metzagar D., Osuna M., Kajon A.E., et al. // *J. Infect. Dis.*— 2007.— Vol. 195.— P. 1465—1473.

Поступила 23.07.10.

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR DIAGNOSTIC POLYMERASE CHAIN REACTION PERFORMANCE FOR DETECTING ADENOVIRUSES

A. A. Shtyrov, S. V. Orlova

The study was aimed at developing and optimizing conditions for the diagnostic polymerase chain reaction performance for detecting adenoviruses DNA. The conditions for the diagnostic polymerase chain reaction performance such as the temperature for primers annealing, the reaction mixture composition, primers concentration, primers sensitivity and specificity were studied and optimized. The primers sensitivity was more efficient under the chosen conditions when compared with the test-system manufactured by AmpliSense (Russia).

Key words: diagnostic polymerase chain reaction, adenoviruses.

С. В. ОРЛОВА, А. А. ШТЫРОВ, Г. Ф. РУДЬКО,
Е. И. БОРЕКО

ИНФОРМАТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Лабораторная диагностика аденовирусов включает комплекс методов: культуральный метод, реакция связывания компонента (РСК), реакции иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР), которые могут быть использованы как для мониторинга циркулирующих вирусов, так и для изучения острых и хронических форм вирусных инфекций, расшифровки природы эпидемических вспышек и индивидуальной диагностики. В зависимости от заданной цели исследования актуальным является вопрос о выборе 1—2 методов, обладающих наибольшей специфичностью и чувствительностью и соответствующих заданным задачам. В настоящей работе приводятся результаты сравнительного анализа методов лабораторной диагностики аденовирусной инфекции и даны рекомендации по их применению для решения различных задач в зависимости от цели исследования.

Ключевые слова: аденовирус, лабораторная диагностика, серологические методы, ДНК, мониторинг.

Заболевания, вызываемые аденовирусами, представляют значительную проблему, занимая в инфекционной патологии одно из ведущих мест. Эффективность надзора за аденовирусной инфекцией и ее терапии зависит от ранней диагностики инфекции с ее дифференциацией от других вирусных заболеваний со сходны-

ми симптомами, что определяет важность применения строго специфичных и высокочувствительных методов дифференциальной лабораторной диагностики [1—3].

В настоящее время для лабораторной диагностики аденовирусов используют следующие методы: культуральный метод, реакция связывания компонента (РСК), метод иммунофлюоресценции (ИФА), иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Эти методы могут быть использованы для мониторинга циркулирующих вирусов, изучения острых и хронических форм вирусных инфекций, расшифровки природы эпидемических вспышек и индивидуальной диагностики [2—4].

В практическом здравоохранении применение всего комплекса методов в большинстве случаев затруднительно. Поэтому актуальным является вопрос о выборе 1—2 методов, обладающих наибольшей специфичностью и чувствительностью и соответствующих заданной цели обследования [1, 3].

Цель настоящей работы состояла в проведении сравнительного анализа методов лабораторной диагностики аденовирусной инфекции на материале больных, имеющих клинические проявления заболевания.

Материал и методы

Культура клеток. В работе использовали перевиваемые клетки линии Herp-2С, которые были получены из коллекции клеточных культур РНПЦ эпидемиологии и микробиологии. В качестве ростовых сред применяли питательные среды: Игла МЕМ и модифицированную Дульбеко среду Игла (DMEM). Для роста клеток использовали данные среды с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), 2 ммоль глута-

мина, 50 мкг/мл гентамицина. При длительном культивировании клеток проводили еженедельную смену ростовой среды на среду поддержки, содержащую 1—2% сыворотки [4].

Заражение культуры клеток биологическим материалом. Перевиваемую культуру клеток Her-2С, выращенную в пенфлаконах и в пенфлаконах со стеклами, инфицировали биологическим материалом, полученным у больных с добавлением по 25 мкг/мл гентамицина и пенициллина, затем вносили поддерживающую среду Игла, содержащую 2% ЭТС. Через 72 ч проводили смену среды поддержки и через 48 ч инкубации в термостате при температуре 37°C оценивали под микроскопом состояние клеточного монослоя [4].

Метод иммунофлюоресценции. Детекцию антигена аденовируса проводили в культуральных пробах и в первичном материале, полученном от больных (назофарингиальные смывы), который осветляли центрифугированием и из осажденных эпителиальных клеток готовили мазки на деколированных предметных стеклах. На препараты наносили флюоресцирующие иммуноглобулины к аденовирусу (производство ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии») совместно с раствором Эванса голубого в концентрации 0,05% для гашения неспецифического свечения и инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C. Затем промывали проточной водой и оставляли сушиться при комнатной температуре. Окрашенные препараты исследовали под люминесцентным микроскопом «Nikon Eclipse TC100» (Германия) [6—8].

Иммуноферментный анализ. Постановку ИФА осуществляли по методу, описанному А. М. Егоровым и соавт., с собственными модификациями. Антиген получали на перевиваемых клетках Her-2С, вирусосодержащую суспензию (3—4 lg) обрабатывали на ультразвуковом дезинтеграторе («Virsonic cell disraptel model 16-850») на холоде и осветляли центрифугированием при 3000 об./мин в течение 15 мин. Индекс активности (ИА) рассчитывали на основании определения соотношения значений оптической плотности (ОП): положительная проба/отрицательная проба [4, 5, 8].

Постановка полимеразной цепной реакции. Выделение ДНК осуществляли с помощью комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» в соответствии с инструкцией («АмплиСенс», Россия). Для постановки ПЦР использовали праймеры Ad1 (5'-TCCCCATGGCICAYAACAC-3') и Ad2 (5'-CCCTGGTAKCCRATRTTGTGTA-3') и реакционную смесь следующего состава: по 20 пмоль праймеров Ad1 и Ad2, 65 ммоль ТрисНСI (рН8,8), 16,6 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0,02%

Твин 20, 1,5 ммоль MgCl₂, 100 мкмоль dNTP, 0,5 ед. Taq-polymerase (все производство «ПраймТех», Беларусь) и 5 мкл ДНК. Реакцию проводили в следующих условиях: после начальной денатурации ДНК (3 мин при 94°C) проводили 35 циклов амплификации: денатурация — 94°C (20 с), отжиг праймеров — 56°C (20 с), элонгация — 72°C (20 с). В последнем цикле амплификации элонгацию проводили в течение 5 мин.

Синтез ПЦР-продуктов анализировали методом электрофореза в 1,5% агарозном геле в трис-ацетатном буфере, рН 8,5 (0,04 М трис-ацетат, 0,002 М ЭДТА) с добавлением этидия бромистого («Invitrogen», Бельгия).

Назофарингиальные смывы больных с респираторной патологией в острой фазе инфекции, полученные в соответствии с инструкцией взятия материала, представлены сотрудниками Городской детской клинической инфекционной больницы Минска [1].

Результаты и обсуждение

Для сравнения эффективности методов диагностики аденовирусной инфекции в биологическом материале, полученном у больных с аденовирусной инфекцией, определяли антиген аденовируса культуральным, серологическими и молекулярными методами.

Изоляция возбудителя на культуре клеток является специфичным, но в то же время наиболее трудоемким методом диагностики аденовируса (золотой стандарт диагностики). Изоляцию аденовируса проводили на клетках Her-2С, которые являются перmissive культурой, в течение 3 последовательных пассажей и регистрировали наличие цитопатического действия (ЦПД) по сравнению с контролем клеток (табл. 1).

Показано, что первичный материал содержал антиген аденовируса, который вызывал 100% специфическое свечение при МФА. При изоляции вируса из материала больных на культуре клеток антиген начинает выявляться на 3-и сутки с последующим увеличением деструкции клеток к 7-м суткам. Но в процессе пассирования вирус выявлялся на 1, 2 и 3-м пассажах с вероятностью 40%, 76% и 80% соответственно. Последний пассаж повторно подтверждал МФА, где антиген аденовируса вызывал специфическое свечение в 65% случаев, что практически совпадает с выявлением вируса в клетках на 3-м пассаже по цитопатическому эффекту. Полученные результаты показали, что при выделении вируса культуральным методом в процессе пассирования происходит репродукция возбудителя в течение всех 3 пассажей. Не полное совпадение

Таблица 1

Динамика накопления антигена аденовируса в культуре клеток

Исследуемый материал	МФА	ЦПД, сут			Положительная проба, %
		3-и	5-е	7-е	
Первичный материал (n=100)	100%	Н.и.	Н.и.	Н.и.	Н.и.
Культура клеток, 1-й пассаж	Н.и.	+	2+	3+	40
Культура клеток, 2-й пассаж	Н.и.	+	3+	4+	76
Культура клеток, 3-й пассаж	65%	2+	4+	4+	80
Контроль клеток	-	-	-	-	-

Примечание. Здесь и табл. 2, 4, 5 Н.и. — не исследовали; + — наличие ЦПД; - — отсутствие ЦПД.

результатов первичного МФА и ЦПД на культуре клеток, по-видимому, объясняется наличием дефектных вирионов и их возможного взаимодействия со специфическими флюоресцирующими антителами.

Метод прямой иммуофлюоресценции, чувствительность и специфичность которого в значительной степени зависит от используемых флюоресцирующих иммуноглобулинов, применяется для исследования большого количества проб, быстрого получения ответа и расшифровки этиологии острых респираторных вирусных инфекций. Этот способ диагностики аденовируса позволяет обнаружить антигены вируса в биологическом материале уже непосредственно через 2—3 ч после забора. Для этой цели применяли флюоресцирующие антитела к аденовирусу, выделенные у иммунизированных белых мышей. Исследовали первичные пробы от больных и пробы, прошедшие 3 пассажа на культуре клеток (см. табл. 1). Контролем служили незараженные клетки Her-2С. Специфическое свечение после пассирования на клетках регистрировали в 65% случаев. При исследовании первичного материала, вероятно, происходит гипердиагностика за счет неспецифического связывания с другими возбудителями респираторной группы.

Известно, что аденовирусы обладают общим группоспецифическим антигеном и из 7 антигенов, содержащихся в вирионе, 4 являются комплементсвязывающими, общими для всех аденовирусов человека. Поэтому вполне оправданно использование РСК для серодиагностики данной инфекции. РСК является сложной реакцией, проводимой в несколько стадий и требу-

ющей, в первую очередь, наличия специфического и антикомплемментарного антигена. На клетках Her-2С был получен антиген для РСК и установлено его рабочее разведение — 1:16, которое использовали для определения комплементсвязывающих антител в биологических пробах — иммуоасцитической жидкости (ИАЖ) белых мышей и в сыворотках крови больных детей (табл. 2).

Результаты постановки РСК с использованием культурального антигена позволили определить титр антител в ИАЖ и сыворотках крови больных детей в острой фазе заболевания. Уровень антител к аденовирусу составил 1:64 и 1:32 соответственно. Таким образом, РСК может быть использована для определения антител. Однако следует иметь в виду, что определение антител к аденовирусу в сыворотках крови не имеет большого диагностического значения, так как после перенесенного заболевания сохраняется стойкий иммунитет и практически у 90% людей регистрируются антитела к аденовирусам. Поэтому диагностическую значимость имеет определение нарастания титра антител в парных сыворотках, взятых с интервалом 2—3 нед.

Более удобным в постановке является ИФА, который может быть использован с целью детекции как антител, так и антигенов вируса. В настоящее время метод ИФА широко распространен благодаря своим достоинствам, к которым можно отнести высокую чувствительность и специфичность, воспроизводимость, унифицированность, пригодность для массовых обследований. Для постановки метода были получены основные ингредиенты — антиген и иммуноглобулин к аденовирусу. Специфичность полученных препаратов (иммуноглобулин и антиген) сравнивали с коммерческими антителами к аденовирусу (DRG, Германия) (табл. 3).

Сравнительная оценка специфической активности антигенов показала, что антигены в разведениях 1:5 и 1:10 (ОП 0,96 и 0,93 соответственно) связываются с коммерческими антителами практически на уровне положительного контроля тест-системы DRG (ОП 0,98). Антиген в разведении 1:20 обладает меньшей активностью (ОП 0,55). Вероятно, его концентрация недостаточна для связывания сорбированных антител. Неспецифического взаимодействия не выявлено. Оценка специфической активности иммуноглобулина, исследуемого в разных концентрациях, показала, что связывание антител с твердой фазой происходит при всех ис-

Таблица 2

Определение антител к аденовирусу в ИАЖ белых мышей и сыворотке крови больных детей в острой фазе заболевания

Проба	Разведения антител					
	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
Сыворотка крови больного (n=10)	+	+	+-	-	-	-
Контроль (нормальная сыворотка) (n=3)	-	-	-	-	Н.и.	Н.и.
ИАЖ к аденовирусу	+	+	+	+	-	-
ИАЖ нормальная	-	-	-	-	Н.и.	Н.и.
Контроль антикомплемментарности	-	-	-	-	-	-

Примечание. - — гемолиз; + — отсутствие гемолиза.

Сравнительная оценка специфической активности полученных иммуноглобулина и антигена с коммерческими антителами к аденовирусу

Таблица 3

Исследуемая проба (антигены)	Сенсибилизация коммерческими антителами (DRG)	Сенсибилизация иммуноглобулином		
		1:5	1:10	1:20
Антиген 1:5	0,96*	0,90	0,44	0,46
Антиген 1:10	0,93	0,69	0,49	0,46
Антиген 1:20	0,55	0,77	0,61	0,55
Положительный контроль (антиген DRG)	0,98	0,69	0,69	0,69
Отрицательный контроль (DRG)	0,09	0,05	0,05	0,05
Отрицательный контроль (клетки Her-2С)	0,06	—	—	—

*Показатель оптической плотности (ОП), среднее значение 3 опытов.

Таблица 4

Диагностическая чувствительность методов выявления антигена аденовируса

Материал для исследования	МФА	Культура клеток (ЦПД)	ИФА	ПЦР
Носоглоточные смывы больных	74/74 (100%)	35/74 (39%)	6/14 (43%)	23/39 (59%)
Пробы больных после 3 пассажей на клетках Нер-2С	Н.и.	17/35 (77%)	14/17 (82%)	37/39 (95%)
Зараженная культура клеток Нер-2С	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	2/2 (100%)

Примечание. Здесь и в табл. 5 * в числителе — количество положительных проб; в знаменателе — количество обследованных больных.

пользуемых концентрациях, однако в разведении 1:5 значения ОП более высоки (ОП 0,9; 0,69; 0,77).

Разработанные параметры постановки ИФА позволили применить метод для выявления антигена в первичном материале больных и в зараженной культуре клеток (табл. 4).

Пробы больных (n=74), в которых отмечалось специфическое свечение, использовали для заражения культуры клеток и регистрировали цитодеструкцию после первичного заражения и после 3 пассажей. При первичном заражении ЦПД регистрировали в 39% случаев, после 3-го пассажа — в 77%. Это, вероятно, связано с тем, что не все положительные по МФА пробы содержали вирус в концентрации, способной вызвать ЦПД уже при первичном заражении, что также подтверждается результатами ИФА и ПЦР. Так, ДНК вируса в первичном материале выделяли в 23 (59%) пробах из 39. Что касается ИФА, то детекция антигена в первичном материале составила 43%, после пассирования — 82%.

Высокоспецифичным и чувствительным методом диагностики аденовирусной инфекции является ПЦР, которая основана на определении нуклеиновой кислоты вируса в исследуемом материале. ДНК аденовируса определяли в пробе больных и в материале, прошедшем несколько пассажей на культуре клеток. Данные представлены в табл. 5. В качестве контроля использовали незараженную культуру клеток и культуру клеток, зараженную гетерологичными вирусами.

Как видно из табл. 5, в первичном материале, вызывающем свечение во всех пробах (100%), ДНК аденовируса выделяли в 59% исследуемых проб. После культивирования вируса в течение 1-го и 3-го пассажей ДНК выделяли практически во всех пробах (92% и 95% соответственно). Гетерологичные вирусы вызывали неспецифическое свечение с антителами аденовируса в 10—20% случаев, что, вероятно, и является одной из причин гипердиагностики данной инфекции. ДНК аденовируса в культуральных пробах, зараженных вирусом РС и гриппом, не выявлено, что свидетельствует о специфичности ПЦР.

Таким образом, сравнительный анализ методов лабораторной диагностики аденовирусной инфекции показал, что все испытанные методы позволяют опреде-

Таблица 5

Определение антигена аденовируса методом ПЦР

Вирусологический материал	МФА	ПЦР
Первичный материал больных	67/67 (100%)	23/39 (59%)
Пробы больных после 1-го пассажа	Н.и.	36/39 (92%)
Пробы больных после 3-го пассажа	40/67 (60%)	37/39 (95%)
Культура клеток, зараженная вирусом гриппа А	1/1 (10%)	0/10 (0%)
Культура клеток, зараженная РС вирусом	2/10 (20%)	0/10 (0%)
Незараженная культура клеток	0/10 (0%)	0/10 (0%)

лить антиген аденовируса в биологическом материале. При массовых исследованиях и для быстрого получения ответа наиболее приемлем МФА, но следует иметь в виду, что этим методом также можно регистрировать неспецифическое связывание с другими возбудителями респираторной группы.

Учитывая, что аденовирусы обладают общим комплементсвязывающим антигеном, можно рекомендовать использовать РСК для определения антител в парных сыворотках крови больных. Диагностическую значимость будет иметь увеличение титра антител в сыворотках, полученных с интервалом не менее 2 нед. Однако эта реакция длительная, многоступенчатая, требует большого количества ингредиентов для постановки и поэтому широкого применения в практической медицине не нашла. Ее целесообразно применять, когда необходимо установить уровень антител и диагностировать по приросту антител в динамике.

В настоящее время метод ИФА широко распространен благодаря своим достоинствам, к которым можно отнести высокую чувствительность и специфичность, воспроизводимость, унифицированность, пригодность для массовых обследований. Возможность инструментальной оценки результатов устраняет фактор субъективности. Этим методом можно проводить диагностику как по определению антител, так и антигена. Для диагностики аденовирусной инфекции в Беларуси этот метод не используется, ввиду отсутствия коммерческих тест-систем. В данной работе приводятся сведения об оценке полученных ингредиентов (иммуноглобулинов и антигена) для тест-систем. Показано, что полученные препараты обладают высокой специфичностью и выявляют антиген аденовируса во всех исследуемых пробах.

Эффективным способом диагностики аденовирусной инфекции является ПЦР, которая высокоспецифична и не дает перекрестов с гетерологичными антигенами. Этот метод позволяет проводить мониторинг и определять молекулярно-биологическую природу вируса, идентифицировать его групповую принадлежность.

Однако следует иметь в виду, что вышеназванные методы не позволяют оценить вирулентность и инфекционную активность вируса. Только применяя культуральный метод можно провести изоляцию вируса и оценить его инфекционную активность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Онищенко Г. Г. Быстрая диагностика гриппа и других ОРВИ иммунофлюоресцентным методом: Метод. рекомендации.— М., 2006.
2. Жданова В. М., Гайдамович С. Я. Общая и частная вирусология.— М., 1982.
3. Дрейзин Р. С., Жданов В. М. Аденовирусные инфекции.— М., 1962.
4. Здродовский П. Ф. Руководство по лабораторной диагностике вирусных и риккетсиозных болезней.— М., 1965.
5. Егоров А. М., Осипов А. П., Дзантиев Б. Б., Гаврилова Е. М. Теория и практика иммуноферментного анализа.— М., 1991.
6. George C. R., Minnich L. L. // J. Clin. Microbiol.— 1987.— Vol. 25, № 2.— P. 355—357.
7. Носик Н. Н., Стаханова В. М. // Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия.— 2000.— Т. 2, № 2.— С. 70—78.
8. Орлова С. В., Савинова О. В., Рудько Г. Ф. и др. // Вирусные инфекции: эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика и профилактика: Материалы междунар. науч.-практ. конф.— Минск, 2007.— С. 220—222.

Поступила 29.09.10.

INFORMATIVE VALUE OF VARIOUS METHODS OF ADENOVIRUS INDUCED INFECTION LABORATORY DIAGNOSIS

S. V. Orlova, A. A. Shtyrov, G. F. Rudko, E. I. Boreko

Laboratory diagnosis of adenoviruses includes a complex of methods: cultural method, reaction of complement binding (RCB), reaction of immunofluorescence (RIF), and polymerase chain reaction (PCR) which can be applied both for monitoring the circulating viruses and for studying the virus induced infections acute and chronic forms, decrypting the epidemic outbursts nature and for individual diagnosis. Depending on the objective of the study set the issue of selecting 1 – 2 methods possessing the highest specificity and sensitivity corresponding to the problems put is very important. The results obtained in a comparative analysis of methods for laboratory diagnosis of adenovirus caused infection are presented and recommendations for their appliance aiming at solving various problems depending on the objective of the study are offered.

Key words: adenovirus, laboratory diagnosis, serological methods, DNA, monitoring.

ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ И ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

105 лет — установка в Минской губернской земской больнице первого в городе рентгеновского аппарата (1905).

85 лет — I Всебелорусский съезд сельских участковых врачей (Минск, 10—13 апреля 1925 г.).

85 лет — I общий съезд врачей воеводства в Новогрудке (7—9 сентября 1925 г.).

85 лет — первый выпуск врачей (21 человек) медицинского факультета БГУ (ноябрь 1925 г.)

80 лет — постановление СНК БССР "О медицинской помощи" (10 марта 1930 г.).

80 лет — I Всебелорусский съезд работников охраны материнства и детства (1930).

65 лет — Всебелорусский съезд сельских врачей (январь, 1945 г.).

120 лет со дня рождения **Михаила Ивановича Барсукова** (11 (23).01.1890, г. Москва, Россия — 04.04.1974). Социал-гигиенист, организатор здравоохранения. Историк медицины. Доктор медицинских наук (1951), профессор (1952). Окончил медицинский факультет Московского университета (1914). Участник Первой мировой войны. Председатель медико-санитарного отдела Военно-революционного комитета в Петрограде (1917). Председатель коллегии Главного военно-санитарного управления (1917—1918). Заместитель председателя Совета врачебных коллегий (1918). Начальник военно-санитарной службы в военных округах (1918—1920). Председатель Всеукраинской комиссии по охране народного здоровья (1920—1921), член ЦК союза "Медсантруда" (1921—1922), заведующий Дальневосточным отделом здравоохранения (1923—1924). Народный комиссар Здравоохранения БССР (1924—1930), одновременно заведующий кафедрой социальной гигиены медицинского факультета Белорусского государственного университета (1924—1930). Директор института организации здравоохранения и социальной гигиены (1924—1930), редактор журнала "Беларуская медычная думка" (1924—1929). Руководитель сектора здравоохранения Госплана СССР (1930—1939). Участник Великой Отечественной войны. Заведующий отделом истории советского здравоохранения Всесоюзного НИИ социальной гигиены и организации здравоохранения Министерства здравоохранения СССР (1945—1963). Один из первых организаторов советского здравоохранения, участник перестройки военно-санитарной службы, реорганизации Главного управления Российского общества Красного Креста и Красного Полумесяца. Научные труды посвящены теории и истории здравоохранения. Организатор I Всесоюзного съезда историков медицины.

Составители **Н. Ф. Змачинская, Н. С. Шумин** — сотрудники Музея истории медицины Беларуси Республиканской научной медицинской библиотеки.



Э. А. ЖАВРИД, Н. Н. АНТОНЕНКОВА, Р. М. СМОЛЯКОВА,
Е. В. БАРАНОВ, С. П. КОЗЛОВСКАЯ, И. А. КАРТУЗОВА

ВЫЯВЛЕНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В КОСТНОМ МОЗГЕ И КРОВИ У ОПЕРАБЕЛЬНЫХ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

РНПЦ онкологии и медицинской
радиологии им. Н. Н. Александрова

В статье представлен обзор литературных данных, посвященный описанию современных технологий, позволяющих определить наличие опухолевых клеток в костном мозге и периферической крови при раке молочной железы. Анализ большинства исследований свидетельствует о том, что наличие опухолевых клеток в костном мозге коррелирует с ранними рецидивами заболевания и меньшей продолжительностью жизни. При этом риск возврата болезни повышается с увеличением количества обнаруженных в костном мозге эпителиальных клеток.

Ключевые слова: рак молочной железы, микрометастазы, опухолевые клетки в костном мозге, полимеразная цепная реакция.

Мировые статистические данные последних лет свидетельствуют о том, что рак молочной железы (РМЖ) продолжает занимать ведущее место в структуре онкологической заболеваемости женского населения в большинстве стран мира. Ежегодно в мире регистрируется около одного миллиона новых случаев РМЖ.

В первом квартале 2010 г. в Республике Беларусь число заболевших РМЖ составило 788 (781 женщина и 7 мужчин): I стадия опухолевого процесса диагностирована у 195 (24, 7%) заболевших, II стадия — у 456 (57,9%), III стадия — у 89 (11,3%), IV стадия — у 37 (4,7%) пациентов (Канцер-регистр РБ, 2010 г.).

Метастатический РМЖ неизлечим, однако у значительного числа пациенток использование системного лечения позволяет продлить жизнь и сохранить при этом хорошее качество жизни. В связи с этим необходим поиск адекватно подобранных схем цитостатической терапии.

Одним из основных условий успешного лечения злокачественных новообразований является точное определение стадии заболевания, что, безусловно, необходимо для выбора тактики ведения пациентки. С позиции современных знаний о биологии опухолевого процесса для точного стадирования заболевания уже недостаточно «обычных» диагностических методов (ультразвуковое исследование, рентгенография, компьютерная и магнитно-резонансная томография). В настоящее время для точного определения стадии опухоли необходимо расширить рамки стандартно выполняемых тестов и включить исследование костного мозга, который представляет собой идеальную мишень для гематогенного метастазирования опухолей [1—3]. Первое сообщение об обнаружении метастазов опухоли в костный мозг относится к 1834 г. До середины XX века

в печати появлялись единичные сообщения, посвященные проблеме поражения костного мозга при опухолях, основанные на небольшом клиническом материале. Так, в 1936 г. Rohr и Hegglin показали вовлечение в процесс костного мозга у 11 из 13 пациентов с опухолями различных локализаций и метастазами в костях. Немногочисленность таких работ объясняется несовершенством используемых в то время методов получения костного мозга. После внедрения в повседневную медицинскую практику трепан-биопсии подвздошной кости гистологическое исследование костного мозга стало рутинной методикой во всех крупных онкологических центрах мира. Обобщение многолетнего опыта гистологического исследования костного мозга при различных опухолях позволило сделать следующие выводы: костный мозг редко поражается изолированно от других органов; поражение костного мозга лучше всего выявляется при его биопсии, при некоторых заболеваниях исследование костного мозга имеет прогностическое значение. Метастазы в костный мозг встречаются при опухолях различных локализаций, однако наиболее характерны для рака предстательной железы, молочной железы, легкого, нейробластомы. Так, при РМЖ они выявляются практически в 50% случаев, при нейробластоме у детей — в 50—67% случаев, при мелкоклеточном раке легкого — в 17—45% случаев, при раке толстой кишки — в 4—8% случаев. Необходимо отметить, что при использовании рутинной гистологической техники клиническое значение исследования костного мозга невелико [4]. Главной причиной низкой диагностической ценности метода является его небольшая чувствительность: окраска гематоксилином и эозином позволяет обнаружить 1 опухолевую клетку среди 100 нормальных клеток костного мозга, вследствие чего выявление метастазов становится возможным только на поздних стадиях заболевания, когда проведение радикальной операции крайне затруднено. Поэтому усилия биологов, иммунологов и клиницистов в течение длительного времени были направлены на разработку методик, которые позволяли бы обнаруживать опухолевые клетки в костном мозге на более ранних стадиях заболевания.

Современные технологии позволяют выявлять единичные опухолевые клетки в крови или костном мозге на том этапе, когда скинтиграфическое, рентгенологическое исследования и компьютерная томография еще не выявляют прогрессирования злокачественного процесса. Однако можно ли считать эти клетки микрометастазами, еще предстоит выяснить в экспериментальных и клинических исследованиях. Единичные эпителиальные клетки в костном мозге и периферической крови больных солидными опухолями изучаются по нескольким основным направлениям — как возможные факторы прогноза рецидива и продолжительности жизни, а также как потенциальные маркеры, позволяющие оценить эффективность системного лечения [5—8].

Анализ большинства исследований показывает, что у операбельных больных РМЖ обнаружение микрометастазов в костном мозге коррелирует с ранним рецидивом и меньшей продолжительностью жизни, причем риск рецидива повышается с увеличением количества обнаруженных в костном мозге эпителиальных клеток [9].

I. Funke и соавт. провели мета-анализ результатов 20 клинических исследований, в которые были включены 2494 больных РМЖ, и выяснили, что в 14 исследованиях из 20 была установлена прямая корреляция между обнаружением в костном мозге микрометастазов и уменьшением безрецидивной выживаемости [10]. При многофакторном анализе лишь в 2 исследованиях из 12 показано, что микрометастазы в костном мозге являются независимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости. В других исследованиях после проведения многофакторного анализа подтверждена гипотеза о том, что обнаружение единичных опухолевых клеток в костном мозге коррелирует с неблагоприятным прогнозом. Особенно это касается больных с метастазами РМЖ в регионарных лимфатических узлах. При среднем периоде наблюдения 75 мес отдаленные метастазы развились у 27% (105 из 393) больных, в том числе у 35% (59 из 166) больных с микрометастазами в костный мозг (КМ+) и у 20% (46 из 227) больных без поражения костного мозга (КМ-) на момент первичного хирургического лечения ($P < 0,0001$). В подгруппе больных без метастазов в регионарных лимфатических узлах отдаленные метастазы появились у 16% (20 из 125 больных) без микрометастазов в костном мозге и у 16% (11 из 69 больных) с микрометастазами. В этой подгруппе не отмечено различий в общей и безрецидивной выживаемости в зависимости от поражения костного мозга на момент установления диагноза. Заслуживает внимания тот факт, что после 5-летнего наблюдения 65% больных с микрометастазами в костном мозге при постановке диагноза были живы без признаков прогрессирования заболевания, то есть диссеминация процесса в костный мозг на момент первичного оперативного лечения не обязательно приводит к развитию отдаленных метастазов.

В исследовании S. Braun и соавт., напротив, была показана прямая корреляция между поражением костного мозга и выживаемостью больных РМЖ без метастазов в лимфатических узлах, взаимосвязи с другими прогностическими факторами обнаружено не было [11]. В одном из исследований S. Braun, в котором изучался костный мозг у 552 первичных больных РМЖ I—III стадии заболевания, используя для этого антитела к цитокератинам (A45 В/В3), было установлено, что наличие опухолевых клеток в костном мозге после четырех лет наблюдения было ассоциировано с высоким риском развития отдаленных метастазов и увеличением смертности от прогрессирования заболевания ($P < 0,001$). Вместе с этим многофакторный регрессионный анализ показал, что наличие occultных метастатических клеток в костном мозге является фактором неблагоприятного прогноза независимо от состояния регионарных лимфатических узлов [12—14].

В настоящее время практически всем операбельным больным РМЖ рекомендуется проведение адъювантной системной терапии. Целью адъювантной терапии является иррадикация микрометастазов после оперативного удаления первичной опухоли. Однако, несмотря на постоянное совершенствование методов адъювантной терапии, частота отдаленного метастазирования в различные сроки после проведения лечения не уменьшается. Это может свидетельствовать либо о недостаточной эффективности проводимой химиотерапии, либо о невозможности подбора индивидуального вида системного лечения в связи с ограниченными возможностями современных прогностических факторов. Именно поэтому поиск новых маркеров, свидетельствующих о ранней диссеминации опухолевого процесса и позволяющих назначить индивидуальное, целевое системное лечение и оценить его эффективность, представляется перспективным направлением исследований. Предполагается, что выявление диссеминированных одиночных опухолевых клеток или малых кластеров в лимфатических узлах, периферической крови или костном мозге может стать одним из важнейших подходов для раннего выявления метастазов и улучшения результатов лечения больных РМЖ.

В последние годы приоритетным направлением в современной онкологии является разработка методов определения экспрессии опухоле- или тканеспецифичных маркеров с применением технологии полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

Для методов, с помощью которых возможно обнаружение единичных опухолевых клеток или микрометастазов РМЖ, существуют несколько критериев. Во-первых, они должны обладать высокой специфичностью и быть в состоянии отличать злокачественные клетки от нормальных без получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Метод определения микрометастазов также должен обладать достаточной чувствительностью для обнаружения минимального количества опухолевых клеток. Кроме того, данный метод должен быть достаточно простым и быстрым.

В настоящее время для обнаружения микрометастазов применяют иммунологические, цитогенетические и молекулярные методы диагностики. Важной задачей при диагностике минимальной остаточной болезни является определение генов, экспрессирующихся только в определенном типе опухоли [15—17].

Цитокератин 19 (ген СК19) является одним из наиболее эффективно используемых молекулярных маркеров для определения микрометастазов РМЖ. В норме он не экспрессируется в клетках крови и костном мозге, но экспрессируется в неизменной молочной железе и в ее опухолях.

В отношении цитокератина 19 до настоящего времени ведутся дискуссии среди исследователей. Эпителиальные неспецифические маркеры типа цитокератина СК-19 присутствуют в каждой опухолевой клетке молочной железы, имеются также данные о том, что в низких количествах цитокератин может экспрессироваться и в клетках нормальных лимфатических узлов.

Поэтому использование эпителиальных неспецифических маркеров имеет риск выявления ложноположительных результатов в связи с возможностью переноса нормальных эпителиальных клеток во время хирургических манипуляций. Таким образом, несмотря на то, что СК-19 является одним из наиболее эффективно используемых молекулярных маркеров для определения микрометастазов при РМЖ, поиски новых эффективных маркеров активно продолжаются. В работе А. Nissan и соавт. при изучении эффективности использования различных маркеров в целях достижения высокой чувствительности при обнаружении минимальной остаточной болезни были объединены неспецифический эпителиальный маркер (СК-19) со специфическими маркерами рака молочной железы (МAM, NY-BR-1) [18]. Согласно полученным данным исследователями сделан вывод о том, что мультимаркерный подход при ПЦР-диагностике является наиболее эффективным для выявления микрометастазов у больных РМЖ.

Методом выявления одиночных опухолевых клеток в лимфатических узлах, костном мозге или периферической крови больных РМЖ является амплификация опухоле- или тканеспецифических маркеров с использованием метода ПЦР. Его основными преимуществами являются: высокая чувствительность, простота исполнения, возможность долговременного сохранения результатов.

Различают два типа ПЦР: end-point-ПЦР и ПЦР в режиме реального времени. Недостатками стандартного варианта ПЦР являются субъективность, относительность и неточность оценки результатов ПЦР, низкая чувствительность. Количественная ПЦР имеет значительные преимущества как перед end-point ПЦР, так и перед качественной ПЦР в режиме реального времени. Она позволяет количественно анализировать экспрессию генов, выявлять мутации в них. Принцип количественного определения содержания амплифицированного гена состоит в детекции и определении количества флюоресцентного красителя, интенсивность сигнала которого пропорциональна количеству амплифицированного продукта реакции [19].

Однако в отношении детекции опухолевых клеток в лимфатических узлах, периферической крови или костном мозге больных РМЖ при использовании количественной ПЦР в режиме реального времени возникают некоторые вопросы. Во-первых, в большинстве проводимых исследований для выявления изолированных опухолевых клеток у больных РМЖ используется общая РНК, которая известна своей нестабильностью *in vitro*. Количество копий мРНК может изменяться во время хранения и транспортировки образцов при комнатной температуре. Это объясняется тем, что РНК быстро деградирует под воздействием рибонуклеаз, поэтому время хранения образцов крови или костного мозга до этапа выделения РНК и/или ее стабилизации является важным фактором при определении опухолевых клеток в костном мозге при РМЖ. Поэтому при проведении анализа рекомендуется использовать ме-

тоды, предотвращающие РНК от деградации после забора исследуемого материала [20].

Во-вторых, актуальным вопросом при использовании количественной ПЦР в режиме реального времени остается выбор специфических генов или панели из нескольких маркеров для определения опухолевых клеток в костном мозге у больных РМЖ.

А. Schoenfeld и соавт. при определении микрометастазов в костном мозге операбельных больных РМЖ иммуноцитологическим и ПЦР-методами с помощью антител к цитokerатину СК-19 выявили опухолевые клетки в костном мозге у 22% больных по данным иммуноцитологического метода и у 35% по данным ПЦР [21].

I. H. Venou и соавт. сравнивали иммуноцитохимический метод и метод ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления диссеминированных опухолевых клеток (СК-19, маммоглобин) в костном мозге 170 больных РМЖ [22]. Метод ОТ-ПЦР оказался прогностически значимым и обладал большей чувствительностью в сравнении с иммуноцитохимическим методом при определении диссеминированных опухолевых клеток у больных РМЖ. Однако между иммуноцитохимией (ИЦХ) и ОТ-ПЦР существует количественная и качественная корреляция. Определение микрометастазов методом ОТ-ПЦР является диагностически и прогностически значимым в отношении выживаемости больных РМЖ.

Известно, что опухоли эпителиальной природы часто метастазируют в кости скелета. В связи с этим возможно обнаружение опухолевых клеток у больных РМЖ в аспиратах костного мозга, полученного, в частности, при пункции грудины или гребешка подвздошной кости. Хорошее кровоснабжение костного мозга, развитая сеть синусов и мельчайших капилляров, насыщенность разнообразными клеточными элементами, своеобразие микроокружения — оптимальные условия для метастазирования.

Единичные эпителиальные клетки в костном мозге и периферической крови больных РМЖ изучают по нескольким основным направлениям — как фактор прогноза рецидива и продолжительности жизни, а также как потенциальный маркер, позволяющий оценить эффективность системного лечения.

С целью выяснения природы микрометастазов необходимо изучение антигенного профиля и фенотипа единичных опухолевых клеток в костном мозге. Современные данные свидетельствуют, что микрометастазы в костном мозге представляют собой популяцию клеток, обладающих значительной гетерогенностью в отношении экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости 1-го класса, молекул адгезии ЕpCAM, рецепторов erb-B2 и трансферрина, маркеров пролиферации (Ki-67, p120), генов MAGE-1,2,3/6,4,12 [23—27].

Предполагается, что большая часть опухолевых эпителиальных клеток в костном мозге имеет ограниченный пролиферативный потенциал (невысокая экспрессия пролиферативных маркеров Ki-67 или p120), что объясняет резистентность микрометастазов к адьювант-

ной терапии. Однако до сих пор не найдено генов, обеспечивающих «покоящийся» характер этих клеток, и механизмов, регулирующих рост и размножение метастатических клеток немедленно или через какой-то период после экстравазации.

В исследовании S. Offner и соавт. описывается определение частоты мутации гена p53 в эпителиальных клетках в костном мозге у больных с различными злокачественными опухолями [28]. Показано, что ранняя диссеминация злокачественной опухоли возможна и без мутации гена p53. Несмотря на то, что мутации гена p53 обнаруживаются более чем у 1/3 всех больных злокачественными опухолями, p53 + эпителиальные клетки в костном мозге обнаружены лишь у 4 (6,3%) из 63 больных. Возможно, микрометастазы покидают первичную опухоль на этапе, когда мутации гена p53 еще не произошло и, следовательно, p53 не может быть мишенью адъювантной терапии, направленной на уничтожение микрометастазов.

Клиническое значение гиперэкспрессии рецепторов p185erb-B2 показано в исследовании S. Braun и соавт., в котором изучали экспрессию трансмембранного рецептора фактора роста p185erb-B2 на солитарных опухолевых клетках в костном мозге операбельных больных РМЖ [14]. Оказалось, что экспрессия p185erb-B2 обнаруживалась на мембране эпителиальных клеток в костном мозге у 31 (60%) из 52 больных вне зависимости от экспрессии p185erb-B2 на клетках первичной опухоли молочной железы. Таким образом, гиперэкспрессия p185erb-B2, возможно, является одной из характеристик опухолевой клетки, обеспечивающей ее метастатический потенциал. Не исключено, что экспрессия p185erb-B2 на поверхности микрометастазов в костном мозге будет являться таким же прогностическим и предсказывающим фактором, каким является экспрессия c-erb2 (HER-2/neu) на клетках первичной опухоли молочной железы. Как известно, рецептор HER-2/neu является важной мишенью противоопухолевой терапии моноклональными антителами, а также предсказывающим фактором чувствительности или резистентности к химио- и гормональной терапии. Разработаны и находятся на этапе клинического применения молекулы, селективно ингибирующие тирозинкиназу интрацеллюлярной части рецептора к HER-2/neu.

Учитывая все указанные выше особенности микрометастазов для их элиминации в режимы адъювантного лечения, вероятно, необходимо включать иммунные (вакцины, моноклональные антитела) препараты, а также препараты направленного действия, мишенями которых являются рецепторы факторов роста, переносчики сигналов, регуляторы клеточного цикла, ингибиторы апоптоза и ангиогенеза.

Приведенные данные указывают на то, что обнаружение микрометастазов в лимфатических узлах, костном мозге и периферической крови у больных РМЖ свидетельствует о высокой злокачественности процесса и дает возможность выделить группу больных с высоким риском рецидива. Кроме того, состояние костного мозга и периферической крови можно использовать для

мониторинга больных, получающих химиотерапию, с целью оценки ее эффективности. Дальнейшее изучение фенотипических характеристик и генотипа солитарных опухолевых клеток в лимфатических узлах, периферической крови и костном мозге имеет значение для решения проблемы выбора новых методов лекарственной терапии с целью направленного воздействия на микрометастазы.

Прогностическое значение обнаружения опухолевых клеток в костном мозге на этапе диагностики РМЖ изучается в настоящее время во многих исследовательских центрах мира.

Все вышеуказанные данные свидетельствуют о том, что определение наиболее высокочувствительного и специфичного метода для выявления диссеминированных опухолевых клеток в крови или костном мозге больных РМЖ является актуальной проблемой и нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, многочисленные научные данные свидетельствуют о перспективности изучения микрометастазов в костном мозге при РМЖ с целью планирования системного лечения этой категории больных.

В РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова проводится проспективное исследование, цель которого — повышение эффективности адъювантной химиотерапии операбельных больных РМЖ промежуточной и высокой групп риска с микрометастазами в костном мозге. В исследование включена 151 пациентка с резектабельным опухолевым процессом. На основании определения цитокератина 19 и маммоглобина установлено, что частота микрометастатического поражения костного мозга у данной категории пациенток до начала лекарственного лечения составляет 31,4%. По предварительным данным, установлено, что проведение стандартной химиотерапии позволяет добиться эрадикации костного мозга не более чем у 50% пациенток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Molino A., Pelosi G., Micciolo R., et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2005. — Vol. 88. — P. 123—130.
2. Weinschenker P., Soares H. P., Clark O., et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2004. — Vol. 87. — P. 215—224.
3. Thor A. D., Edgerton S. M., Jones F. E. // *Am. J. Pathol.* — 2009. — Vol. 175. — P. 1802—1809.
4. Manhani A. R., Manhani R., Soares H. P., et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2006. — Vol. 89, № 3. — P. 249—254.
5. Kersting C., Tidow N., Schmidt H., et al. // *Lab. Invest.* — 2004. — Vol. 84. — P. 582—587.
6. Trocciola S. M., Hoda S., Osborne M. P., et al. // *J. Am. Coll. Surg.* — 2005. — Vol. 200, № 5. — P. 720—726.
7. Hirakawa S., Detmar M., Kerjaschki D., et al. // *Am. J. Pathol.* — 2009. — Vol. 175. — P. 2235—2248.
8. Chen X. S., Wu J. Y., Huang O., et al. // *J. Oncol. Rep.* — 2010. — Vol. 23, № 5. — P. 1213—1220.
9. Benoy I. H., Elst H., Van Laere I., et al. // *Br. J. Cancer.* — 2004. — Vol. 91, № 10. — P. 1813—1820.
10. Funke I., Schraut W. // *J. Clin. Oncol.* — 2004. — Vol. 16, № 2. — P. 557—566.
11. Braun S., Kantenich C., Janni W., et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol. 18, № 1. — P. 80—86.
12. Braun S., Schlimok G., Heumos I., et al. // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61, № 5. — P. 1890—1895.
13. Braun S., Pantel K., Muller P., et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 342, № 8. — P. 525—533.

14. Braun S., Hepp F., Kantenich C. R., et al. // *Clin. Cancer Res.*— 1999.— Vol. 5, № 12.— P. 3999—4004.
15. Fischer G., Tutuncoglu O., Bakhshandeh M., Masood S. // *Diagn. Citopathol.*— 2007.— Vol. 35, № 10.— P. 653—655.
16. Gebauer G., Fehm T., Merkle E., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 2001.— Vol. 19, № 16.— P. 3669—3674.
17. Wiedswang G., Borgen E., Karesen R., et al. // *J. Clin. Oncology.*— 2003.— Vol. 21, № 18.— P. 3469—3478.
18. Nissan A., Jager D., Roystacher M., et al. // *Br. J. Cancer.*— 2006.— Vol. 94, № 5.— P. 681—685.
19. Keppner S., Proschak E., Kaufmann M., et al. // *Cell Cycle.*— 2010.— Vol. 9, № 4.— P. 761—773.
20. Kasimir-Bauer S., Oberhoff, Slivinska K., et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2001.— Vol. 69, № 2.— P. 123—132.
21. Battula S., Schoenfeld A., Vrabek G., Njus G. O. // *Clin. Biomech.*— 2006.— Vol. 21, № 5.— P. 533—537.
22. Benoy I. H., Elst H., Van Dam P., et al. // *Clin. Chem. Lab. Med.*— 2006.— Vol. 44, № 9.— P. 1082—1087.
23. vant'Veer L. J., van de Vijver M. J., He Y. D., et al. // *Nature.*— 2002.— Vol. 415, № 6871.— P. 530—536.
24. Suo Z., Risberg B., Kallsson M. G., et al. // *J. Pathol.*— 2002.— Vol. 196, № 1.— P. 7—25.
25. Mansi J. L., Gogas H., Bliss J. M., et al. // *Lancet.*— 2005.— Vol. 354, № 9174.— P. 197—202.
26. Hynes N. E., Lane H. A. // *Nat. Rev. Cancer.*— 2005.— Vol. 5, № 5.— P. 341—354.
27. Suo Z., Yang H., Mei Q., et al. // *Int. J. Surg. Pathol.*— 2001.— Vol. 9, № 3.— P. 177—187.
28. Offner S., Schmaus W., Witter K., et al. // *Proc. Natl. Acad. USA.*— 1999.— Vol. 96, № 12.— P. 6942—6946.

Поступила 14.06.10.

DETERMINATION OF TUMOR CELLS IN BONE MARROW AND BLOOD OF OPERABLE BREAST CANCER PATIENTS

E. A. Zhavrid, N. N. Antonenkova, R. M. Smolyakova, E. V. Baranov, S. P. Kozlovskaya, I. A. Kartuzova

Literature data describing current technologies for determining tumor cells presence in the bone marrow and in the peripheral blood of breast cancer patients is reviewed in the article. The analysis of the most studies shows that tumor cells presence in the bone marrow correlates with the disease early recurrence and lesser survival the risk of relapse increasing with the epithelial cells detected in bone marrow growing.

Key words: breast cancer, micrometastases, tumor cells in bone marrow, polymerase chain reaction.

О. Т. АНДРЕЕВА, М. О. ТРУСЕВИЧ, Л. П. ТИТОВ

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ АНТИНЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В РАЗВИТИИ ANCA- АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

На основании анализа литературных источников представлена характеристика антинейтрофильных цитоплазматических антител (ANCA), описаны методы их выявления, показана патогенетическая роль, оценена их значимость. Установлено, что метод непрямой иммунофлюоресценции является скрининговым методом диагностики ANCA-ассоциированных заболеваний, а также осложнений аутоиммунных и инфекционных заболеваний. Налаживание производства отечественной тест-системы для выявления ANCA открывает широкие возможности для повседневного использования клиницистами и научными работниками с целью лабораторного подтверждения ANCA-ассоциированных заболеваний.

Ключевые слова: антинейтрофильные цитоплазматические антитела, непрямая иммунофлюоресценция, ANCA-ассоциированные заболевания.

В связи с ухудшением экологической ситуации и ростом заболеваемости хроническими инфекциями в Республике Беларусь увеличивается число заболеваний с нарушением функции иммунной системы, что приводит к продукции антител, направленных против антигенов собственных тканей. Факторами аутоиммунных заболеваний могут быть генетические дефекты, нарушения во взаимодействии нервной, эндокринной и иммунной систем, иммунодефицитные состояния на фоне хронических инфекций (ВИЧ-инфекция, язвенный колит, гепатиты и др.). Основной тенденцией последнего

десятилетия является прогрессивное увеличение частоты системных аутоиммунных заболеваний [1].

Системные аутоиммунные заболевания — группа заболеваний, при которых поражаются две и более системы органов и тканей в результате воздействия специфических механизмов гуморального и клеточного звеньев собственной иммунной системы [2]. К системным аутоиммунным заболеваниям относятся системные васкулиты, системный склероз, системная красная волчанка, ревматоидный артрит, синдром Шегрена, болезнь Бехчета и другие.

В 80-е годы прошлого столетия у небольшого числа пациентов с неклассифицированным васкулитом методом непрямой иммунофлюоресценции были обнаружены аутоантитела, направленные против цитоплазматических компонентов полиморфно-ядерных лейкоцитов и моноцитов [3]. В настоящее время эти аутоантитела называются антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (ANCA) и характеризуются как гетерогенная популяция аутоантител, реагирующих с различными ферментами цитоплазмы нейтрофилов, в первую очередь с протеиназой-3 (PR3), миелопероксидазой (MPO), реже — лактоферином, катепсином G и другими антигенами [4]. ANCA являются определяющим фактором в развитии патогенетического процесса при гранулематозе Вегенера (ГВ) (антиген PR3), микроскопическом полиартериите (антиген MPO), аллергическом (эозинофильном) гранулематозном ангиите (антиген MPO) [4, 5].

Характеристика и методы выявления ANCA

ANCA могут быть выявлены с помощью радиоиммунологического и иммуноферментного методов, методами непрямой иммунофлюоресценции, иммунопреципитации, дот-блот и вестерн-блот. Для скрининга ANCA используют метод непрямой иммунофлюоресценции

ции, суть которого заключается в следующем: на нейтрофилы, фиксированные этанолом либо формалином, наносится исследуемая сыворотка крови в рабочем разведении 1:20 (диагностический титр). После инкубации и отмытки субстрата от несвязавшихся антител сыворотки наносятся антивидовые антитела, меченные флюорохромом. Образовавшиеся комплексы «антиген—антитело» выявляют с помощью люминесцентного микроскопа в виде специфического иммунофлюоресцентного свечения. Достоверность иммунофлюоресцентного анализа зависит от типа используемого субстрата, вида клеток, фиксации и условий хранения препаратов, качества отмытки и инкубации субстрата с исследуемым материалом. По типу свечения в реакции непрямого иммунофлюоресценции на нейтрофилсубстратных слайдах, фиксированных этанолом, все ANCA можно разделить на следующие группы (табл.):

1. Цитоплазматические, или cANCA, имеют крупнозернистое цитоплазматическое свечение нейтрофилов с интерлобулярным акцентом. cANCA вырабатываются к протеиназе-3 многофункционального белка, находящегося в азурофильных гранулах нейтрофилов, в гранулах моноцитов и в цитоплазме эндотелиальных клеток. cANCA являются серологическим диагностическим маркером ГВ. Диагностическая чувствительность этих аутоантител зависит от стадии и активности заболевания: 50% — при первоначальной стадии, 60% — при активной моно- или олигосимптоматической форме (почечная или легочная вовлеченность), и практически 100% — при активной генерализованной форме.

cANCA также могут выявляться у пациентов с ограниченными формами ГВ, например у пациентов со склеритом, эписклеритом, подсвязочным стенозом, лицевым парезом, черепным полинейритом, периферической нейропатией, вторичным полихондритом, идеопатическим прогрессивным некротизирующим нефритом, ренальной патологией неясного генеза. PR3-ANCA также обнаруживаются с низкой частотой при других васкулярных заболеваниях, ассоциированных с ГВ (микроскопический полиангиит, синдром Чарг—Страуса, классический нодозный панартериит) [5].

В отличие от крупнозернистого цитоплазматического свечения (cANCA) в литературе описан гомогенный тип свечения цитоплазмы нейтрофилов, основной антигенной мишенью которого является усиливающий бактерицидное действие белок (BPI). Катепсин G и MPO совместно с BPI могут давать аналогичное свечение нейтрофилов. Данный тип ANCA получил название атипичных cANCA [6].

2. Перинуклеарные, или pANCA, — артефакт этаноловой фиксации нейтрофилов, при которой происходит миграция некоторых положительно заряженных цитоплазматических антигенов к отрицательно заряженной ядерной оболочке, обнаруживая при этом характерное околядерное флюоресцентное свечение. pANCA могут подтверждаться на фиксированных формалином нейтрофилах, изменяя перинуклеарное свечение на цитоплазматическое. pANCA вырабатывают-

ся к миелопероксидазе, ферменту с молекулярным весом 140 кДа, находящемуся в азурофильных гранулах нейтрофилов [5, 7]. Другие нейтрофильные гранулярные компоненты, такие как эластаза, катепсин G, лактоферин, лизоцим, глюкуронидаза, азороцидин, также описаны в некоторых случаях как антигенные мишени, взаимодействие с которыми выявляет атипичные pANCA [8].

pANCA неспецифичны для определенного заболевания, они ассоциированы с группами болезней, которые имеют общие клинические и гистологические признаки и обнаруживаются при следующих заболеваниях:

- системные васкулиты, такие как микроскопический полиартериит, синдром Чарг—Страуса, в меньшей степени при классическом надозном полиартериите и редко при вторичных васкулитах;

- некротизирующий серповидный гломерулонефрит и редко при других формах гломерулонефрита;

- хронические воспалительные ревматологические заболевания (ревматоидный артрит, синдромы Стила и Фелти);

- заболевания соединительной ткани (системная красная волчанка, синдром Шегрена без очевидных признаков васкулита);

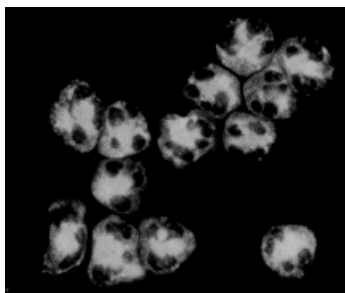
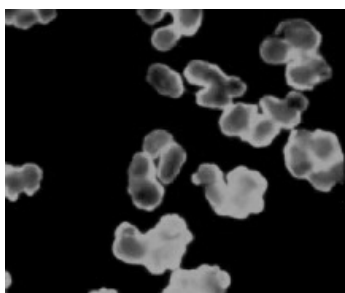
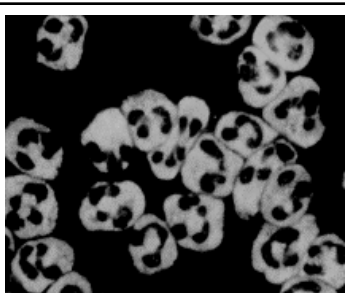
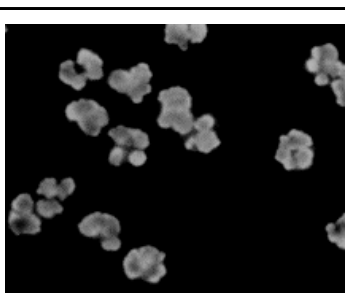
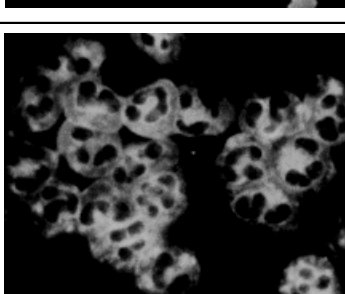
- хронические воспалительные заболевания кишечника и ассоциированные заболевания [3].

3. Атипичные ANCA, или xANCA, представляют собой комплекс cANCA и pANCA, который встречается у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, в большей степени при язвенном колите. Атипичные ANCA, выявленные на фиксированных этанолом нейтрофилах, становятся негативными на фиксированных формалином нейтрофилах [5, 7].

Реакция непрямого иммунофлюоресценции (РНИФ) остается золотым стандартом определения ANCA, является качественным и полуколичественным методом. Так, в результате постановки реакции, определяющей наличие и интенсивность свечения, выявляют ANCA и определяют их титр в сыворотке крови с последующей оценкой по шкале интенсивности в значениях от 1+ до 4+. При возникновении трудностей в описании типа свечения проводят дальнейшее разведение тестируемой сыворотки, что позволяет уточнить наличие тех или иных аутоантител. Полуколичественную оценку РНИФ также выполняют путем разведений тестируемой сыворотки до конечной точки, при которой флюоресценция не наблюдается [2, 9].

Вместе с тем следует отметить, что с помощью метода РНИФ не всегда можно точно идентифицировать антигенную мишень для ANCA. В лабораторной практике получил распространение метод выявления аутоантител, включающий два этапа: на первом этапе тестирования применяется наиболее чувствительный метод, в котором используется максимально широкий спектр антигенов, в данном случае метод непрямого иммунофлюоресценции, при котором может быть установлено присутствие других разновидностей полиспецифичных аутоантител. Уточнение специфичности об-

Основные типы иммунофлюоресценции ANCA на нейтрофилах

Тип свечения	Пример свечения	Аутоантигены, с которыми ассоциируется данный тип свечения	Ассоциированные с наличием ANCA-антител заболевания
Цитоплазматическое (cANCA) (гранулированное свечение цитоплазмы)		PR3	Гранулематоз Вегенера (80—90%) Микроскопический полиангиит (20—40%) ANCA-ассоциированный гломерулонефрит (20—40%) Синдром Чарг—Страуса (35%)
Перинуклеарное (pANCA)		MPO	Микроскопический полиангиит (50%) ANCA-ассоциированный гломерулонефрит (50%) Синдром Чарг—Страуса (35%)
Атипичное (cANCA)		BPI MPO Катепсин G	Кистозный фиброз (80%) Воспалительные заболевания кишечника Первичный склерозирующий холангит Ревматоидный артрит
Атипичное (pANCA)		HMG1/2 Каталаза Актин Лактоферин Лизоцим Эластаза Катепсин G Дефензин	Воспалительные заболевания кишечника Ревматоидный артрит Лекарственно-индуцированные васкулиты Аутоиммунные заболевания печени Некоторые паразитарные инвазии
Атипичное (xANCA) (цитоплазматическое и перинуклеарное свечение)		HMG1/2 Каталаза α -енолаза	Лекарственно-индуцированные системные васкулиты Воспалительные заболевания кишечника Ревматоидный артрит

П р и м е ч а н и е. PR3 — протеиназа-3; MPO — миелопероксидаза; HMG — негистоновые хромосомные белки; BPI — усиливающий бактерицидное действие белок.

наруженных аутоантител в отношении типа антигена подтверждается на втором этапе при использовании методов иммуноферментного анализа или иммуноблота, в которых применяются высокоочищенные или рекомбинантные антигены [10]. Для специфической дифференциации антигена разработан и предложен алгоритм выявления ANCA с использованием методов РНИФ и ИФА, представленный на рис. 1 [11].

Патогенетическая роль ANCA

Наличие ANCA при различных формах системных васкулитов предполагает их важную роль в патогенезе ассоциированных заболеваний. Однако до настоящего момента патофизиологический механизм ANCA-ассоциированных заболеваний остается неясным. Существует несколько теорий участия ANCA в патологическом процессе. Так, ANCA-цитокин-сиквенс теория (ANCA-cytokine-sequence theory) основана на ANCA, цитокинах, адгезивных молекулах, полиморфно-ядерных лейкоцитах (гранулярных белках), моноцитах, сосудистых эндотелиальных клетках. ANCA-антигены, экспрессируемые на клеточной поверхности в ответ на провоспалительные цитокины, могут взаимодействовать с

ANCA-антителами и приводить к чрезмерной активации полиморфно-ядерных лейкоцитов (дегрануляция, образование активных форм кислорода), клеточному лизису, индуцируя некротизирующий васкулит.

В развитии ANCA-индуцированного патологического процесса могут иметь место следующие стадии (рис. 2) [3, 4, 6, 12]:

I стадия. Пусковой механизм — инфекция (или другой еще не установленный этиологический фактор заболевания) индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов (α -ФНО, ИЛ-1, ИЛ-8), уровень которых повышается при системных васкулитах. Взаимодействие нейтрофилов с α -ФНО/ИЛ-8 приводит к зависимой от времени транслокации протеиназы-3 из гранул к наружной мембране клетки, что делает эти молекулы доступными для распознавания ANCA. Цитокины, стимулированные инфекционными антигенами, избыточно умножают экспрессию молекул адгезии (ICAM-1, E-селектин, VCAM-1) на эндотелии и активируют нейтрофилы и/или моноциты.

II стадия. Активированные нейтрофилы и моноциты экспрессируют ANCA-антигены на клеточной мембране. Простимулированные α -ФНО Fab₂ фрагменты

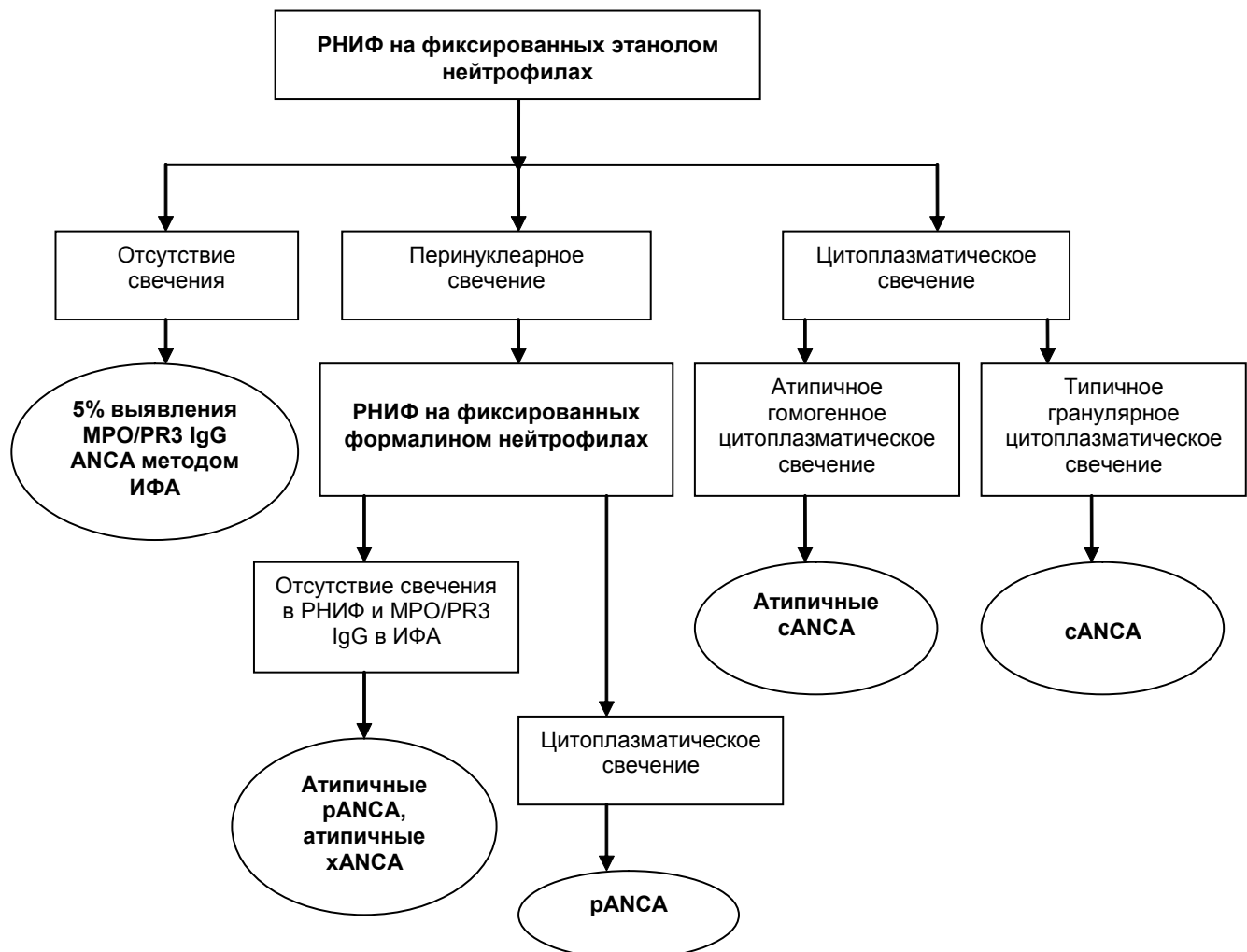
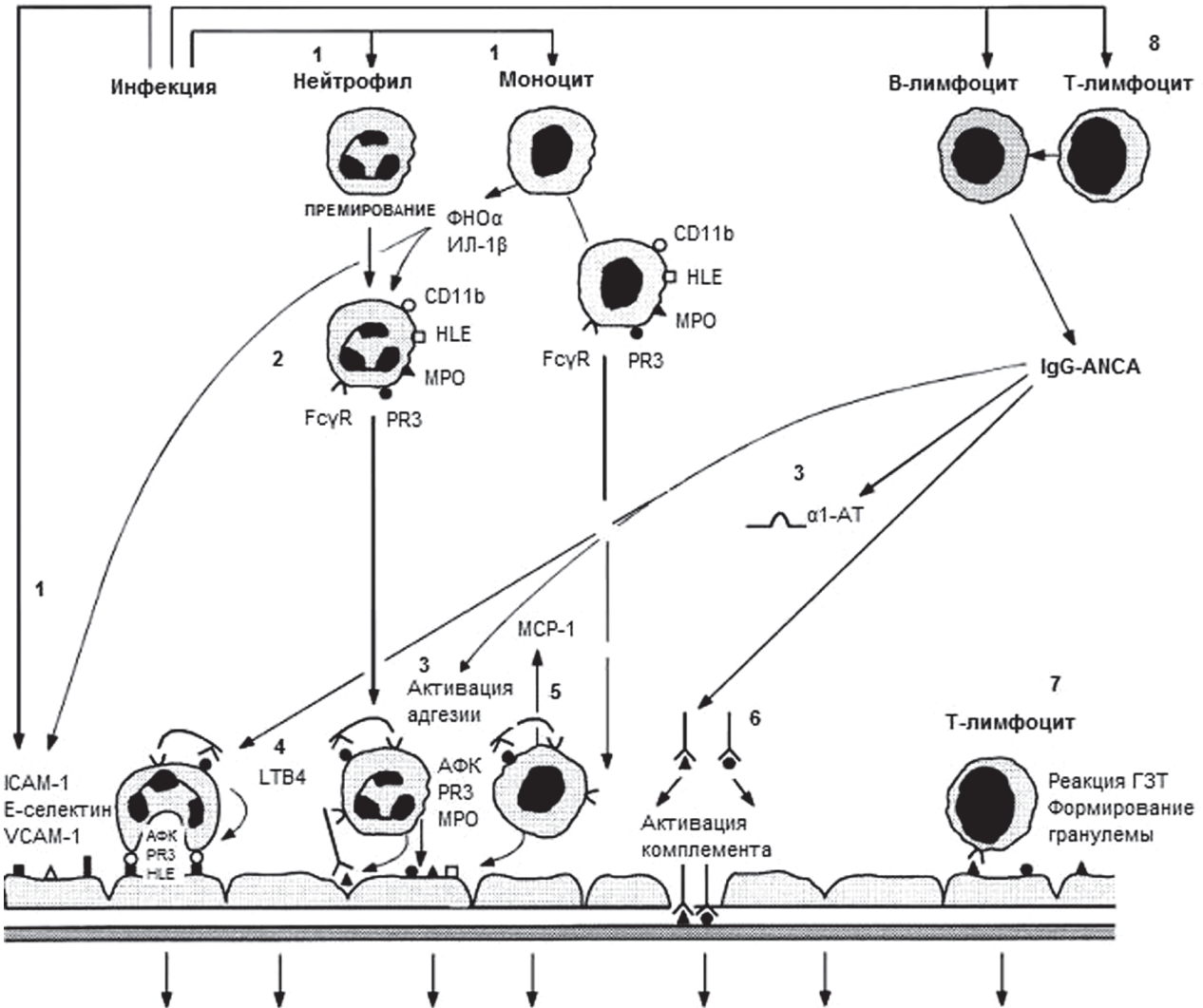


Рис. 1. Алгоритм определения (выявления) ANCA методами РНИФ и ИФА



ВАСКУЛИТ

Рис. 2. Иммуные механизмы развития ANCA-ассоциированных васкулитов

ANCA повышают адгезию нейтрофилов/моноцитов к эндотелиальным клеткам. Происходит взаимодействие активированных нейтрофилов и моноцитов с активированной эндотелиальной клеткой.

III стадия. Цитокининдуцированная экспрессия адгезивных молекул приводит к тесному взаимодействию нейтрофилов/моноцитов с эндотелиальным монослоем, обеспечивая защиту от действия α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ), основного ингибитора протеиназы-3. Также активация нейтрофилов/моноцитов посредством ANCA индуцирует высвобождение активных форм кислорода (АФК) и лизосомальных ферментов, приводя к некротизирующему воспалению эндотелия, которое усиливается за счет ингибирования α_1 -АТ.

IV стадия. Так как ANCA — мощные активаторы 5'-липоксигеназного пути в нейтрофилах, индуцирующих продукцию большого количества лейкотриена В4, то индукция ANCA-медирированного лейкотриена В4 (LTB4) приводит к увеличению продукции АФК, дегрануляции и увеличению притока нейтрофилов в очаг воспаления.

V стадия. Продукция ANCA-индуцированного моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1) увеличивает приток моноцитов, приводя к формированию гранулемы.

VI стадия. Связывание MPO или PR3, высвобожденных ANCA-активированными нейтрофилами/моноцитами, с эндотелием или базальной мембраной приводит к формированию иммунных комплексов с активацией комплемента. Кроме того, ANCA взаимодействуют непосредственно с эндотелиальными клетками, которые содержат как протеиназу-3, так и нейтрофилы. При активации эндотелия цитокинами (ИЛ-1, α -ФНО, γ -ИФН) на его мембране экспрессируются протеиназа-3, с которой связываются ANCA. В результате происходит усиление комплементзависимой цитотоксичности, эндотелий повреждается, на его поверхности появляются молекулы адгезии (Е-селектин, ICAM-1), которые вызывают прилипание нейтрофилов и лимфоцитов к эндотелию и способствуют проникновению их в ткани.

VII стадия. Экспрессия ANCA-антигенов в комплексе с MHC II класса может вызывать реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) аутореактивными Т-клетками, способствуя образованию гранулемы.

В итоге все вышеописанные стадии приводят к лизису эндотелиальных клеток и прогрессированию заболевания.

В последнее время заметно возрос интерес к теории дефекта апоптоза (theory of defective apoptosis), когда ANCA могут образовываться либо в результате неэффективного апоптоза, либо при неэффективном удалении апоптотических фрагментов клетки [13]. Также имеются доказательства того, что транслокация первичных гранул на мембране нейтрофилов может происходить не только в результате их цитокиноопосредованной предактивации, но и ускоренного апоптоза нейтрофилов. При этом первичные гранулы, экспрессирующиеся на мембране «апоптотических» нейтрофилов, взаимодействуют с циркулирующими ANCA. При гранулематозе Вегенера наблюдается увеличение экспрессии генов, кодирующих клеточный апоптоз (Fas и bcl-2). Несовершенный апоптоз нейтрофилов и эндотелиальных клеток может приводить к избыточному высвобождению скрытых аутоантигенов (PR3, MPO), способствовать высвобождению цитокинов, развитию воспаления. Клиренс апоптотических нейтрофилов, возможно, нарушается из-за свя-

зывания экспрессированного антигена (MPO или PR3) с ANCA, что приводит к персистенции апоптотических лейкоцитов в тканях и лейкоцитокластическому повреждению [14].

Ранее Н. Xiao и соавт. предложили еще одну теорию развития ANCA-индуцированного воспаления, описав роль альтернативного пути системы комплемента [15]. Согласно этой теории, ANCA IgG — это первоначальный патогенетический фактор причины ANCA-индуцированных воспалительных повреждений. MPO-ANCA или PR3-ANCA IgG приводят к высвобождению факторов, которые активируют комплемент с помощью генерации C3a. В исследованиях не было показано, какой фактор или факторы отвечают за активацию комплемента, но в число кандидатов могут быть включены АФК, миелопероксидаза, протеиназы и пропердин. Таким образом, единожды активировавшись, альтернативный путь самоподдерживается за счет действия усиливающей петли воспаления и продолжается до даун-регуляции специфическими контрольными белками, такими как факторы В и I. В микро среде, содержащей иммунные комплексы, например ANCA-антитела, связанные с ANCA-антигенами, C3b может ассоциироваться с Fc-фрагментом иммуноглобулинов и защищать от регуляторных белков, которые в дальнейшем могут усиливать воспалительное повреждение в зоне ANCA-поражения (рис. 3).

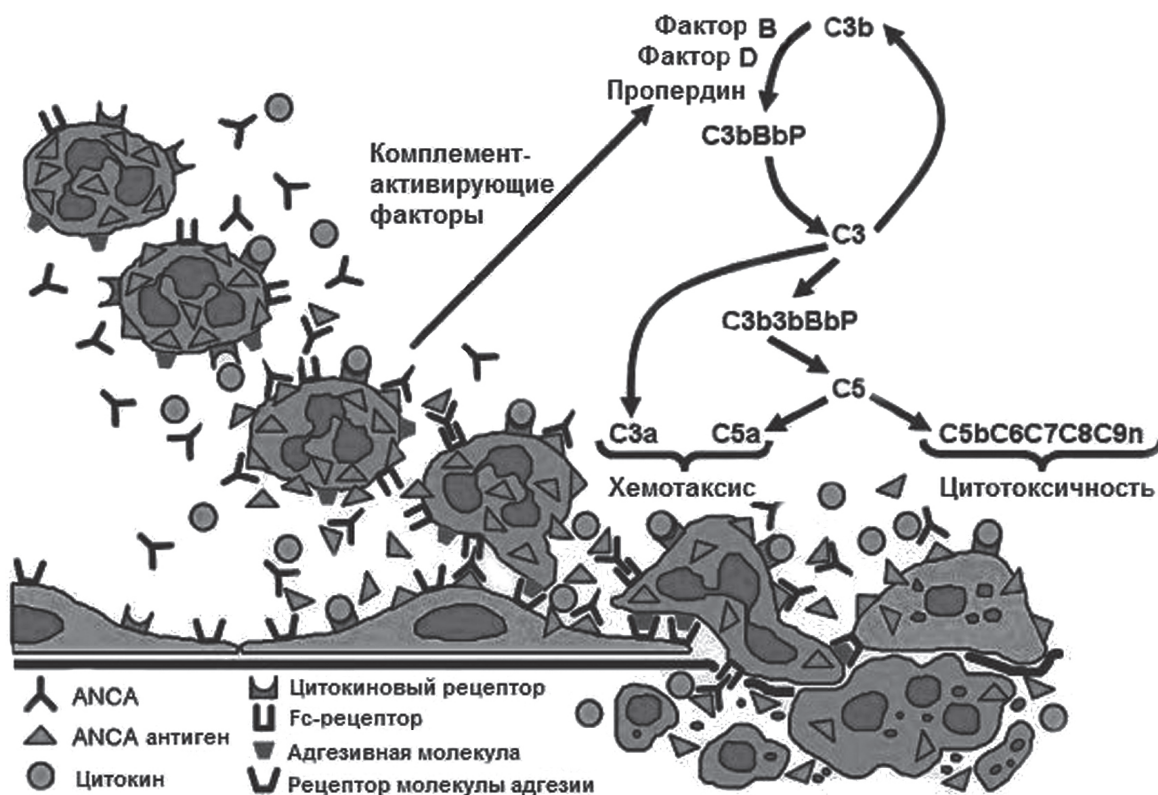


Рис. 3. Предполагаемый патогенетический механизм развития ANCA-ассоциированных гломерулонефрита и васкулита. Начиная с верхнего левого угла, нейтрофилы активируются цитокинами, экспрессируя ANCA-антигены (MPO и PR3) на поверхности, где они могут взаимодействовать с ANCA-антителами. В результате нейтрофилы активируются посредством связывания Fc-рецептора с Fab2-фрагментом. ANCA-активированные нейтрофилы высвобождают факторы (например, пропердин, протеазы, кислородные радикалы, миелопероксидазу), что приводит к активации альтернативного пути системы комплемента с генерацией мощного хемоаттрактанта нейтрофилов C5a и мембраноатакующего комплекса C5b-9. Активация комплемента увеличивает приток нейтрофилов, нейтрофильную активацию, что приводит к повреждению сосуда [15]

Таким образом, вышеприведенные данные анализа современной научной литературы указывают на необходимость проведения лабораторных исследований ANCA для дифференциальной диагностики аутоиммунных заболеваний, активности патологического процесса и оценки эффективности проводимой терапии. Метод РНИФ является скрининговым методом диагностики по сравнению с применяемыми в повседневной практике тестами. Различный характер свечения ANCA при определении иммунофлюоресцентным методом обусловлен разнообразным спектром аутоантител к внутриклеточным антигенам и способствует дифференциальной диагностике внутри группы ассоциированных заболеваний.

В 2010 г. в рамках выполнения государственной научно-технической программы «Инфекции и микробиологические биотехнологии» (научный руководитель — член-корр. НАН Беларуси, профессор Л. П. Титов) на основе слайдов с нейтрофилами разработана отечественная диагностическая тест-система для выявления ANCA. Данная тест-система по основным характеристикам (чувствительность, специфичность) соответствует зарубежным аналогам, она прошла клинические испытания и регистрацию в Центре экспертиз и испытаний в здравоохранении. Тест-система будет производиться в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии по годовым заявкам клинико-диагностических лабораторий и диагностических центров практического здравоохранения, ЦНИЛ университетов и РНПЦ, существенно улучшит как постановку корректного диагноза аутоиммунных заболеваний, так и позволит оценить эффективность проводимых терапевтических мероприятий и соответственно клинического течения болезни. Налаживание производства отечественной тест-системы для выявления ANCA открывает широкие возможности перед клиницистами и научными работниками для ее повседневного использования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Титов Л. П. // Изв. НАН Беларуси. Серия медико-биол. наук.— 2003.— № 8.— С. 85—89.
2. Титов Л. П., Тарасюк В. В., Андреева О. Т. и др. // Здравоохранение.— 2009.— № 10.— С. 27—33.
3. Gross W. L., Schmitt W. H., Csernok E. // Clin. Exp. Immunol.— 1993.— Vol. 91.— P. 1—12.
4. Окорочков А. Н. Диагностика болезней внутренних органов: Т. 2. Диагностика ревматических и системных заболеваний соединительной ткани. Диагностика эндокринных заболеваний.— М., 2001.
5. Pollard K. M. Autoantibodies and Autoimmunity. Molecular Mechanisms in Health and Disease. — WILEY-VCH, 2006.
6. Savage J., Davies D., Falk R. J., et al. // Kidney Intl.— 2000. — Vol. 57.— P. 846—862.
7. Bogdanos D. P., Invernizzi P. // World J. Gastroenterol.— 2008.— Vol. 14. — P. 3374—3387.
8. Radice A., M. Vecchi, M. B. Bianchi, et al. // Clin. Exp. Rheum.— 2000.— Vol. 18.— P. 707—712.
9. Клиническая иммунология и аллергология: Учеб. пособие / Под ред. А. В. Караулова.— М., 2002.— С. 233—234.
10. Лапин С. В., Тололян А. А. // Terra Medica nova.— 2007.— № 3.— С. 15—16.
11. Bosch X. // Lancet.— 2006.— Vol. 368.— P. 404—418.
12. Csernok E. // Autoimmun. Rev.— 2003.— Vol. 2.— P. 158—164.
13. Reumaux D., Duthilleul P., Roos D. // Hum. Immunol.— 2004.— Vol. 65.— P. 1—12.
14. Бекетова Т. В., Семенкова Е. Н., Козловская Л. В. // Терапевт. арх.— 2008. — Т. 80, № 12.— С. 69—72.
15. Xiao H., Schreiber A., Heeringa P., et al. // Am. J. Pathol.— 2007. — Vol. 170.— P. 52—61.

Поступила 28.10.10.

PATHOGENIC ROLE OF ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMATIC ANTIBODIES IN ANCA ASSOCIATED DISEASES DEVELOPMENT

O. T. Andreeva, M. O. Trusevich, L. P. Titov

Basing on the literature sources analysis the anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies (ANCA) are characterized, methods for their detecting are described, their pathogenic role is shown, their significance is assessed. It has been determined that the indirect immune fluorescence assay is a screening method for diagnosing ANCA associated diseases as well as for revealing autoimmune and infectious diseases caused complications. Introduction of a national test-system for detecting ANCA opens wide possibilities for its everyday appliance by clinicians and researchers for the ANCA associated diseases laboratory confirmation.

Key words: anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies, indirect immune fluorescence assay, ANCA associated diseases.

Медицинская литература России

- Хайтов Р. М., Игнатъева Г. А., Сидорович И. Г. **Иммунология. Норма и патология: Учебник для вузов.**— М., 2010.
- Харкевич Д. А. **Фармакология: Учебник для вузов.**— М., 2010.
- Хекер Х.-У. и др. **Акупунктура: Практ. руководство. Локализация точек — Методы — Выбор лечения.**— М., 2009.
- Хрячков В. В. и др. **Эндоскопия: Базовый курс лекций: Учеб. пособие.**— М., 2009.
- Цфасман А. З. **Курс железнодорожной медицины: Учебник для вузов.**— М., 2009.
- Экономика здравоохранения: Учеб. пособие для вузов / Под общ. ред. А. В. Решетникова.**— М., 2010.
- Южаков С. Д. **Лекарственные средства: Полный словарь-справочник 2010.**— М., 2010.
- Ющенко Г. В. и др. **Кишечные инфекции. Эпидемиология и профилактика: Учеб. пособие для врачей.**— М., 2009.
- Юшук Н. Д., Янушевич О. О., Ярема И. В. **Компьютерные визуализированные тестовые задания по специальности 060101 «Лечебное дело»: Учеб. пособие для вузов: В 3 т.**— М., 2009.
- Ярема В. И., Янушевич О. О. **Хирургия новообразований головы и шеи: Руководство для врачей: Учеб. пособие для вузов.**— М., 2009.

Е. Л. ТРИСВЕТОВА

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СКЕЛЕТНЫХ АНОМАЛИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЙ И ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Белорусский государственный медицинский университет

Комплексная оценка состояния скелетно-мышечной системы у детей и подростков с дисплазией соединительной ткани является диагностикой и профилактикой раннего остеоартроза, спондилолистеза, остеохондроза и других заболеваний. Своевременное выявление дисплазии, ассоциированных патологических состояний и заболеваний скелетно-мышечной системы направлено на профилактику и лечение, что позволит сохранить функциональные способности органов и системы в целом.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, диагностика патологии скелетно-мышечной системы, лечение.

Дисплазия соединительной ткани (ДСТ) относится к наследственным нарушениям соединительной ткани, характерными признаками которых являются системные изменения, возникающие вследствие генетических дефектов белков внеклеточного матрикса [1]. Структурные и метаболические нарушения коллагеновых и эластических волокон обуславливают снижение стабильности соединительной ткани, вызывая формирование патологических симптомов и синдромов. Скелетно-мышечные аномалии часто встречаются при ДСТ, их выявляют физикальными и рутинными инструментальными методами исследования [2]. У детей, подростков и людей молодого возраста с ДСТ комплексная оценка состояния скелетно-мышечной системы относится к мерам диагностики и профилактики раннего остеоартроза, спондилолистеза, остеохондроза и других заболеваний. Своевременное выявление ДСТ, ассоциированных патологических состояний и заболеваний скелетно-мышечной системы позволит провести профилактические и лечебные мероприятия, направленные на сохранение функциональной способности органов и системы в целом.

Фенотипические и клинические особенности при ДСТ зависят от преобладания изменений в плотной или рыхлой соединительной ткани. Нарушения плотной оформленной соединительной ткани проявляются скелетными аномалиями: узкий лицевой скелет с узкими фильтрами, аномалии придаточных пазух носа, челюсти, искривление носовой перегородки; долихостеномелия, арахнодактилия, деформация грудной клетки (воронкообразная или килевидная), сколиоз, кифоз, лордоз позвоночника, плоскостопие. Нередко костные аномалии связаны с нарушениями строения хряща, обусловленными задержкой созревания эпифизарной зоны роста хряща, что проявляется удлинением трубчатых костей [3]. К факторам, вызывающим деформацию грудной клетки, относят дистрофические изменения хондроцитов, нарушение формирования хондриновых волокон (отсутствие пучковости, появление продольных щелей, истончение) в реберных хрящах. Результаты биохимического исследования ре-

берных хрящей свидетельствуют о нарушениях сульфатирования гликозаминогликанов: снижении концентрации хондроитин-4 и хондроитин-6 сульфатов, увеличении содержания гликопротеинов, наличии коллагена типов III и IV, не встречающихся в нормальной хрящевой ткани, увеличении концентрации и перераспределении во внеклеточном матриксе коллагена типа V [4].

К проявлениям ДСТ относятся изменения периартикулярных тканей, вызванные растяжимостью коллагена (больше нормы) и развитием нестабильности суставов с клиническими патологическими признаками синдромов, обусловленных локализацией процесса.

Отклонения в развитии скелетно-мышечной системы являются основными клиническими признаками ДСТ [5]. Можно обсуждать приблизительную распространенность скелетных аномалий, поскольку истинную установить сложно — эпидемиологические исследования при ДСТ не проводились.

Нередко первым признаком скелетных аномалий является дисплазия тазобедренных суставов, диагностируемая в раннем детском возрасте. В возрасте 3 лет и старше в зависимости от фенотипа или синдрома, определяемого по совокупности клинических признаков, выявляют другие клинические варианты нарушений скелетно-мышечной системы.

Нарушения осанки при ДСТ встречаются в виде сутулости (усиление грудного кифоза), «плоской» спины (сглажены либо отсутствуют кифоз и лордоз), плоско-вогнутой спины (сглажен или отсутствует грудной кифоз на фоне сохраненного или усиленного поясничного лордоза) [6].

Нестабильность суставов при ДСТ вследствие ослабления механической прочности соединительнотканых структур (сухожилия, связки, энтезы и т. д.) сопровождается гиперрастяжимостью тканей, приводящей к подвывихам и микротравматизации суставного аппарата, в том числе позвоночника. В зависимости от выраженности локальных проявлений, перераспределения нагрузки, вызванной образом жизни, спортивными занятиями, признаки нестабильности манифестируют различными клиническими симптомами, в числе которых встречаются характерные для воспалительных заболеваний суставов или околосуставных тканей.

Избыточная подвижность суставов — гипермобильность, хотя и не является патологическим признаком, встречается часто при наследственных нарушениях соединительной ткани. Выделяют наследственные и приобретенные, генерализованные и локальные формы, синдром гипермобильности суставов и гипермобильность суставов как симптом. Истинная распространенность гипермобильности суставов не известна, хотя выявлена зависимость от возраста, пола, расы исследуемого контингента. Синдром гипермобильности суставов, при котором наблюдаются внесуставные проявления (пролапс митрального клапана, избыточная растяжимость кожи, варикозная болезнь в молодом возрасте, грыжи, спланхноптоз), встречается приблизительно в 10—15% случаев в европейской популяции, в 20—25% — у представителей африканской и азиатской популяции [7—10].

Патологические изменения в результате гипермобильности наблюдают в суставах конечностей и позвоночника. Поражения позвоночника представлены невоспалительными состояниями: дорсалгии, сколиоз, болезнь Шейерманна—Мау, спондилолистез, остеохондроз.

У лиц с гипермобильностью суставов дорсалгии встречаются в виде торакалгий, что качественно отличает их от людей без ДСТ, у которых преобладают люмбагии. В большинстве случаев при рентгенологическом обследовании не обнаруживают каких-либо структурных причин дорсалгий. Основные клинические проявления дорсалгий при гипермобильности суставов не отличаются специфичностью, болевой синдром появляется или усиливается во второй половине дня при длительных статических нагрузках (стоянии, иногда сидении), уменьшается или исчезает в положении лежа, а также при адекватном лечении [7, 11].

Дорсалгии нередко обусловлены сколиозом. Он характеризуется искривлением позвоночника во фронтальной плоскости с торсией тела позвонка в процессе роста, с нарушением функций органов грудной клетки и косметическими дефектами. Сколиоз может развиваться у детей в разном возрасте, в подавляющем большинстве случаев прогрессирует до тех пор, пока продолжается рост ребенка. В популяции сколиоз встречается с частотой 5—7%, у людей с гипермобильностью суставов и ДСТ — в 30—35% случаев [7].

Остеохондропатии (болезнь Шейерманна—Мау) — асептический некроз апофизов тел позвонков встречается в 2—5% популяции, при этом у лиц с ДСТ и гипермобильностью суставов — в 2 раза чаще. Как правило, при ДСТ остеохондропатия сочетается с кифосколиозом [12]. Клинические признаки остеохондропатии при ДСТ подобны таковым без гипермобильности суставов и ДСТ. Отмечают стойкие дорсалгии и деформацию позвоночника, сохраняющуюся пожизненно. Рентгенологические изменения при болезни Шейерманна—Мау свидетельствуют о раннем развитии остеохондроза.

Спондилолистез — смещение тел позвонков в горизонтальной плоскости, обусловленное избыточной растяжимостью связочного аппарата позвоночника, а также аномалиями тел и отростков позвонков, встречается в молодом возрасте у лиц с избыточными физическими нагрузками [13].

О. П. Шармазанова и соавт. изучили вертебральные проявления ДСТ на уровне шейного отдела позвоночника у подростков по клиническим и рентгенологическим данным. Анализ стандартных рентгенограмм функциональных спондилограмм шейного отдела позвоночника, выполненных у 38 мальчиков 13—17 лет с ДСТ, показал, что у всех обследуемых имеются изменения: локальные и системные аномалии (42,1%), нестабильность (68,4%), спондилоартроз (68,1%), начальные признаки остеохондроза (39,4%) [14].

Артралгии или полиартралгии у людей молодого возраста с ДСТ не всегда связаны только с физической нагрузкой. Провоцирующими факторами артралгий выступают изменение метеоусловий, воздействие стресса, гормональная перестройка организма, острое рес-

пираторное заболевание. Боли беспокоят в конце дня либо в ночное время после значительных физических нагрузок. Рецидивирующие подвывихи в голеностопных и коленных суставах часто возникают при незначительных нагрузках. Рецидивирующий синовит появляется непосредственно после травмы или значительной физической нагрузки, что затрудняет дифференциальную диагностику. Характерным признаком синовита при ДСТ являются локальные изменения, не сопровождающиеся системной воспалительной реакцией [11, 15].

Периартикулярные поражения (тендиниты, эпикондилит, энтезопатии, бурситы, туннельные синдромы) у пациентов с ДСТ и нестабильностью суставов возникают вследствие избыточной нагрузки или травматизации. Нередко молодых людей с гипермобильностью беспокоят «щелчки» при движении суставов. «Щелчки», не причиняя болевых ощущений, могут возникать в отдельных суставах или генерализованно, постоянно беспокоить либо спонтанно исчезать [15]. Специального медицинского вмешательства при «щелчках» в суставах конечностей, как правило, не требуется.

Лечение необходимо при «щелчках» в височно-нижнечелюстном суставе, которые относятся к системным признакам ДСТ при первичном пролапсе митрального клапана [16]. При электронно-микроскопическом изучении биоптатов пациентов с ДСТ и дисфункцией в височно-нижнечелюстном суставе исследователи наблюдали в фибробластах гипертрофию гранулярного эндоплазматического ретикулума, обусловленного повышенной синтетической активностью клеток. Выявляли изменения сосудов, характерные для васкулита, и облитерацию мелких сосудов, что ухудшало трофику связочного аппарата. В результате отмечали быстрое прогрессирование патологических изменений, симметричность поражения и появление осложнений дисфункции височно-нижнечелюстного сустава (остеоартроз, синовит, необратимые деформации) [17].

Часто встречающиеся ассоциированные с ДСТ и нестабильностью суставов состояния и заболевания:

острые (травматические): рецидивирующие подвывихи в голеностопном суставе; острые или рецидивирующие подвывихи плеча, надколенника, пястно-фалангового, височно-нижнечелюстного сустава; травматические артриты; разрыв мениска; повреждения суставов; частые переломы костей;

хронические (нетравматические): заболевания околоуставных тканей (эпикондилит, тендинит, синдром ротаторной манжеты плеча, бурсит, ювенильный эпизодический синовит); хондромалиция надколенника; торакалгии; сколиоз; фибромиалгия; дисфункция височно-нижнечелюстного сустава; синдромы компрессии нервных стволов (карпальный туннельный, тарзальный туннельный, акропарестезии, грудного выходного отверстия); синдром Рейно; плоскостопие и его осложнения; артралгии; остеоартроз; замедление моторного развития у детей [15].

Для ДСТ характерно уменьшение мышечной массы. Г. И. Нечаева и соавт. показали, что при гистологическом, гистохимическом и электронно-микроскопическом исследовании отмечается уменьшение размеров мышеч-

ных волокон поперечно-полосатых мышц, обусловленное атрофией мышечной ткани у пациентов с ДСТ [4].

Результаты многих исследований свидетельствуют об особенностях течения заболеваний опорно-двигательного аппарата у детей и взрослых людей с ДСТ.

В. А. Артамонова и соавт. исследовали 43 ребенка с ДСТ и реактивным артритом после перенесенной носоглоточной инфекции. Отметили, что суставной синдром характеризовался большей частотой поражения тазобедренных и плечевых суставов, продолжительностью болевого синдрома, высокой частотой рецидивов по сравнению с детьми без проявлений ДСТ. Среди факторов, провоцирующих развитие суставного синдрома при ДСТ, авторы называют микротравматизацию суставов [18].

Изучение особенностей клинических проявлений при суставном синдроме, обусловленном различными заболеваниями опорно-двигательной системы (ревматоидный артрит, реактивный артрит, ювенильный хронический артрит, псориатическая артропатия, анкилозирующий спондилоартрит и т. д.), выполнено у 204 детей с признаками ДСТ. Авторы считают, что при ДСТ часто встречаются перерастяжение капсулы суставов экссудатом, поражение наиболее нагружаемых суставов нижних конечностей, рецидивирование выпота в суставной капсуле, менее выраженные функциональные нарушения, образование бурситов. Общими морфологическими особенностями синовитов при различных нозологических формах артритов у детей с выраженными признаками ДСТ являлись: преобладание экссудативной воспалительной реакции, высокий процент содержания макрофагов и тучных клеток и низкий — плазмочитов, более быстрое развитие грануляционной ткани с исходом в фиброз и склероз [19].

По мнению И. М. Воронцова, при определенной степени механической перегрузки на фоне сниженной резистентности хряща и других соединительнотканых структур могут возникать участки микронекрозов и воспалительная реакция вокруг них с выпотом в сустав, то есть артрит с экссудативным синовитом или бурситом [20]. Это, по существу, нагрузочная артропатия на фоне врожденной или приобретенной дисплазии-дистрофии костно-хрящевого аппарата.

Таким образом, скелетные аномалии у людей с ДСТ, формируясь с детских лет, вызывают анатомические и функциональные нарушения.

Лечение ассоциированных с ДСТ заболеваний включает общепринятую терапию, а также методы, направленные на улучшение структуры соединительной ткани. Важное значение в предупреждении развития ассоциированных состояний имеет немедикаментозная терапия (адекватный режим физических нагрузок, избирательное любительское занятие спортом, применение средств, ограничивающих избыточную подвижность в суставе (ортезы), коррекция плоскостопия, лечебная физкультура, физиотерапевтические мероприятия и психотерапевтические методы, диетотерапия) [1].

Медикаментозное лечение включает средства, улучшающие метаболизм соединительной ткани: стимуляторы коллагенообразования, корректоры нарушения син-

теза и катаболизма гликозаминогликанов, стабилизаторы минерального обмена, корректоры биоэнергетического состояния организма, стабилизаторы процесса перекисного окисления, нормализующие содержание свободных аминокислот в сыворотке крови, и симптоматические, действие которых направлено на купирование основных синдромов при ассоциированных с ДСТ состояний и заболеваний опорно-двигательной системы.

К средствам, улучшающим синтез коллагена, относят пиаскледин 300, солкосерил, L-лизин, L-пролин, стекловидное тело. Препараты назначают в виде курсов лечения, поскольку указанная медикаментозная терапия является заместительной при ДСТ, продолжительность курса — 2—4 мес. Необходимо применять кофакторы синтеза коллагена: витамины С, В₁, В₂, В₆, Е, фолиевую кислоту, макро- и микроэлементы. Многие макро- и микроэлементы (магний, медь, цинк, селен, марганец и т. д.) участвуют в биохимических реакциях внутри- и внеклеточного созревания коллагена и других структурных элементов соединительной ткани. Магний к тому же считают средством патогенетической терапии ДСТ [21].

Доказано влияние на структуру хряща корректоров нарушения синтеза и катаболизма гликозаминогликанов — симптоматических средств замедленного действия или симптомомодифицирующих средств (SYSADOA): хондроитина сульфат и глюкозамина сульфат.

Хондроитина сульфат — полисахарид, являющийся главным компонентом внеклеточного матрикса многих тканей, включая хрящ, кость, кожу, связки, сухожилия. Обладая тропностью к хрящу, препараты хондроитина сульфата встраиваются в структуру хрящевой ткани, угнетая деструкцию. Хондроитина сульфат ингибирует свободные радикалы, способные вызывать разрушение хряща и коллагена, участвует в синтезе гликозаминогликанов, регуляции метаболизма хондроцитов и увеличивает продукцию суставной жидкости. Известно положительное влияние хондроитина сульфата на кость — обеспечивается поддержание нормального остеогенеза за счет улучшения фосфорно-кальциевого обмена и снижения потерь кальция.

Глюкозамина сульфат и гидрохлорид — соли глюкозамина, стимулирующие синтез физиологических протеогликанов, снижающие активность катаболических ферментов, включая металлопротеиназы. Глюкозамина сульфат повышает резистентность хондроцитов к воздействию провоспалительных цитокинов, активирует метаболические процессы в матриксе хряща, способствует нормализации отложения кальция в костной ткани и подавляет образование супероксидных радикалов и ферментов, разрушающих хрящевую ткань [22].

Лекарственные средства, содержащие хондроитина сульфат и глюкозамина сульфат/гидрохлорид, применяют в виде монотерапии или комбинированных препаратов. Хондроитина сульфат и глюкозамина сульфат выпускают для приема *per os* и парентерального введения. В клинической практике успешно используют комбинированные препараты для усиления терапевтического эффекта двух симптомомодифицирующих лекарственных средств [22].

Комбинированный препарат, содержащий хондроитина сульфат натрия (400 мг) и глюкозамина гидрохлорид (500 мг), — «Терафлекс» выпускают в капсулах для приема *per os*. После однократного приема внутрь в средней терапевтической дозе максимальная концентрация действующих веществ в плазме крови достигается через 3—4 ч, в синовиальной жидкости — через 4—5 ч. Биодоступность относительно синовиальной жидкости для глюкозамина составляет 25%, для хондроитина — 12%. Часть препарата, которая не попала в синовиальную жидкость, выводится почками и/или метаболизируется в печени до мочевины, CO_2 и H_2O . Экспериментальные исследования показали, что при совместном применении хондроитина сульфата и глюкозамина гидрохлорида достигается увеличение продукции глюкозаминогликанов хондроцитами на 96,6% по сравнению с монотерапией (32,2%) [23].

Для стабилизации минерального обмена при ДСТ используют: эргокальциферол, витамин D_2 , препараты кальция и фосфора. Препараты дозируют по возрастным нормам при документированных нарушениях обмена кальция и фосфора.

Корректоры биоэнергетического состояния организма применяют в связи с развитием у пациентов с ДСТ вторичной митохондриальной недостаточности [1]. Используют лекарственные средства, содержащие фосфорные соединения: фосфаден, рибоксин, коэнзим Q10, лецитин, янтарную кислоту.

С целью нормализации процессов перекисного окисления рекомендуют применение витаминов (А, С, Е), мексидола, селена, омега-3 полиненасыщенных жирных кислот.

Поскольку при ДСТ установлено снижение содержания многих заменимых и незаменимых аминокислот, проводят коррекцию их уровня посредством индивидуального подбора диеты, рекомендуется применять аминокислотные препараты или биологически активные добавки, содержащие незаменимые аминокислоты. По мнению Т. И. Кадуриной и соавт., необходима заместительная терапия лизином, пролином, лейцином, изолейцином, метионином и его производными, тирозином и триптофаном [1].

Симптоматическая терапия при состояниях и заболеваниях, ассоциированных со скелетными аномалиями, при ДСТ не отличается от рекомендаций по лечению таковых без ДСТ. При артралгиях и дорсалгии применяют анальгетики (парацетамол), нестероидные противовоспалительные средства. Назначают комбинированные препараты, в состав которых включены симптомомодифицирующие средства (хондроитина сульфат и глюкозамина гидрохлорид) и ибупрофен — 100 мг («Терафлекс Адванс», Sagmel, Inc., США). Использование препаратов комбинированного действия с высокой стабильностью компонентов и биодоступностью позволяет повышать эффективность лечения без наращивания дозы и количества применяемых лекарственных средств. При периартикулярных поражениях (энтезиты, тендиниты, бурситы и т. д.) лечение проводится, как у пациентов без ДСТ.

Используют местно в виде мази, аппликаций, компрессов, редко при упорном течении заболевания —

локально вводят глюкокортикостероидные средства. Лечение остеоартроза начинают в ранние сроки при выявлении первых признаков поражения суставов. Применяют рекомендуемые для терапии данного заболевания препараты (нестероидные противовоспалительные, SYSADOA). При значительной патологии суставов и позвоночника показано оперативное лечение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кадурина Т. И., Горбунова В. Н. Дисплазия соединительной ткани: Руководство для врачей.— СПб., 2009.
2. Трисветова Е. Л. // Мед. журн.— 2009.— № 1.— С. 102—105.
3. Земцовский Э. В. Диспластические фенотипы. Диспластическое сердце.— СПб., 2007.
4. Нечаева Г. И., Викторова И. А. Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов.— Омск, 2007.
5. Трисветова Е. Л. Малые аномалии сердца (клиника, диагностика, экспертное значение у мужчин молодого возраста).— Минск, 2005.
6. Правдюк Н. Г. Клинико-инструментальная характеристика дорсопатий у лиц молодого возраста: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 2007.
7. Grahame R., Bird H. A., Child A. // J. Rheumatol.— 2000.— Vol. 27.— P. 1777—1779.
8. Malfait F., Hakim A. J., De Paere A., Grahame R. // Rheumatol.— 2006.— Vol. 45, № 5.— P. 502—507.
9. Беленький А. Г. Гипермобильность суставов и гипермобильный синдром: распространенность и клинико-инструментальная характеристика: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 2004.
10. Beighton P., Solomon L., Soskolne C. L. // Ann Rheum Dis.— 1973.— Vol. 32.— P. 413—418.
11. Беленький А. Г. // Consilium medicum.— 2006.— № 8 (www.consilium med.com).
12. Simpson M. R. // JAOA.— 2006.— Vol. 11.— P. 389—397.
13. Kraus V. B., Li Y. J., Martin E. R., et al. // Arthrit. Rheum.— 2004.— Vol. 50.— P. 2178—2183.
14. Шармазанова О. П., Мительов Д. А. // Укр. радіол. журн.— 2004.— № 12.— С. 7—10.
15. Russek L. N. // Phys. Ther.— 1999.— Vol. 6.— P. 591—599.
16. Dijkstra P. U., Kropmans T. J. B., Stegenga B. // J. Dent. Res.— 2002.— Vol. 81, № 3.— P. 158—163.
17. Куприянов И. А., Ильин А. А., Шкурупий В. А. // Бюл. СО РАМН.— 2003.— № 2.— С. 93—98.
18. Артамонова В. А., Кантемирова М. Г., Коровина О. А. и др. // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов.— 1999.— № 2.— С. 115—119.
19. Аббакумова Л. Н. Дисплазия соединительной ткани: Руководство для врачей.— СПб., 2009.— С. 321—326.
20. Воронцов И. М. Артриты у детей.— СПб., 2000.
21. Громова О. А. // Рос. мед. журн.— 2008.— № 1.— С. 23—32.
22. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний: Руководство для практикующих врачей / Под общ. ред. В. А. Насоновой, Е. Л. Насонова.— М., 2003.
23. Поворозник В. В. Мистецтво лікування.— 2004.— № 3.— С. 16—21.
24. Lippiello L., Woodward J., Karpman D., et al. // Arthrit. Rheum.— 1999.— Vol. 42 (Suppl.).— P. 256.

Поступила 22.10.10.

DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF SKELETAL ANOMALIES, ASSOCIATED STATES AND DISEASES IN CASE OF CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

E. L. Trisvetova

Complex assessment of the skeletal and muscular system in children and adolescents with connective tissue dysplasia allow diagnose and prevent early osteoarthritis, spodiolistosis, osteochondrosis, and other diseases. Dysplasia, associated states and diseases of the skeletal and muscular system timely determination is targeted at their managing and preventing allowing preserve the functional capabilities of the body as a whole and of that system in particular.

Key words: connective tissue dysplasia, diagnosis of the skeletal and muscular system pathologies, therapy.



А. С. ГАДИРОВА

СИМУЛЬТАННЫЕ С ХОЛЕЦИСТЭКТОМИЕЙ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИЕ ОПЕРАЦИИ

Азербайджанский медицинский университет, Баку

Цель исследования. Определить возможность и эффективность проведения симультанных с холецистэктомией лапароскопических операций.

Материал и методы. Проанализированы истории болезни 142 больных, которым в 2004—2010 гг. провели сочетанные с холецистэктомией лапароскопические вмешательства на брюшной стенке, органах брюшной полости и малого таза.

Результаты. Основной патологией, диктующей необходимость вмешательства хирургов, стал хронический калькулезный холецистит (у 92 человек), острый холецистит (34) и полип желчного пузыря (16). При выборе доступа и последовательности этапов симультанных операций руководствовались интересами основного хирургического вмешательства, принципами асептики и оценкой характера выявленных патологических изменений и показаний к коррекции каждого из них. Средняя продолжительность операций составила 3 ± 50 мин. Осложнений, требующих повторного вмешательства, и летальных случаев не было. Количество койко-дней колебалось от 1 до 7 дней.

Заключение. Преимуществом симультанных лапароскопических операций является сокращение длительности пребывания больного в стационаре, снижение болевого синдрома и послеоперационных осложнений, обеспечение высокой медико-социальной и экономической эффективности лечения пациентов с сочетанными заболеваниями.

Ключевые слова: симультанные операции, сочетанная патология, органы брюшной полости.

В последние годы наблюдается следующая тенденция: при обследовании у пациентов выявляют сразу несколько заболеваний органов брюшной полости и забрюшинного пространства. Так, по данным ВОЗ, у 30% больных хирургического профиля обнаруживают сочетанную патологию органов брюшной полости [2, 3]. Коррекция заболеваний печени и желчных путей как основной патологии в симультанных операциях встречается достаточно часто. Это связано с высокой распространенностью желчнокаменной болезни, которая по данным аутопсии составляет 11—36% [6]. С другой стороны, лапароскопическая холецистэктомия является золотым стандартом в лечении данной патологии, ее часто проводят в плановом порядке, что дает возможность планировать вторую, третью одномоментную сочетанную операцию [4—6].

При обследовании больных с хроническим калькулезным холециститом, язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, грыжей пищеводного отверстия диафрагмы необходимо помнить о взаимообусловленности, взаимном отягощении и большом проценте сочетания этих заболеваний [1]. Нельзя забывать и о возможности наличия патологий, не имеющих прямой анатомо-физиологической зависимости [7—9].

Цель данного исследования — определить возможности и эффективность проведения симультанных с холецистэктомией лапароскопических операций.

М а т е р и а л и м е т о д ы

Проведен ретроспективный анализ историй болезни 142 больных, которым в период с 2004 по 2010 г. были

проведены сочетанные с холецистэктомией лапароскопические вмешательства на брюшной стенке, органах брюшной полости и малого таза. Возраст пациентов колебался в пределах 14—66 лет, в среднем составил 34,12 года. Среди обследуемых 89 (62,7%) женщин и 53 (37,3%) мужчины. Медицинские аспекты подготовки больных, проведения оперативных вмешательств и лечения в послеоперационном периоде принципиально не отличались от общепринятых схем при соответствующей патологии. Стандартный диагностический алгоритм состоял из физикального, лабораторного, рентгенологического, до- и послеоперационного ультразвукового исследования органов брюшной полости и малого таза. Оперативные вмешательства проводили под общей анестезией и в условиях создания карбоксиперитонеума (12—14 мм рт. ст.).

Сопутствующие сердечно-сосудистые (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь) и легочные заболевания (хронический бронхит, бронхиальная астма), хронические заболевания почек, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, ожирение II—III степени, сахарный диабет наблюдались у 29 (20,4%) пациентов.

Р е з у л ь т а т ы и о б с у ж д е н и е

Основной патологией, по поводу которой проводили хирургическое вмешательство, послужил хронический калькулезный холецистит у 92 больных, острый холецистит — у 34, полип желчного пузыря — у 16 пациентов. Обследование больных до операции не исключало выполнение интраоперационной ревизии брюшной полости и малого таза, что позволило диагностировать сочетанную патологию у 21 (14,8%) больного: у 2 выявлена холедохозктазия, у 1 — простая киста в VI сегменте печени, у 9 — одно- или двусторонняя киста яичника, у 4 — вторичные изменения червеобразного отростка, у 5 — выраженный спаечный процесс в брюшной полости различной локализации. В ходе лапароскопической холецистэктомии у 11 больных взяли биопсию из печени и мезентеральных лимфатических узлов. Во всех остальных случаях одномоментные операции были запланированы заранее (табл. 1). При выборе доступа и последовательности этапов симультанных операций руководствовались интересами основного хирургического вмешательства, принципами асептики и оценкой характера выявленных патологических изменений и показаний к коррекции каждого из них.

Заболевания, по поводу которых проводили симультанные операции, представлены в табл. 2.

У 19 (13,4%) больных в анамнезе были перенесенные ранее лапаротомии. В 23 случаях в ходе лапароскопического вмешательства была диагностирована спаечная болезнь. Среди 23 больных со спаечной болезнью 11 человек перенесли ранее две лапаротомии, 9 — одну, у оставшихся 3 лапаротомии в анамнезе не было.

Летальных случаев и осложнений, требующих повторного вмешательства, не было. В 1 случае повреждена нижняя эпигастральная артерия троакаром, в связи с чем выполнили релапароскопию с последующим расширением троакарной раны и перевязкой сосуда. В 4 случаях была осуществлена конверсия: из-за неконтролируемого коагуляцией кровотечения (3) и трудности эксплорации общего желчного протока при холедохолитиазе (1). Ятро-

Таблица 1

Характер одномоментных лапароскопических сочетанных операций при желчнокаменной болезни

Основная операция	Сочетанная операция										Всего
	фундопликация	пластика пупочной грыжи (аллопластика)	аппендэктомия	кистэктомия и каутеризация яичников	фенестрация кисты печени	гистерэктомия	консервативная миомэктомия	одно/двусторонняя трансабдоминальная пластика паховой грыжи	биопсия	операции в забрюшинном пространстве	
Холецистэктомия	9	24	7	19	2	6	4	13	38	4	126
Холецистэктомия и дренирование общего желчного протока через культю пузырного протока			1	3					2		6
Холецистэктомия и холедоходуоденоанастомоз			2	3			1		3		9
Холецистэктомия и эндоскопическая папиллосфинктеротомия									1		1
Итого ...	9	24	10	25	2	6	5	13	44	4	142

Таблица 2

Сопутствующая патология, по поводу которой при лапароскопической холецистэктомии проводили сочетанную операцию

Сопутствующая патология	Выполненная операция	Больные абс. (%)
Диафрагмальная грыжа	Фундопликация	9 (5,2)
Пупочная грыжа, расширение кольца	Пластика пупочной грыжи	24 (16,1)
Вторичные изменения отростка, хронический аппендицит	Аппендэктомия	10 (13,0)
Киста, поликистоз яичников	Кистэктомия и каутеризация яичников	25 (17,3)
Простая киста печени	Фенестрация кисты печени	2 (1,4)
Множественные миоматозные узлы, аденомиоз	Гистерэктомия	6 (4,1)
Субсерозная миома матки	Консервативная миомэктомия	5 (3,2)
Одно/двусторонняя паховая грыжа	Одно/двусторонняя трансабдоминальная пластика паховой грыжи	13 (9,1)
Жировая дистрофия печени, мезентеральная лимфоаденопатия	Биопсия	44 (28,6)
Почечнокаменная болезнь, стриктура мочеточников	Операции в забрюшинном пространстве	4 (2,0)

генных повреждений внутренних органов не было. Послеоперационных осложнений со стороны бронхолегочной системы не отмечали, что связано с ранней активизацией больных. Нагноение раны наблюдали у 8 (5,6%) пациентов. Послеоперационная боль в правом надплечье вследствие раздражения диафрагмального нерва беспокоила 34 (23,9%) пациентов, но какой-либо медикаментозной терапии не требовалось. Количество койко-дней колебалось от 1 до 7 (3,24 дня), средняя продолжительность операций составила 3 ч ± 50 мин.

Таким образом, проведенные сочетанные операции не усугубили осложнения и не повлияли на показатель средней длительности пребывания больного в стационаре. Симультанные лапароскопические операции являются перспективным направлением современной эндохирургии, обеспечивают высокую медико-социальную и экономическую эффективность лечения больных с сочетанными заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балалыкин А. С., Крапивин Б. Н., Давыдов А. А. и др. // Хирургия.—1997.— № 4.— С. 68.
2. Брагин В. В., Борзенко Б. В. // Клинич. хирургия.— 1995.— № 3.— С. 11—13.
3. Маховский В. З., Ованесов Б. Т., Мадагов Л. А. и др. // Хирургия.— 2002.— № 7.— С. 41—46.
4. Adrian E. Ortega, Jeffrey H. Peters, Raffaello Incarbone et al. // J. American Coll. Surg.— 1996.— Vol. 185, № 9.— P. 249—256.
5. Bittner R. // Langenbecks Arch Surg.— 2004.— Vol. 389, № 3.— P. 157—163.

6. Cervantes J., Rojas G., Anton J. // World J. Surg.— 1997.— Vol. 21, № 2.— P. 201—204.

7. Olivari N., Luerti M., Torzilli G., Casanova G. // Surg. Laparosc. Endosc.— 1996.— Vol. 6, № 3.— P. 239—242.

8. Sarli L., Villa F., Marchesi F. // Surgery.— 2001.— Vol. 129, № 5.— P. 530—536.

9. Stevens M. L., Hubert B. C., Weuzel F. J. // Am. J. Obstet Gynec.— 1986.— Vol. 149, № 3.— P. 350—354.

Поступила 26.08.10.

LAPAROSCOPIC OPERATIONS PERFORMED SIMULTANEOUSLY WITH CHOLECYSTECTOMY

A. S. Gadirova

Objective. To determine the possibility and efficiency of performing laparoscopic operations simultaneously with cholecystectomy.

Materials and methods. Case reports of 142 patients having undergone laparoscopic operations on the abdominal wall, abdominal organs and pelvic organs combined with cholecystectomy in 2004 – 2010 were analyzed.

Results. Chronic calculous cholecystitis (in 92 persons), acute cholecystitis (in 34 persons), and gallbladder polyps (in 16 persons) were the main pathologies requiring surgical intervention. When selecting the mode of access and the simultaneous operations stages sequence the interests of the main surgical interference dominated, the aseptic principles were considered and the pathological change character as well as the indications for correcting each were assessed. The operation average duration was 3 h ± 50 min. No complications requiring re-operating and no lethal outcomes occurred. The in-hospital stay was 1 to 7 days.

Conclusion. The advantage of performing laparoscopic operations simultaneously with cholecystectomy was in the patient in-hospital stay reduction, the pain syndrome and postoperative complications frequency reduction, high medico-social and economic efficiency provision when managing patients suffering from several diseases.

Key words: simultaneous operation, combined pathology, abdominal organs.



В. М. СМЕРНОВ

АМПИЦИЛЛИН/СУЛЬБАКТМ В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМ ШТАММОМ *ACINETOBACTER BAUMANNII*

Белорусская медицинская академия
последипломного образования

Цель исследования. Провести анализ частоты выделения и антибиотикорезистентности 1595 изолятов *Acinetobacter baumannii*, выделенных из биологических сред пациентов.

Материал и методы. Исследовали пациентов обоего пола в возрасте 18 лет и старше с документированным диагнозом: сепсис, интраабдоминальная и послеоперационная раневая инфекция, гнойно-септические заболевания респираторной и мочевыделительной системы, который был поставлен через 48 ч и более от момента госпитализации.

Результаты. Установлено, что *A. baumannii* является неферментирующим грамотрицательным возбудителем, вызывающим вторичные инфекции различной локализации у пациентов отделений интенсивной терапии и реанимации многопрофильных стационаров Минска. Выявлено, что *A. baumannii* обладает чрезвычайно высоким уровнем резистентности к большинству антибактериальных препаратов.

Заключение. Установлено, что наиболее эффективным и экономически обоснованным средством борьбы с полирезистентным штаммом *A. baumannii* является ампициллин/сульбактам.

Ключевые слова: полирезистентные штаммы, неферментирующие грамотрицательные возбудители, антибиотикорезистентность, бета-лактамы.

Неферментирующие грамотрицательные возбудители являются одними из наиболее значимых патогенов, вызывающих инфекции в отделениях интенсивной терапии и реанимации (ОИТР). К этому классу микроорганизмов относятся такие возбудители, как *A. baumannii* и *P. aeruginosa*.

В последние годы во всем мире отмечен рост числа нозокомиальных инфекций, вызванных микроорганизмами рода *Acinetobacter* [1]. Первые подобные случаи наблюдали на рубеже 70—80-х годов, однако публикации, в которых авторы сообщают о значительной частоте выделения *Acinetobacter spp.* при госпитальных инфекциях, появились лишь в 90-х годах [1, 2]. В настоящее время этот возбудитель занимает 2—3 место в этиологии госпитальных инфекций у больных в ОИТР, вызывая преимущественно пневмонии, особенно на фоне длительной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и мощной антибактериальной терапии, реже — первичные бактериемии, менингиты, эндокардиты, абсцессы мозга и легких, эмпиемы плевры, медиастениты, инфекции мочевыводящих путей и перитониты на фоне перитонеального диализа [1]. Так, в последнее десятилетие *Acinetobacter spp.* стал главной причиной пневмонии на фоне ИВЛ и бактериемии в Израиле [1].

Материал и методы

Проведено многоцентровое ретроспективное микробиологическое исследование, включающее анализ частоты

выделения и антибиотикорезистентности 1595 изолятов *Acinetobacter baumannii*, выделенных из биологических сред (мокрота, трахеобронхиальный аспират, кровь, моча, отделяемое из ран, брюшной и грудной полости, ликвор, фрагменты центральных катетеров) больных, находящихся на лечении в ОИТР многопрофильных стационаров Минска в 2005—2009 гг. включительно.

Исследовали пациентов обоего пола в возрасте 18 лет и старше с документированным диагнозом: сепсис, интраабдоминальная и послеоперационная раневая инфекция, гнойно-септические заболевания респираторной и мочевыделительной системы, который был поставлен через 48 и более часов от момента госпитализации. Тяжесть состояния исследуемых пациентов оценивали по шкале APACHE II в 15 и более баллов. Выделение микробной флоры, ее идентификацию и определение резистентности выполняли в централизованной лаборатории Минского городского центра гигиены и эпидемиологии. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили тремя методами: диско-диффузионным на среде Мюллера—Хинтон, полуавтоматическим анализатором «ATB Expression» («Bio Merieux», Франция) и автоматическим анализатором «Vitek-2». Для характеристики резистентности использовали термины «чувствительные», «резистентные» и «умеренно резистентные». Обработку данных проводили с помощью компьютерных программ «WHONET 5.5» и «Excel» («Microsoft», США).

Результаты и обсуждение

По данным автора статьи, *A. baumannii* является грамотрицательным возбудителем, наиболее интенсивно набирающим значимость в реанимационных отделениях стационаров Минска. Общая частота выделения *A. baumannii* в 2009 г. составила 10,66%, в том числе 20,61% — при инфекциях дыхательных путей, 11,86% — кровотока и 13,48% — при раневой инфекции. В настоящее время этот возбудитель является самым частым грамотрицательным микроорганизмом, вызывающим вторичные инфекции различной локализации у пациентов ОИТР.

Суммарные данные об этиологии госпитальных инфекций приведены на рис. 1.

Тенденция увеличения удельного веса *A. baumannii* в структуре нозокомиальных инфекций происходит на фоне снижения преобладавшей ранее *P. aeruginosa*. Динамика этого процесса в этиологии инфекций дыхательных путей представлена на рис. 2.

Схожая картина наблюдается при вторичных хирургических инфекциях (посевы абдоминальных и торакальных дренажей) (рис. 3).

Таким образом, очевиден факт чрезвычайной значимости данного возбудителя для реанимационных отделений. Актуальность *A. baumannii* обусловлена также быстрым ростом уровней его резистентности к большинству антибактериальных препаратов.

Среди механизмов устойчивости к антибиотикам у *A. baumannii* выделяют способность к синтезу плазмидных бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), гид-

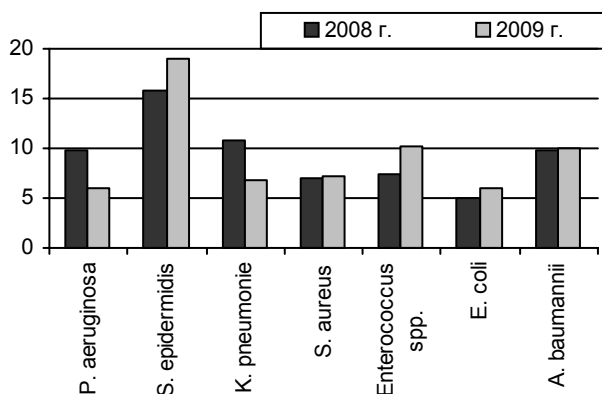


Рис. 1. Этиология вторичных инфекций в реанимационных отделениях стационаров Минска в 2008—2009 г.

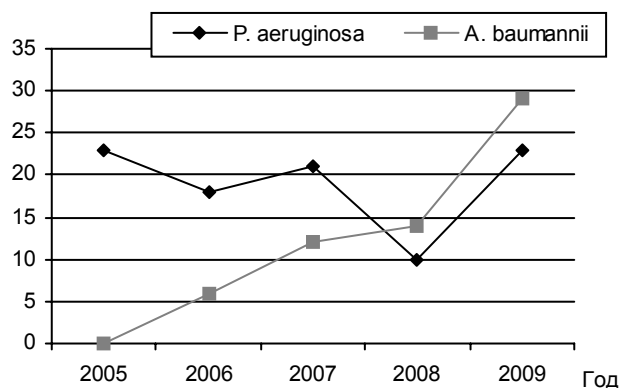


Рис. 3. Роль неферментирующих грамотрицательных возбудителей в этиологии хирургических полостных инфекций

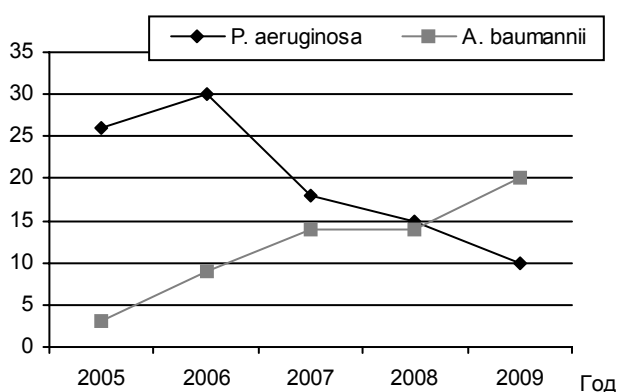


Рис. 2. Динамика повышения значимости *A. baumannii* в этиологии вторичных инфекций дыхательных путей

ролизующих все бета-лактамы, за исключением цефепима и карбапенемов, хромосомных лактамаз класса *AmpC*, способных гидролизовать карбапенемы, а также снижение проницаемости микробной стенки и активизацию системы эффлюкса.

Изменения уровня резистентности *A. baumannii*, полученные в 2007—2009 г. в ходе исследования, приведены в табл. 1.

Из данных табл. 1 следует, что в 2009 г. у *A. baumannii* были чрезвычайно высокие уровни резистентности к большинству антибактериальных препаратов. Так, его устойчивость к ампициллину составила 97,4%, к карбенициллину — 89,1%, цефотаксиму — 96,3%, цефтриаксону — 83,5%, цефепиму — 93,7%, ципрофлоксацину — 80,4%, гентамицину — 69,7%,

Таблица 1

Динамика резистентности *A. baumannii* к основным антибиотикам, применяемым в лечении вторичных инфекций

Антибиотик	2007 г.			2008 г.			2009 г.		
	R, %	S, %	ДИ R, %	R, %	S, %	ДИ R, %	R, %	S, %	ДИ R, %
Амикацин	38,9	55,6	23,6—56,5	49,3	41,1	43,5—55,1	55	29,6	49,8—60,1
Амоксициллин/клав	97	1	90,8—99,2	88,9	8,7	83,6—92,7	86,3	8,5	81,5—90,1
Ампициллин	97,1	1,8	94,5—98,5	97,4	1,5	95,1—98,7	97,4	1,9	95,3—98,6
Ампициллин/сульбактам	27,4	65,9	20,9—35,0	20,7	70,8	16,5—25,6	26,7	55,4	22,6—31,3
Карбенициллин	84,6	6,6	75,2—91,0	87,1	8,9	78,6—92,7	89,1	8,9	80,9—94,2
Цефазолин	100	0	97,0—100	99	0,7	96,8—99,8	97	2,3	94,2—98,5
Цефепим	71,8	9,3	65,8—77,1	84,8	2,9	80,5—88,3	93,7	2,1	90,8—95,7
Цефоперазон	88,6	4,5	74,6—95,7	74,1	3,7	53,4—88,1	61,5	25,6	44,6—76,2
Цефотаксим	89,4	4,8	85,0—92,7	91,1	2,6	86,9—94,1	96,3	2,6	93,1—98,1
Цефтазидим	91,9	5,6	87,4—94,9	93,8	4,6	90,7—95,9	96,7	1,5	94,5—98,1
Цефтриаксон	62,3	15,6	54,1—69,9	81,9	9,5	75,9—86,7	83,5	10,5	78,0—87,9
Цефуроксим	98,1	0,6	94,2—99,5	100	0	98,1—100	99,5	0	97,0—100
Хлорамфеникол	82,4	10,1	74,1—88,5	81,7	14,5	73,8—87,7	63,8	24,4	54,7—72,0
Ципрофлоксацин	68,2	27,6	62,8—73,1	81,2	15,2	76,8—84,9	80,4	17,2	75,9—84,2
Доксициклин	34,5	57,5	26,0—44,1	61,1	38,9	36,1—81,7	74,1	22,4	60,7—84,3
Гентамицин	67,3	28,8	61,4—72,7	67	29,2	62,1—71,6	69,7	27	64,9—74,1
Имипенем	37,9	59,3	32,9—43,1	62,5	36,1	57,7—67,1	60,8	37,1	56,0—65,4
Левифлоксацин	58,3	22	49,4—66,7	52,2	27,3	45,1—59,2	58,3	12,2	50,7—65,5
Ломефлоксацин	96,4	3,6	79,7—99,8	78,9	21,1	62,2—89,8	100	0	65,5—100
Меропенем	55,5	44,5	48,2—62,6	72,4	27,2	66,7—77,5	66,8	31,6	61,2—71,9
Офлоксацин	75,5	13,3	65,6—83,4	83,3	11,1	76,5—88,5	81,3	11,6	74,1—86,9
Пиперациллин	89,4	5,6	83,7—93,3	97	1,7	94,2—98,5	98	0,9	95,7—99,1
Полимиксин В	4	94	0,7—14,9	14,9	85,1	9,7—22,1	20,2	79,8	15,6—25,7
Тетрациклин	100	0	95,7—100	95,5	3,8	90,0—98,2	64,2	22,2	56,6—71,2
Тобрамицин	37,7	42,9	32,0—43,8	36,1	48,3	30,9—41,7	31,4	47,8	26,8—36,4

Примечание. R — резистентность; S — чувствительность; ДИ R — доверительный интервал для резистентности.

имипенему — 60,8% и меропенему — 66,8%. Очевидно, что ни один из вышеприведенных препаратов нельзя использовать для эмпирической терапии инфекций любой локализации, вызванных данным возбудителем.

На фоне общей относительно высокой активности карбапенемов отмечается тенденция к возрастанию количества нечувствительных штаммов (для имипенема — 60,8%, для меропенема — до 66,8% по данным за 2009 г.). О повышении резистентности к карбапенемам сообщают и европейские исследователи, что свидетельствует о глобальности проблемы [8].

Полученные в результате 5-летнего мониторинга данные также подтверждают указанную тенденцию (рис. 4).

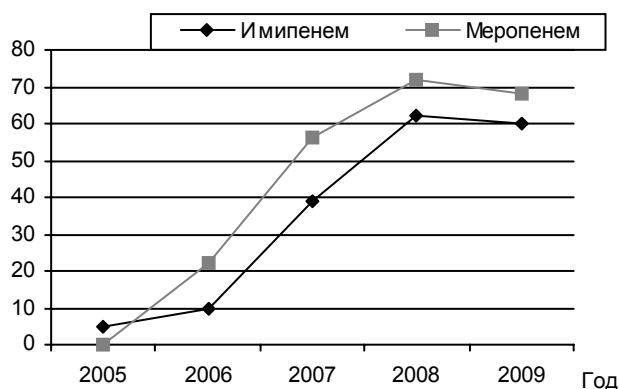


Рис. 4. Динамика резистентности *A. baumannii* к карбапенемам

Особого внимания заслуживает низкая активность цефалоспоринов и аминогликозидов (кроме амикацина) против *A. baumannii*.

Таким образом, наиболее эффективными антибиотиками в борьбе с указанным возбудителем следует признать бета-лактамы, комбинированные с сульбактамом — ампициллин/сульбактам (в 2009 г. R=26,7%, в 2008 г. R=20,7%, в 2007 г. R=27,4%), цефоперазон/сульбактам и полимиксин В (в 2009 г. R=20,2%, в 2008 г. R=14,9%, в 2007 г. R=4%).

Полученные данные совпадают с результатами европейских и российских исследований, в частности с «РОСНЕТ». Данное исследование показало чувствительность штаммов *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у пациентов с нозокомиальными инфекциями в ОИТР 31 лечебно-профилактического учреждения России, к следующим антибиотикам: пиперациллину, пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму, цефепиму, цефоперазону, цефоперазону/сульбактаму, имипенему, меропенему, ципрофлоксацину, левофлоксацину, гентамицину, амикацину и полимиксину В (для *P. aeruginosa*) [4—5].

Комбинация бета-лактама с сульбактамом в одной лекарственной форме повышает эффективность основного компонента за счет связывания сульбактама с пенициллинсвязывающими белками 2-го типа, то есть собственного антибактериального действия ингибитора бета-лактамаз в отношении *A. baumannii* [9, 10].

Из данных табл. 1 следует, что резистентность к ампициллину/сульбактаму на протяжении всего периода наблюдения не изменялась и колебалась на уровне

30%, что является наименьшим показателем среди изученных антибактериальных препаратов.

Таким образом, препарат эффективен в отношении *A. baumannii* и рекомендуется к включению в эмпирические схемы лечения в стандартных терапевтических дозах.

Однако отсутствие токсичности у описываемого препарата позволяет повышать дозу ампициллина/сульбактама до 27 г/сут, что, по данным многочисленных исследований, повышает его эффективность.

Так, по данным исследования А. Р. Betrosian, где сравнивали активность ампициллина/сульбактама в отношении *A. baumannii* с другими антибактериальными препаратами, высокие дозы этого антибиотика также эффективны, как применение стандартных дозировок полимиксина В [11].

Кроме того, по данным другого исследования, эффективность ампициллина/сульбактама высока даже в отношении устойчивого к карбапенемам штамма *A. baumannii*, что также подтверждается и данными по Минску [12].

В исследовании, проведенном М. S. Oliveira, сравнивались результаты лечения вторичных инфекций, вызванных полирезистентным штаммом *A. baumannii* у пациентов, получающих ампициллин/сульбактам и полимиксин. Результаты представлены в табл. 2 [13].

Из данных табл. 2 следует, что ампициллин/сульбактам обладает существенными преимуществами перед полимиксином по уровням выживаемости, клинического улучшения состояния и смертности.

Исходя из данных, полученных в ходе мониторингового исследования (см. табл. 1), одним из сравнительно эффективных антибактериальных препаратов в отношении *A. baumannii* можно назвать амикацин. Резистентность к нему составила в 2009 г. 55% (в 2008 г. — 49,3%, в 2007 г. — 38,9%). Несмотря на довольно высокую устойчивость к препарату, он может быть использован для лечения инфекций, вызванных данным возбудителем за счет использования его фармакокинетических возможностей.

Так, амикацин, который относится к препаратам с концентрационнозависимой кинетикой, допускает повышение его суточной дозы с 15—20 мг/кг (1—2 г/сут) до 3—4 г/сут, не проявляя при этом токсического эффекта [18]. Фармакокинетические особенности препарата предусматривают наличие постантибиотического эффекта, позволяющего назначать этот препарат 1 раз/сут в максимальной дозе. Эффективность антибиотика воз-

Таблица 2

Сравнительное исследование результатов лечения полирезистентных инфекций (%), вызванных *A. baumannii*

Результат лечения	Препарат	
	полимиксин	ампициллин/сульбактам
Излечение	15	25
Улучшение	17	26
Ухудшение	30	29
Неопределенный эффект	20	5
Смерть в течение лечения	41	28
Смерть при госпитализации	63	54

растает с повышением дозы и зависит от того, насколько концентрация препарата превышает минимальную подавляющую для данного микроорганизма.

В исследовании, проведенном С. В. Царенко и соавт., изучали клинический эффект назначения препаратов с концентрационнозависимой кинетикой пациентам с полирезистентными инфекциями при условии отсутствия чувствительности к препарату *in vitro*. При назначении максимально высоких доз амикацина его клиническая эффективность повышалась до 92%, при наличии эффекта *in vitro* — только в 25% случаев [18].

Помимо вышесказанного, амикацин имеет преимущество перед ампициллином/сульбактамом: он оказывается активным также в отношении других грамотрицательных возбудителей. Уровни резистентности к амикацину распространенных патогенов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Уровни резистентности неферментирующих грамотрицательных возбудителей к амикацину в стандартных дозах (R, %)

Возбудитель	2007 г.	2008 г.	2009 г.
<i>P. aeruginosa</i>	70,3	62,3	30,4
<i>A. baumannii</i>	38,9	49,3	55
<i>K. pneumoniae</i>	58,1	72,3	57,6
<i>E. coli</i>	12,5	14,1	57,6

Таким образом, амикацин, который не является препаратом, рекомендованным к эмпирическому назначению пациентам со вторичными инфекциями, может помочь в лечении инфекций, вызванных полирезистентными штаммами грамотрицательных возбудителей, устойчивых к применению других мер.

Кроме того, из препаратов, активных в отношении *A. baumannii*, следует назвать полимиксин В и другие бета-лактамы, комбинированные с сульбактамом, в том числе цефоперазон/сульбактам.

В ы в о д ы

1. В настоящее время наиболее актуальным неферментирующим грамотрицательным возбудителем является *A. baumannii*, который вызывает 10,66% от всех вторичных инфекций в ОИТР, в том числе 20,61% инфекций дыхательных путей, 11,86% кровотока и 13,48% раневых инфекций. Данный возбудитель обладает высокими уровнями резистентности ко всем распространенным антибиотикам, что существенно затрудняет лечение инфекций, вызванных *A. baumannii*.

2. Среди препаратов, активных против *A. baumannii*, можно назвать ампициллин/сульбактам, цефоперазон/сульбактам, полимиксин В и амикацин. Как показывают многочисленные исследования, ампициллин/сульбактам является эффективным и экономически обоснованным средством борьбы с полирезистентным штаммом *A. baumannii* и рекомендуется для включения в эмпирические схемы антимикробной терапии.

3. Амикацин, который не является препаратом, рекомендованным для лечения госпитальных инфекций,

может помочь в борьбе с полирезистентными штаммами грамотрицательных возбудителей, поскольку допускается повышение дозы до 3—4 г/сут, при этом его активность возрастает с 25 до 92% без повышения частоты побочных эффектов. Безусловно, подобное назначение должно осуществляться в случае неэффективности других мер борьбы с полирезистентностью.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Белоцерковский Б. З., Гельфанд Е. Б., Попов Т. В. и др. // *Инфекции в хирургии*.— 2008.— Т. 6, № 1.— С. 117—121.
2. Решедько Г. К., Рябкова Е. Л., Фаращук А. Н., Страчунский Л. С. // *Клинич. микробиология и антимикроб. химиотерапия*.— 2006.— Т. 8, № 3.— С. 163—179.
3. Яковлев В. П., Щавелев Д. Л., Яковлев С. В. // *Инфекции и антимикроб. терапия*.— 2002.— Т. 4, № 5.— С. 1—14.
4. Решедько Г. К., Рябкова Е. Л., Кречикова О. И. и др. // *Клинич. микробиология и антимикроб. химиотерапия*.— 2008.— Т. 10, № 2.— С. 163—179.
5. Bronzwaer S. L. A. M., Goettsch W., Ollson-Liijequist B., et al. // *Eurosurveillance*.— 1999.— Vol. 4.— P. 40—41.
6. Jun Yong Choi, Chang Oh Kim, Yoon Seon Park, et al. // *Yonsei Med. J.*— 2006.— Vol. 47, № 1.— P. 63—69.
7. Higgins P. G., Wisplinghoff H., Stefanik D., Seifert H. // *Antimicrob. Agents Chemother.*— 2004.— Vol. 48, № 5.— P. 1586—1592.
8. Antypa E., Koteli A., Kontopoulou K., et al. // *Crit. Care*.— 2009.— Vol. 13 (Suppl. 1).—P. 303.
9. Noguchi J. K., Gill M. A. // *Clin. Pharm.*— 1988.— Vol. 7.— P. 37—51.
10. Cullman W., Stieglitz M., Opferkuch W. // *Drugs*.— 1988.— Vol. 35.—P. S71—S76.
11. Betrosian A. // *J. Infect.*— 2008.— Vol. 56.— P. 432—436.
12. Levin A. S., Levy C. E., Manrique A. E., et al. // *Int. J. Antimicrob. Agents*.— 2003.— Vol. 21.— P. 58—62.
13. Oliveira M. S. // *J. Antimicrob. Chemother.*— 2008.— Vol. 61.— P. 1369—1375.
14. Эйдельштейн М. В., Страчунский Л. С. и др. // *Клинич. микробиология и антимикроб. химиотерапия*.— 2005.— Т. 7, № 4.— С. 323—336.
15. Bergogne-Berezin E., Towner K. J. // *Clin. Microb. Rev.*— 1996.— Vol. 9.— P. 148—165.
16. Jones R. N. // *Semin. Respir. Crit. Care Med.*— 2003.— Vol. 24.— P. 121—134.
17. Paterson D. L., Bonomo R. A. // *Clin. Microbiol. Rev.*— 2005.— Vol. 18.— P. 7—86.
18. Царенко С. В., Сидоренко С. В., Таурова К. П. // *Клинич. анестезиология и реаниматология*.— 2006.— № 3.—С. 15—18.

Поступила 19.10.10.

AMPICILLIN/SULBACTAM IN MANAGING INFECTIONS CAUSED BY *A. BAUMANNII* POLYRESISTANT STRAIN

V. M. Smirnov

Objective. To analyze frequency of separating *Acinetobacter baumannii* from patients' biological material and determine resistance to antibiotics of 1595 isolates.

Materials and methods. Patients of both sex aged 18 or older with sepsis the diagnose being documented, intra-abdominal and postoperative wound infections, pyoseptical diseases of the respiratory and urinary systems diagnosed in 48 hours after hospitalization or later were examined.

Results. It has been determined that *A. baumannii* is a non-fermenting gram-negative pathogenic agent causing secondary infections in various locations in patients treated in Departments of Intensive Therapy and Resuscitation of Minsk multiprofile hospitals. It has been determined that *A. baumannii* demonstrates an extremely high level of resistance to most of antibiotics.

Conclusion. It has been determined that ampicillin/sulbactam is the most efficient and economically substantiated drug for struggling with the *A. baumannii* polyresistant strains.

Key words: polyresistant strains, non-fermenting gram-negative pathogenic agents, resistance to antibiotics, beta-lactams.



А. А. ТРОЯНОВ, В. И. ТЕРЕХОВ, В. А. ЧЕРНОВ

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ РАБОТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ 4-й ГОРОДСКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ им. Н. Е. САВЧЕНКО

4-я городская клиническая больница им. Н. Е. Савченко, Минск

1 октября 2010 г. исполнилось 50 лет со дня официального открытия 4-й городской клинической больницы им. Н. Е. Савченко.

Целое поколение людей прошли практическую школу в больнице и получили опыт в лечебно-диагностической и организационной деятельности. Во многом клиника была первой: Белорусская школа торакальной хирургии, Белорусская школа урологии, первая пересадка почки и первая операция на сердце в Республике Беларусь.

Строительство 4-й клинической больницы было начато в 1954 г. Первый корпус построен в 1957 г. 10 октября 1957 г. 4-я ГКБ начала функционировать. В первом корпусе клиники были размещены противотуберкулезный диспансер № 3 и стационар на 140 коек. В задачи больницы входило: обеспечение лечебно-профилактической работы, учебно-педагогического процесса, научно-исследовательской работы и оказание высококвалифицированной и специализированной медицинской помощи в условиях стационара и поликлиник. В соответствии с решением исполнительного комитета Минского городского Совета депутатов трудящихся № 248 от 19 мая 1960 г. «Об улучшении медицинского обслуживания населения Октябрьского района» приказом отдела здравоохранения Минского городского исполнительного комитета № 31 от 30 мая 1960 г. были переданы в подчинение 4-й ГКБ с 1 июня 1960 г.

— 3-я городская детская клиническая поликлиника 2-й городской детской клинической больницы;

— 3-я центральная районная клиническая поликлиника по обслуживанию взрослого населения 3-й городской клинической больницы им. Е. В. Клумова с 8 врачебными и 5 фельдшерскими здравпунктами.

Были открыты глазное отделение на 60 коек, а 6 сентября 1960 г. — городская детская поликлиника № 12.

Согласно приказу отдела здравоохранения Мингорисполкома № 77 от 28 сентября 1960 г., 5 октября 1960 г. было открыто акушерское отделение на 100 коек и гинекологическое отделение на 60 коек.

В ноябре 1960 г. был открыт главный корпус клиники на 600 коек, госпитализация больных здесь началась 19 ноября 1960 г.

Решением Минского горисполкома № 499 от 22 сентября 1960 г. 1 октября

1960 г. была открыта 4-я городская клиническая больница в Минске на 700 коек.

4-я городская клиническая больница им. Н. Е. Савченко была и остается ведущей клинической базой подготовки медицинских специалистов таких крупных учреждений образования, как Белорусский государственный медицинский университет и Белорусская медицинская академия последипломного образования. Лечебно-диагностический процесс в больнице осуществляется с участием кафедр БГМУ: урологии (возглавляемой профессором А. В. Строцким), военно-полевой хирургии (возглавляемой доцентом В. Е. Корицом, клинической базой руководит доцент В. Г. Богдан), клинической фармакологии (во главе с профессором А. В. Хапалюком), оториноларингологии (возглавляемой профессором А. Ч. Буцель), внутренних болезней № 3 (возглавляемой профессором Н. П. Митьковской). Под руководством научных сотрудников РНПЦ «Кардиология», возглавляемого академиком НАН Беларуси А. Г. Мрочком, проводится внедрение новых медицинских технологий в лечение и диагностику сердечно-сосудистых заболеваний. Здесь ярко проявилась научная, педагогическая и клиническая деятельность основателя торакальной хирургии в Республике Беларусь профессора П. Н. Маслова. В нашей больнице профессором А. В. Шоттом впервые была разработана и внедрена операция по коррекции аортальных пороков с помощью искусственного клапана. Студенты-медики с увлечением слушали лекции молодого профессора, в дальнейшем основателя Научно-исследовательского института кардиологии, академика Г. И. Сидоренко.

Большой вклад в развитие оториноларингологии в Республике Беларусь и подготовку специалистов внесла кафедра оториноларингологии МГМИ (впоследствии БГМУ), которую в разные годы возглавляли профессоры Н. П. Книга, В. Я. Гапонович, П. А. Тимошенко.

Много лет плодотворно трудился в 4-й ГКБ академик НАН Беларуси, лауреат Государственной премии СССР и БССР, профессор, доктор медицинских наук, организатор кафедры урологии в МГМИ, ректор БелГИУВа с 1960 по 1966 г. Н. Е. Савченко.

Являясь министром здравоохранения БССР в течение 20 лет, Н. Е. Савченко внес большой вклад в развитие нового направления в белорусской урологии и здравоохранения в целом. Становление и развитие трансплантологии как науки в Республике Беларусь обязаны ему. Первая пересадка почки в Республике Беларусь (в то время БССР) была проведена Н. Е. Савченко в 1971 г. и первые операции по трансплантации делал именно он. Сегодня Белорусской трансплантологии уже более 30 лет, за плечами — тысячи операций.

В 1979 г. в родильном отделении 4-й ГКБ женщина в возрасте около 24 лет (по имени Зося), которой в 16 лет Н. Е. Савченко выполнил пересадку почки, с помощью кесарева сечения родила мальчика, в честь Н. Е. Савченко его назвали Колей. Данный случай был первым в Советском Союзе, а всего в мире на тот момент было трое подобных родов. Женщина прожила более 40 лет. Сын ее закончил БГУ.

Работавшие в то время под руководством академика Н. Е. Савченко молодые и энергичные урологи А. Д. Апцешко, Г. А. Сологуб, А. Д. Солоненко, Г. А. Бань, И. А. Скобеус активно внедряли в лечебно-диагностический процесс новый, прогрессивный для того времени радиоизотопный метод диагностики. В 1969 г. была открыта третья в БССР радиоизотопная лаборатория, первым заведующим которой стал В. И. Касперович. Осваиваются и внедряются в медицинскую практику новые перспективные методы радиоизотопной диагностики: исследование поглочительной и экскреторной функции печени, скеннирование печени и почек, исследование эффективного почечного кровотока и плазмотока, расчет отдельных почечных клиренсов. Под руководством академика Г. И. Сидоренко и профессора А. В. Шотта в кардиологию внедрены методы исследования центральной и периферической гемодинамики, объема циркулирующей крови и плазмы. В настоящее время в тесной связи с сотрудниками 3-й кафедры внутренних болезней БГМУ и научными сотрудниками РНПЦ «Кардиология» активно развивается и внедряется в клиническую практику такое направление в мировой медицине, как ядерная кардиология, использующая радионуклидные

методы диагностики ИБС по исследованию перфузии миокарда.

Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 6 февраля 2001 г. 4-й ГКБ присвоено имя основателя белорусской школы урологии, нефрологии и трансплантации почки, академика, доктора медицинских наук, профессора Н. Е. Савченко.

Николай Евсеевич Савченко родился 7 ноября 1922 г. в поселке Красный Дворец Черечского района Гомельской области. В 1948 г. закончил Минский медицинский институт. Работал главным врачом Гродненского кожно-венерологического диспансера. С 1960 по 1966 г. был ректором Белорусского института усовершенствования врачей, в 1966 г. ему присвоено звание профессора, тогда же он был назначен министром здравоохранения и занимал этот пост в течение 20 лет. В 1967 г. Николай Евсеевич организовал и возглавил новую кафедру урологии в Минском медицинском институте. В 1972 г. был избран действительным членом Академии наук БССР.

Н. Е. Савченко — автор более 300 научных работ, 11 монографий и 9 изобретений, член Европейской международной ассоциации урологов, председатель Белорусской

ассоциации урологов. Он подготовил 6 докторов и 24 кандидата медицинских наук.

Работу организатора здравоохранения Николай Евсеевич сочетал с интенсивной лечебной и научно-педагогической деятельностью. При его участии сформированы новые перспективные направления научных исследований.

В настоящее время 4-я ГКБ им. Н. Е. Савченко — многопрофильное лечебно-диагностическое учреждение с высоким научно-практическим и профессиональным потенциалом как врачебного, так и сестринского персонала. В больнице аттестовано на квалификационные категории около 95% врачей и около 85% среднего медицинского персонала. Шесть практических врачей отделений больницы получили ученую степень кандидата медицинских наук. В 2004 г. был создан городской урологический центр. До 14 апреля 2010 г. в больнице функционировало единственное в Республике Беларусь отделение по трансплантации почки, которое было передано 9-й городской клинической больнице.

Открывшееся в феврале 2003 г. отделение сосудистой хирургии под руководством кандидата медицинских наук, лауреата Государственной премии Респуб-

ки Беларусь В. П. Романовича является городским центром сосудистой хирургии.

Новейшие инновационные медицинские технологии легли в основу деятельности отделений рентгеноударно-волнового дистанционного дробления камней и эндоскопической хирургии, общей хирургии, ультразвуковой диагностики и эндохимирургии, гемодиализа, пересадки почки, радионуклидной диагностики и многих других отделений. Высоким авторитетом среди пациентов больницы пользуются терапевтические отделения (кардиология, нефрология).

До 2015 г. предусмотрено строительство новых клинических корпусов больницы и реконструкция корпуса урологии, создание новой материально-технической базы для оказания лечебно-диагностической помощи населению Минска.

Администрация 4-й ГКБ им. Н. Е. Савченко стремится сохранить и развить традиции, заложенные при основании и становлении больницы, направить усилия коллектива в сотрудничестве с учеными-медиками на оказание высококвалифицированной медицинской помощи жителям нашего города и других регионов республики.



В. И. ТЕРЕХОВ

40 ЛЕТ ОТДЕЛЕНИЮ РАДИОНУКЛИДНОЙ ДИАГНОСТИКИ 4-й ГОРОДСКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ им. Н. Е. САВЧЕНКО

4-я городская клиническая больница им. Н. Е. Савченко, Минск

Отделение радионуклидной диагностики (ОРД) 4-й городской клинической больницы им. Н. Е. Савченко — одно из первых отделений страны, которое начало использовать энергию мирного атома в лечебно-диагностическом процессе. Начав свою работу в 1969 г., оно было официально открыто в июне 1970 г. и прошло путь от кабинета изотопного исследования до отделения радионуклидной диагностики.

Энтузиасты нового на то время диагностического вида исследования врач В. И. Касперович, медицинские сестры Л. В. Пехтерева и Г. К. Кривицкая, санитарка Л. А. Радзевич начали работать под непосредственным руководством академика Н. Е. Савченко. Врачи-урологи А. Д. Апцешко, Г. А. Сологуб, А. Д. Солоненко, Г. А. Бань, И. А. Скобеус активно

внедряли новый радиоизотопный метод диагностики в клиническую практику. В 1970 г. приказом Минздрава БССР кабинет был преобразован в радиоизотопную лабораторию, первым ее заведующим стал В. И. Касперович, который занимал этот пост до 1977 г. С годами объем и востребованность радионуклидных исследований увеличивались. В медицинскую практику стали внедряться новые перспективные методы радиоизотопной диагностики: исследование поглотительной и экскреторной функции печени, скенирование печени и почек, исследование эффективного почечного кровотока и плазмотока, расчет отдельных почечных клиренсов. Это было единственное радионуклидное отделение в стране, которое специализировалось на обследо-

вании уронефрологической патологии детского возраста в Республике Беларусь. С 1977 по 1984 г. заведующим радиоизотопной лабораторией был М. Р. Линдер. В кардиологию внедрены методы исследования центральной и периферической гемодинамики, объема циркулирующей крови и плазмы (академик Г. И. Сидоренко и профессор А. В. Шотт).

После приобретения гамма-камеры с 1985 г. стали проводить скintiграфию почек, печени и желчного пузыря, селезенки, легких, щитовидной железы, костей. На протяжении почти 20 лет, с 1984 по 2004 г., лабораторией руководил А. С. Харченко, а с 2004 г. — В. И. Терехов.

В 2005 г. радиоизотопная лаборатория преобразована в отделение радионуклидной диагностики.

Сотрудники отделения принимали активное участие в научно-практической, рационализаторской и изобретательской деятельности, подготовке материалов для кандидатских и докторских диссертаций. В настоящее время гордостью нашей страны являются профессора В. А. Янушко, Е. С. Атрощенко, В. С. Пилотович и многие другие. В 70-е годы XX века под руководством и при участии профессора В. Я. Гапановича разработаны и внедрены методики исследования функционального состояния слизистой полости носа радиоизотопным методом. Свои опыт и знания, приобретенные за 33 года работы в отделении радионуклидной диагностики, старшая медицинская сестра Ж. Д. Малашкевич передает молодому поколению медицинских сестер. В отделении проходили и проходят обучение радионуклидной диагностике врачи и средний медицинский персонал. Отделение является центром повышения квалификации в области ядерной медицины в Республике Беларусь.

На базе ОРД проходят обследование пациенты кардиохирургических и кардиотерапевтических отделений РНПЦ «Кардиология», клиники УД при Президенте РБ, Центральной поликлиники и госпиталя МВД, Республиканской клиники нефрологии, клиники урологии БГМУ, Республиканского центра трансплантации почки, республиканских нефрологических, урологических центров.

ОРД и сегодня активно принимает участие в научно-исследовательской, учебной, методической и рационализаторской работе, разработке нормативно-правовой документации, касающейся радионуклидной диагностики в Республике Беларусь. Врачи отделения активно участвуют в научных конференциях, форумах, конгрессах, проходящих в нашей стране, СНГ и в мире. Они являются авторами многих печатных и методических работ по радионуклидной диагностике — единственных в стране монографий по радионуклидным видам исследования в уронефрологии и кардиологии.

Коллектив сотрудников ОРД с оптимизмом смотрит в будущее: активно внедряет в клиническую практику однофотонную

эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ), которая открывает новые возможности получения изображения отдельных частей тела и органов, изучения на новом уровне функционального состояния легких, головного мозга, почек, печени, эндокринной и костной систем.

Применение в отделении ОФЭКТ открыло перспективы для изучения метаболических процессов в сердце на системном, органном, клеточном и субклеточном уровнях в норме и при различных патологических состояниях, позволило развить такое новое направление в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний для нашей страны, как ядерная кардиология.

Отличительной чертой методов ядерной кардиологии является их функциональность. В настоящее время способы радионуклидной индикации сердца занимают одну из ведущих позиций в диагностике ИБС. В первую очередь это относится к перфузионной томосцинтиграфии миокарда, поскольку нарушение коронарного кровотока является основным звеном патогенеза указанного заболевания. Благодаря высокой информативности и неинвазивности томосцинтиграфического исследования сердца количество таких процедур в мировой практике увеличивается, опережая динамику роста других инструментальных исследований в кардиологии.

Нарушения микроциркуляции играют немаловажную роль в развитии и прогрессировании ИБС. И в диагностике такой формы ИБС, когда клинические проявления при коронарной недостаточности возникают на фоне сохраненного кровотока по магистральным артериям, методы радионуклидной визуализации, а именно перфузионная томосцинтиграфия миокарда может эффективно использоваться для прогнозирования ближайших кардиальных событий у пациентов с этим заболеванием. Таким образом, перфузионная томосцинтиграфия миокарда занимает приоритетную позицию в диагностике коронарной ишемии по сравнению с другими методами исследования сердца в Республике Беларусь. Это обусловлено высокими

показателями чувствительности, специфичности, информативности, а главное — неинвазивностью метода.

Развитие ядерной кардиологии — это будущее кардиологии в нашей стране.

В ОРД трудились и продолжают трудиться врачи: Вячеслав Иосифович Касперович, Михаил Романович Линдер, Олег Александрович Дрейчук, Анатолий Степанович Харченко, Валентина Михайловна Карманова, Людмила Михайловна Гладовская, Олег Евгеньевич Гляцевич, Владимир Иванович Терехов, Чеслав Георгиевич Девялтовский-Гинтовт, Ольга Петровна Семенюк; медицинские сестры: Любовь Васильевна Пехтерева, Анна Ивановна Борисевич, Галина Кузьминична Кривичкая, Зинаида Андреевна Лабкович, Екатерина Петровна Дукина, Галина Михайловна Кривенко, Таисия Константиновна Рак, Раиса Владимировна Киреева, Жанна Дмитриевна Малашкевич, Галина Сергеевна Лойко, Лидия Николаевна Роечко, Валентина Евгеньевна Губчик, Людмила Ивановна Бузель, Алина Станиславовна Юркевич, Ирина Николаевна Брокеренко, Лариса Анатольевна Дроздова, Галина Францевна Губич, Данута Эдмунтовна Забельская, Лариса Владимировна Мазур.

Чистоту и уют в ОРД обеспечивают младшие медицинские работники: Любовь Александровна Радзевич, Екатерина Николаевна Скороходова, Мария Ивановна Дворецкая, Людмила Ивановна Дубовик, Нина Михайловна Филонова.

Техническую часть работы и дозиметрический контроль осуществляют инженеры Валерий Федорович Ефременко, Нина Георгиевна Ленючева, Евгений Павлович Вирицкий, Алла Ефимовна Бацеко, Фаина Николаевна Поляк.

Сотрудников ОРД отличают высокий профессионализм и эрудиция, богатый опыт и любовь к своей работе. Взаимопомощь, взаимоуважение в сочетании со здоровым моральным климатом и вышеперечисленными качествами позволяют коллективу отделения радионуклидной диагностики вносить достойный вклад в лечебно-диагностический процесс не только Минска, но и республики в целом.

Перечень статей, опубликованных в 2010 году

Проблемные статьи

Голубев С. А. Совершенствование стратегии и тактики применения антикоагулянтов в учреждениях системы здравоохранения	3	7
Чецевик А. Б. Идеология белорусского государства	3	4

Клиническая медицина

Абаев Ю. К. Хирургическая инфекция костей и суставов у детей: новые аспекты старой проблемы	2	7
Абаев Ю. К., Швед И. А., Клецкий С. К. Клиническая оценка морфологических изменений при подостром и первично-хроническом остеомиелите у детей	8	9
Антонович Ж. В., Царев В. П., Гончарова Н. В. Естественные регуляторные Т-клетки и цитокины у больных с разными уровнями контроля бронхиальной астмы	1	4
Будюхина О. А., Барановская Е. И., Левданский О. Д., Даниленко Н. Г. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз у пациенток с хронической фетоплацентарной недостаточностью	6	12
Германенко И. Г., Томашева Т. Л., Лисицкая Т. И., Казачкова Л. П., Клюйко Н. Л., Мазаник О. А. Пневмококковая инфекция у детей	1	11
Дудук С. Л. Клинико-нейровизуализационная характеристика сосудистой деменции	9	16
Калимолдаева С. Б., Нурадилова Д. М. Инфекции, передаваемые половым путем, как основной этиопатогенетический фактор воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин	3	14
Кирсанова Н. П., Алейникова О. В., Шнейдер М. М., Масчан А. А. Результаты лечения пациентов с острым миелоидным лейкозом по протоколу ОМЛ-ММ-2000 в двух клиниках	2	18
Крестелева И. М., Куличковская И. В., Недзьведь М. К. Особенности течения раннего неонатального периода адаптации новорожденных при инфицировании последов вирусом простого герпеса	5	4
Кузьмич Е. А., Змачинский В. А., Миланович Н. Ф., Новоселова Н. А. Влияние гемопозитических ростовых факторов на токсичность режимов высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток	11	5
Кульпанович А. И., Наумчик И. В. Клинические проявления мукополисахаридоза VI типа у пациентов разного возраста	6	4
Кундер Е. В. Дезоксирибонуклеазная активность иммуноглобулинов при спондилоартропатиях	8	4
Литвяков А. М., Пальгужева А. Ю. Связь атеросклероза аорты и периферических артерий с ревматоидным артритом	4	4
Максимович Н. А. Роль факторов риска атеросклероза в изменении функциональной активности эндотелия сосудов у детей и подростков с вегетативными расстройствами	12	4
Манак Н. А., Барбук О. А. Взаимосвязь показателей дислипидемии и воспалительных маркеров атеросклероза у женщин со стабильной стенокардией	2	14
Матиевская Н. В., Прокопчик Н. И., Цыркунов В. М., Тищенко В. Н. Патоморфологические особенности туберкулеза у ВИЧ-инфицированных пациентов	9	4
Папко С. Б. Хронический гастрит у детей дошкольного и младшего школьного возраста	3	18
Папко С. Б., Сивцов И. А. Язва луковицы двенадцатиперстной кишки у детей и подростков	5	13
Почепень О. Н. Гормональная регуляция метаболического ответа на тяжелую термическую травму	11	9
Почепень О. Н., Pisarchik A. N. Диагностическое и прогностическое значение вариабельности гликемического профиля у больных с тяжелой термической травмой	9	21
Почепень О. Н., Шиманский И. Е., Золотухина Л. В. Коррекция метаболических нарушений у пациентов с обширными ожогами	12	8
Пырочкин А. В. Функциональное состояние сосудов у больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда и различным фолатным статусом	2	12
Раевнева Т. Г., Ключарева А. А., Голобородько Н. В., Раевнев А. Е., Очеретний М. Д., Комир В. В. Возможность оценки тяжести состояния у детей с инфекционной патологией	5	7
Руденя Н. Д. Гормональный статус, липиды сыворотки крови и иммунологические показатели у женщин репродуктивного возраста с бронхиальной астмой и избыточной массой тела	5	10
Руденя Н. Д. Состояние репродуктивного здоровья и особенности конституции женщин, страдающих бронхиальной астмой	6	8
Савостьяник С. А. Корректирующее влияние экстракорпоральной магнитной обработки крови на уремический синдром у больных с хронической болезнью почек, находящихся на гемодиализе	7	4
Сорока Н. Ф., Сивицкая Л. Н., Чиж А. К., Даниленко Н. Г. Генетические маркеры развития вторичного амилоидоза почек при ревматоидном артрите	7	8
Сорока Н. Ф., Чиж А. К. Хламидийная инфекция как фактор риска развития амилоидоза почек при ревматоидном артрите	9	26
Шепелькевич А. П. Содержание витамина D у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа	9	8
Шотт А. В., Казушиц В. Л., Василевич А. П., Протасевич А. И., Фарнин Р. В. Особенности микроциркуляции у больных острым аппендицитом	2	4

Оригинальные исследования

Борзяк И. Э., Усович А. К. Возможность замены спирта силиконом при приготовлении анатомических препаратов	3	22
Манина Е. Ю., Улащик В. С., Куклова Е. Н. Скорость роста асцитной карциномы эрлиха у мышей под действием поляризованного света	7	14
Пивченко П. Г., Трушель Н. А. Вариантная анатомия сосудов виллизиева круга	5	22
Походенко-Чудакова И. О., Жерносек Н. А., Авдеева Е. А. Динамика клинико-функциональных и иммунологических показателей при использовании рефлексотерапии в лечении травматического неврита нижнеальвеолярного нерва в экспериментальных условиях	3	29
Прудников Г. А. Изменение показателей ЭКГ у крыс при болевом воздействии	5	18
Симановский А. И. Влияние нарушений оттока водянистой влаги на величины суточных колебаний внутриглазного давления	3	25

Организация здравоохранения, гигиена и эпидемиология

Бекоев В. Д. Возможности оказания медицинской помощи населению в очагах локальных военных конфликтов	6	20
Бондаренко О. В. Гигиеническая оценка содержания стронция-90 в основных продуктах питания населения Минской области	5	25

Вириная А. С., Гудков В. Г., Дорогова С. В. Изучение эффективности отечественной тест-системы для лабораторной диагностики ротавирусной инфекции.....	11	24
Взлком Мэнизибэя Осайн, Разводковский Ю. Е., Переверзев В. А. Употребление алкоголя студентами Минска.....	2	24
Газиумарова Л. Д., Паньшина Е. Ф., Пыж А. Э., Шнып И. В., Титов Л. П. Новая диагностическая тест-система для идентификации кампилобактерий.....	12	34
Гасич Е. Л., Еремин В. Ф., Сосинович С. В., Пинчук М. Г. Молекулярно-генетические особенности вируса гепатита С в Республике Беларусь.....	12	27
Гинюк В. А., Русинович В. М., Рычагов Г. П., Метельская Е. В., Родич А. В. Анализ заболеваемости острым парапроктитом.....	1	19
Гудков В. Г., Вириная А. С., Плотникова К. Ю., Бискина Н. М., Новацкая Ю. В., Малявко Д. В., Ключарева А. А., Карлук Г. В., Ключко Н. Л. Ротавирусная инфекция в Республике Беларусь: характеристика эпидемического процесса, оценка бремени заболевания и структура G-P-популяции возбудителя.....	11	28
Гусаков А. Ю., Пилипенко В. Д., Четин А. В., Шуб Г. Г. Дефекты ведения медицинской документации в организациях здравоохранения Республики Беларусь.....	5	33
Еремин В. Ф., Гасич Е. Л., Сосинович С. В., Амбарцумян Е. Г., Суетнов О. Н., Карпов И. А. Характеристика эпидемического процесса по ВИЧ/СПИДу в Беларуси.....	12	23
Ермакова Т. С., Титов Л. П., Винничек Л. А., Дашукевич Л. И., Крамаренко Л. П. Этиология острых респираторных инфекций.....	12	39
Кадошкина Н. Г. Распространенность сердечно-сосудистых осложнений сахарного диабета 2-го типа по данным регионального регистра.....	7	28
Князева О. Р., Верещак Н. С., Семенов С. Ф. Зараженность иксодовых клещей возбудителем клещевого боррелиоза в Республике Беларусь за 2005—2009 гг.....	11	22
Матвейчик Т. В., Пецевич-Шчэнсна Г. Е., Романова А. П. Особенности организации помощи пожилым людям за рубежом.....	7	24
Матиевская Н. В., Цыркунов В. М., Еремин В. Ф., Красавцев Е. Л. HIV/HCV-коинфекция: закономерности эпидемического процесса в разных регионах Республики Беларусь.....	4	11
Мишаева Н. П., Протас И. И., Щерба В. В. Гранулоцитарный анаплазмоз человека в Республике Беларусь.....	11	19
Орлова С. В., Штыров А. А., Рудько Г. Ф., Бореко Е. И. Информативность различных методов лабораторной диагностики аденовирусной инфекции.....	12	47
Полещук Н. Н., Рубаник Л. В., Гаврусев А. А., Капитулец Н. Н., Костюк С. А. Ультраструктурные параметры метронидазолустойчивости <i>Trichomonas vaginalis</i> и трансформация простейших в различные морфоформы при длительном культивировании.....	5	29
Скрипова Л. В. Паразитологическая ситуация на объектах для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения.....	6	22
Титов Л. П. Менингококковая инфекция: современное состояние проблемы.....	12	15
Тихомирова Т. Ф., Саврасова Н. А., Борейко С. Б., Алесина Г. А. Проблемы преддипломной подготовки врачей по лучевой диагностике и лучевой терапии.....	1	23
Третьяк С. И., Ращинский С. М., Ращинская Н. Т., Авдевич Д. А. Эпидемиология и этиология хронического панкреатита.....	1	15
Федорович С. В., Бельская Е. В., Крупень Г. Н., Маркова А. Г., Суханова Л. М. Профессиональная заболеваемость медицинских работников.....	6	17
Филонов В. П., Щербинская И. П., Науменко Т. Е., Дудчик Н. В., Мараховская С. В., Кулеша З. В., Жевняк И. В. Гигиенические проблемы урбанизации.....	8	14
Ханенко О. Н., Римжа М. И., Левшина Н. Н. Видовой состав микроорганизмов, изолированных из ожоговых ран у детей.....	11	16
Часнойть Р. А., Копытов А. В. Организационные мероприятия по профилактике алкогольной зависимости.....	6	24
Шевчук В. Е., Реутская Л. А., Долголикова А. Н., Малашко Н. В. Современное состояние фармацевтического сектора в Республике Беларусь.....	7	18
Шейна Т. В., Ильина Е. Г., Зацепин И. О., Хмель Р. Д., Гутковская Д. О. Популяционный и клинико-генеалогический анализ редукционных пороков малоберцовой кости в Беларуси.....	8	18
Ширко Д. И., Дорошевич В. И., Игнатъев В. В. Использование показателей физиологических резервов организма для оценки статуса питания.....	8	21
Штыров А. А., Орлова С. В. Оптимизация проведения полимеразной цепной реакции для детекции аденовирусов.....	12	44
Юшко Е. И., Строцкий А. В., Пиневиц Д. Л., Званец Р. Г., Ермоленко А. М. Реструктуризация амбулаторной урологической службы в условиях города.....	2	28
Янковская Л. В., Кежун Е. Н., Караулько И. В., Богданович И. П., Кежун Л. В. Факторы риска развития остеопороза.....	9	32

Лекции и обзоры

Абаев Ю. К. Культура мышления врача.....	7	46
Абаев Ю. К. Хронический рецидивирующий многоочаговый остеомиелит в практике детского хирурга.....	6	32
Андреева О. Т., Трусович М. О., Титов Л. П. Патогенетическая роль антинейтрофильных цитоплазматических антител в развитии ANCA-ассоциированных заболеваний.....	12	56
Барановская Е. И., Воронечкий А. Н., Жаворонок С. В. Хориоамнионит.....	1	36
Беляева Л. М., Войтова Е. В., Микульчик Н. В. Роль и место антигистаминных препаратов 1-го и 2-го поколения в педиатрической практике.....	8	50
Борис А. М. Ведение пациентов после протезирования клапанов сердца.....	3	44
Борисенко Т. Д., Тарасюк И. В., Сагальчик Е. Р. Детекция и видовая идентификация нетуберкулезных микобактерий.....	4	30
Броновец И. Н. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.....	11	34
Вашкевич Г. В. Перспективы использования амниотической мембраны в хирургическом лечении глаукомы.....	7	56
Голоенко И. М., Даниленко Н. Г., Копытов А. В., Синявская М. Г. Генетические факторы предрасположенности к алкоголизму.....	8	25
Даниленко Н. Г., Давыденко О. Г. Митохондриальные болезни: клиническое разнообразие, особенности наследования и генетическое консультирование.....	7	32
Данилов И. П. Дисфибриногенемия.....	7	53
Данилов И. П. Значение групп крови в патогенезе тромбофилий.....	1	46
Дешко М. С., Снежицкий В. А. Некоторые биомаркеры дисфункции эндотелия и воспаления при фибрилляции предсердий.....	2	42
Жаврид Э. А., Антоненкова Н. Н., Смолякова Р. М., Баранов Е. В., Козловская С. П., Картузова И. А. Выявление опухолевых клеток в костном мозге и крови у операбельных больных раком молочной железы.....	12	52
Жигальцова О. А., Силивончик Н. Н., Сивицкая Л. Н., Даниленко Н. Г. $\alpha 1$ -Антитрипсин: функциональные особенности и генетический полиморфизм.....	3	35
Игумнов С. А., Осипчик С. И. Экономическая эффективность мероприятий в области охраны психического здоровья.....	9	39
Карпов И. А. Менингококковая инфекция.....	2	47
Кульпанович А. И., Наумчик И. В. Болезни накопления: мукополисахаридоз III типа.....	3	39
Максименя Г. Г., Мрочек Л. Н. Применение антибактериальных препаратов в акушерской практике.....	8	41
Манах Н. А., Пристром А. М., Гайшун Е. И. Взаимосвязь различных показателей эластичности артериальных сосудов.....	6	36

Михайлов А. Н., Лой А. В., Римашевский В. Б. Рентгенологическая диагностика гастроэзофагеальной рефлюксной болезни	8	30
Мохорт Т. В., Холодова Е. А., Галицкая С. С. Профилактика сахарного диабета 2-го типа: миф или реальность?	5	40
Осмоловский А. Н., Бабенкова Л. В., Веремьев И. В. Клиническая значимость и методы коррекции реперфузионных парасистолических желудочковых аритмий	8	34
Посредников В. В., Гринько Д. В., Никифорова Л. А. Физиотерапевтические методы в стоматологической практике	5	47
Раевнева Т. Г. Легочные сосудистые осложнения цирроза печени	2	37
Романова Ж. Г., Малец Е. Л. Папилломатоз гортани у взрослых	7	40
Свириновский А. И. Критерии диагностики и эффективности терапии хронического лимфоцитарного лейкоза	1	42
Сорока Н. Ф., Зыбалова Т. С. Этиология и патогенез миокардитов	5	37
Трисветова Е. Л. Диагностика и лечение скелетных аномалий, ассоциированных состояний и заболеваний при дисплазии соединительной ткани	12	63
Трисветова Е. Л. Проплап митрального клапана и малые аномалии сердца	4	25
Улащик В. С. Микрополяризация мозга: экспериментально-клиническое обоснование использования	4	19
Улащик В. С. Современные методы и аппараты аэрозольной терапии	2	32
Улащик В. С. Ударно-волновая терапия: новые направления использования	6	28
Улащик В. С. Ученые НАН Беларуси — медицине	11	40
Улащик В. С., Морозова И. Л., Золотухина Е. И. Противоболевая физиотерапия в свете современных представлений о боли	1	26
Улезко Е. А., Гнедько Т. В., Талабаев М. В., Каленчик С. И., Корень А. П., Витушко А. Н. Перивентрикулярные кровоизлияния у недоношенных новорожденных: диагностика и лечение	9	36

Дискуссии

Абаев Ю. К. Лечить болезнь или больного?	5	50
Левин М. Д., Мендельсон Г., Троян В. В., Коршун З. Роль сфинктеров двенадцатиперстной кишки в патогенезе синдрома верхней брыжеечной артерии	8	55
Лобанова М. В. Этиопатогенетическое лечение сахарного диабета 2-го типа	5	55
Шотт А. В., Василевич А. П., Протасевич А. И., Казущик В. Л. Совершенствование метода эдемометрии	7	62
Шотт А. В., Казущик В. Л., Василевич А. П., Протасевич А. И., Фарнин Р. В. Синдромы нарушения микроциркуляции	6	39

Обмен опытом

Авер Ж. К., Лискович В. А., Мандрик К. А. Перекисное окисление белков плазмы крови при позднем гестозе беременных как симптом эндогенной интоксикации	2	56
Альевич Е. Л., Воробьев А. Н., Воробьева И. В., Шляхтин С. В., Михайлова Е. И., Трухачева Т. В. Изучение биоэквивалентности капсул трописетрона	2	59
Байрамов Н. Ю., Гадирова А. С. Эндовидеохирургия в диагностике и лечении сочетанной гинекологической и абдоминальной патологии	1	54
Белецкий А. В., Герасименко М. А., Скакун П. Г., Третьяк С. И. Тотальное эндопротезирование коленного сустава у молодых пациентов	2	54
Борисевич С. Н., Вергун О. М. Острые отравления клофелином и возможности их лабораторной диагностики	2	51
Гадирова А. С. Симультанные с холецистэктомией лапароскопические операции	12	67
Дудчик Н. В., Щербинская И. П., Трейлиб В. В., Янецкая С. А., Будкина Е. А., Шедикова О. Е. Оценка цитотоксического действия солей свинца с использованием ферментных тест-систем	11	45
Жаврид Э. А., Ермаков Н. Б., Журавкин И. Н., Чалов В. Н. Применение фторафура в лечении больных метастатическим колоректальным раком	11	49
Залуцкий И. В., Махнач Л. М., Жуковец А. Г., Шишковская О. А. Особенности внутренней картины болезни у некоторых групп онкологических пациентов	3	54
Круглик О. А. Эффективность лечения повышенного стирания зубов	5	61
Леонченко С. В., Фабер М. И., Муравьев С. Ю. Лечение паховых и бедренных грыж	6	47
Лукьянов А. М., Хвойницкая С. В., Артамонова О. В. Эффективность местной терапии угревой болезни эритромициноцинковым комплексом	9	43
Марченко Л. Н., Рожко Ю. И. Анатомо-топографические изменения диска зрительного нерва при глаукоме	7	71
Мельников С. И. Изменения состава конденсата выдыхаемого воздуха у курильщиков	1	52
Осмоловский А. Н., Бабенкова Л. В., Веремьев И. В. Лечение реперфузионной парасистолической желудочковой бигеминии у больных острым инфарктом миокарда	6	51
Панкратов В. Г., Панкратов О. В., Савкина О. В. Роль наружной терапии в комплексном лечении больных с вульгарными и розовыми угрями	7	66
Папко С. Б., Сивцов И. А. Лимфангиоэктазы слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки у детей и подростков	1	48
Пашкевич Л. А., Григорьев Д. Г., Беззубик С. Д., Моххамади М. Т., Лазовик Д. Ю. Патоморфология нотохордальных опухолей	3	51
Полонецкий О. Л., Терехов В. И., Манак Н. А., Полонецкий Л. З. Верификация импедансной технологии оценки дисфункции эндотелия сосудов с использованием миокардиальной перфузионной скинтиграфии	6	43
Пономарев В. В., Михневич И. И. Эффективность локальной терапии артоксаном при миофасциальном болевом синдроме	9	49
Румянцева С. А., Кравчук А. А., Рыжова Д. Д. Терапия когнитивных расстройств у больных хронической ишемией головного мозга	4	34
Свириновский А. И., Сергиенко Т. Ф., Смирнова Л. А., Колбаско Л. В., Тарас И. Б., Бакун А. В. Лекарственная чувствительность лейкозных клеток <i>ex vivo</i> и прогнозирование ответа пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом на терапию	3	57
Устинович Ю. А., Свирская О. Я. Влияние сверххранной сурфактантной терапии на выживаемость недоношенных новорожденных	8	60
Юшко Е. И., Жуковская С. В., Игнатъева Т. В., Линник А. И. Оценка результатов тестикулярной биопсии и криоконсервации биоптата в программе лечения мужского бесплодия	8	63
Ягур В. Е. Значение генетической детерминации ревматоидного артрита для белорусской популяции	5	66

В помощь практическому врачу

Вашкевич Г. В., Имшенецкая Т. А., Ситник Г. В. Особенности оптической когерентной томографии фильтрационных подушечек при различных типах операций по поводу глаукомы с высоким риском рубцевания	1	58
Гирса В. Н., Немцов Л. М., Конорев М. Р. Клинико-эхографическая диагностика билиарного сладжа	11	55
Григорьев Д. Г., Лайко П. А., Никулин Д. Д., Кветинская Е. Ю., Черствый Е. Д., Талабаев М. В. Срочная патоморфологическая диагностика опухолей центральной нервной системы методом раздавленных препаратов	2	62
Кульпанович А. И., Кулак В. Д., Зубова Т. В., Наумчик И. В. Подходы к ранней клинической диагностике мукополисахаридоза III типа в Беларуси	9	60

Лискович В. В., Наумов И. А., Ганчар Е. П., Дембовская С. В. Эффективность препарата «Лацидофил-WM» для профилактики дисбиоза влагалища и антибиотикоассоциированной диареи у родильниц после операции кесарева сечения.....	1	63
Люговская А. В., Юдина Н. А. Клинико-лабораторные параметры хронического и агрессивного течения болезней пародонта ..	9	54
Лях О. М. Система унифицированного дистанционного консультирования в эндоскопии	6	56
Меркулова Е. П., Терехова Т. В. Вентиляционная функция слуховой трубы у лиц с различной формой ее глоточного отверстия	11	60
Мицура В. М., Сквиря И. М. Алгоритм диагностики алкогольной зависимости у пациентов с хроническими заболеваниями печени	9	65
Пицко Д. В., Наумов А. В., Дорошенко Е. М., Пырочкин В. М., Шейбак В. М. Ранняя диагностика нарушений метаболизма серосодержащих аминокислот у больных подагрой	2	64
Смирнов В. М. Ампициллин/сульбактам в лечении инфекций, вызванных полирезистентным штаммом <i>Acinetobacter baumannii</i>	12	69
Смычек В. Б., Северин Г. С., Шишко А. М., Гладкая Т. П., Козлова Н. И. Клинико-функциональный диагноз — основа медико-социальной экспертизы пациентов с неврологической патологией	6	64
Сорока Н. Ф. Милдронат сегодня: ренессанс препарата или укрепление позиций в клинической практике	4	50
Суконко О. Г., Ролевич А. И., Красный С. А., Демешко П. Д. Дифференциальная диагностика объемных образований почки	4	38
Юрченко С. А., Никитина Е. В., Сергеенко Н. И. Премедикация диазепамом и атропином при операциях у больных с преобладанием пара- или симпатикотонии	6	59
Ясинская Л. И., Астапов А. А., Голобородько Н. В. Клинико-лабораторная диагностика энтеровирусных энцефалитов	7	77

Случаи из практики

Усович А. К., Тесфайе В. А., Коротин А. А. Редкий вариант расположения левой желудочной артерии	2	68
---	---	----

Срочные публикации

Барабанов Л. Г., Музыченко А. П. Эффективность и безопасность терапии акне и розацеа изотретиноином	4	64
Бойко А. В., Пономарев В. В. Опыт применения энкората в лечении тремора	6	68
Ковш Е. В., Булгак А. Г., Жизневская Э. Э., Шибeko Н. А., Кашицкая М. Э., Рабцевич В. А. Тиотриазолин в комплексной терапии пациентов с острым коронарным синдромом	3	65
Лендина И. Ю., Кириленко С. И., Доманцевич В. А., Искров И. А. Эффективность химической синовэктомии у пациентов с гемофилией	4	60
Лукьянов А. М., Яромич В. И. Перспективы применения авелокса в терапии урогенитального хламидиоза	11	63
Мацкевич С. А., Соловей С. П., Барбук О. А., Карпова И. С. Эффективность применения тиотриазолина в комплексной терапии пациентов пожилого возраста со стенозирующим поражением коронарных артерий	5	69
Меркулова Е. П. Значение отоскопии в педиатрической практике	3	68
Пашковская И. Д., Нечипуренко Н. И., Василевская Л. А. Эффекты инфракрасного лазерного излучения при экспериментальной церебральной ишемии	2	74
Романов Г. Н. Вторичный остеопороз у мужчин с заболеваниями эндокринной системы	3	61
Русаленко М. Г., Шаршакова Т. М., Мохорт Т. В. Социально-психологические и медицинские компоненты качества жизни взрослых с сахарным диабетом 1-го типа	4	68
Снежичкий В. А., Вдовиченко В. П., Казакевич Д. В., Дешко М. С., Петренко Т. М., Витковская М. П., Коршак Т. А., Гончарук В. В. Анализ выбора антигипертензивных препаратов врачами амбулаторной практики	2	70
Солнцева А. В., Сукало А. В., Ткаченко А. К., Бараш О. Б., Князькина О. Б., Дашкевич Е. И., Капуста Е. В. Неонатальный сахарный диабет	3	70
Терехов В. С. Лечение первичных опухолей головного мозга	5	73
Тябук Т. Д., Буглова А. Е. Роль интерлейкина-6 в развитии ревматоидного артрита: новые возможности антицитокиновой терапии	4	55
Ханенко О. Н. Причины ожоговой травмы у детей	2	78

Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

Амвросьева Т. В., Богуш З. Ф., Казинец О. Н., Поклонская Н. В., Безручко А. А., Дедюля К. Л., Гринкевич П. И. Вирусное загрязнение эпидемически значимых водных объектов	10	22
Богданова Н. Л., Петкевич А. С., Рустамова Л. М., Сабынин В. М., Семенов С. Ф., Шутова А. Г., Владыко А. С. Протективные свойства аллотропных препаратов природного генеза и растительных субстанций при геморрагической лихорадке Ласса <i>in vivo</i>	10	70
Бореко Е. И., Павлова Н. И. Устойчивость вирусов гриппа к ингибиторам M2 белка и нейраминидазы	10	18
Гасич Е. Л., Еремин В. Ф., Пинчук М. Г., Сосинович С. В. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита В, выявляемого в Беларуси	10	74
Горбунов В. А., Титов Л. П., Ермакова Т. С. Использование антибиотиков основных классов в учреждениях здравоохранения Республики Беларусь в 2007—2009 гг.	10	13
Гудков В. Г., Плотникова К. Ю., Зуева В. Л. Характеристика эпидемического процесса вирусного гепатита А в Беларуси	10	36
Еремин В. Ф., Гасич Е. Л., Сосинович С. В., Лапицкая Г. В., Суетнов О. Н., Еремин С. В., Ильенкова В. С., Карпов И. А. Мутации резистентности ВИЧ у детей, получавших высокоактивную антиретровирусную терапию	10	56
Колодкина В. Л., Денисевич Т. Н., Страх П. Г., Трухан О. В. Выявление <i>Bordetella pertussis</i> и <i>Bordetella parapertussis</i> в мазках из носоглотки методом ПЦР	10	66
Орлова С. В., Чапенко С. В., Муровска М., Щерба В. В., Рогачева Т. А., Штыров А. А., Хмара М. Е., Дракина С. А., Орлова О. В. Распространенность β -герпесвирусов в группах больных с различной патологией и их возможная роль в развитии синдрома хронической усталости	10	78
Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Безручко А. А., Игнатъев Г. М., Гринкевич П. И., Кишкурно Е. П., Ключко Н. Л., Зайцева Л. В., Ходин Д. В. Генетическое разнообразие норовирусов, вызвавших заболеваемость острыми кишечными инфекциями в Минске в 2009—2010 гг.	10	30
Самойлович Е. О., Ермолович М. А., Колодкина В. Л. Роль вакцинопрофилактики в контроле и ликвидации инфекционных заболеваний	10	5
Семижон П. А., Фомина Е. Г., Счесленок Е. П., Школина Т. В., Поклонская Н. В., Дедюля К. Л., Барковский Е. В., Владыко А. С. Особенности экспрессии и природа гетерологичного рекомбинантного нуклеокапсидного полипептида вируса гепатита С	10	43
Счесленок Е. П., Фомина Е. Г., Григорович И. И., Школина Т. В., Семижон П. А., Семенов С. Ф., Владыко А. С. Характеристика рекомбинантного антигензначимого NP-белка вируса Ласса	10	26
Счесленок Е. П., Школина Т. В., Клавсуть Г. А., Лешкевич А. Л., Чайка А. В., Винокурова Н. В., Красько А. Г., Фидаров Ф. М., Артеменкова Е. М., Владыко А. С. Спорадические случаи заболевания геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Могилевской области	10	49

Титов Л. П., Гончаров А. Е., Путьрский Л. А., Кошелев С. В., Кошелева М. И., Путьрский Ю. Л. Иммунофенотип и функциональные свойства моноцитарных дендритных клеток больных раком молочной железы	10	52
Шмелева Н. П., Грибкова Н. В. Влияние арпетола на репродукцию пандемического вируса гриппа А (H1N1) и сезонных вирусов гриппа А и В в культуре клеток MDCK	10	46
Янович О. О., Носова Е. С., Титов Л. П., Дорожко М. В., Короткая Г. И., Трус Н. И. Анализ генотипов острого патогенности <i>H. pylori</i> и их связь с течением хронических заболеваний желудка	10	62

История медицины

Абаев Ю. К. Доктор Чеховъ (к 150-летию со дня рождения)	1	67
Абаев Ю. К. Естественно-научный материализм Н. И. Пирогова	11	70
Абаев Ю. К. Жизнь, отданная хирургии (к 200-летию со дня рождения Н. И. Пирогова)	8	67
Абаев Ю. К. История болезни Н. И. Пирогова	9	70
Змачинская Н. Ф., Марченко Л. Н. Тамара Ивановна Крючок — врач, ученый, патриот	6	76
Князев Ю. Н., Белогуров В. В. Становление хирургической помощи в Бобруйском уезде Минской губернии	4	77
Кульпанович О. А. Вклад врачей Беларуси в развитие системы последипломного образования России, СССР и Западной Европы (к 80-летию БелМАПО)	9	75
Кульпанович О. А. Последипломная подготовка врачей Беларуси	1	77
Матвейчик Т. В., Пецевич-Шчэнсна Г. Е., Романова А. П. Влияние развития медицинской помощи населению на становление сестринского дела	6	72
Памяти Людмилы Григорьевны Борткевич (1940—2006)	7	80
Пристром А. М., Руцкая Т. А. Страницы белорусской кардиологии	4	72
Тищенко Е. М. Медицинское образование и наука Беларуси в годы Великой Отечественной войны	5	78

Юбилей

Василий Иванович Аверин (к 60-летию со дня рождения)	11	79
Владимир Александрович Катко (к 70-летию со дня рождения)	9	79
Георгий Игнатьевич Герасимович (к 80-летию со дня рождения)	3	74
Елена Алексеевна Холодова (к 80-летию со дня рождения)	11	78
Ларионов А. И., Красный С. А., Петрова С. А. Республиканскому научно-практическому центру онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова — 50 лет	8	76
Сороко В. Н., Змачинская Н. Ф. 70 лет Республиканской научной медицинской библиотеке	3	75
Терехов В. И. 40 лет отделению радионуклидной диагностики 4-й Городской клинической больницы им. Н. Е. Савченко	12	74
Троянов А. А., Терехов В. И., Чернов В. А. Основные итоги работы и перспективы развития 4-й Городской клинической больницы им. Н. Е. Савченко	12	73

Некролог

Памяти Анатолия Сергеевича Леонтьюка	11	80
Памяти Евгения Павловича Демидчика	6	80

©“Здравоохранение”, 2010
Свидетельство о государственной регистрации № 562 от 20.07.2009 г.

Подписные индексы:
для организаций — 749122,
для индивидуальных подписчиков — 74912

Дизайн обложки: Сергей Саркисов
Компьютерная верстка: Наталья Гелжец

Подписано в печать с оригинал-макета 25.11.2010.
Формат 60x84 1/8. Офсетная печать.
Физ. печ. л. 10,0+1,0 печ. л. вкл. Усл. печ. л. 9,3.
Уч.-изд. л. 12,8. Тираж 2127 экз. Зак. 3079

Адрес редакции: 220007, Минск, Фабрициуса, 28
Телефоны: 226-21-66, 226-21-48
E-mail: zdrav@tut.by
zdravmag@mailgov.by

Республиканское унитарное предприятие
“Издательство “Белорусский Дом печати”
ЛП №02330/0494179 от 03.04.2009.
Пр. Независимости, 79, 220013, Минск.

Редакция не несет ответственности за содержание
рекламных объявлений. При использовании материалов
журнала ссылка на “Здравоохранение” обязательна.