



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ИЗДАЕТСЯ С СЕНТЯБРЯ 1924 г.

ОРГАН МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

№12/2011



Лауреат
V Национального
конкурса
«Золотая литера»

Журнал входит в Перечень научных изданий
Республики Беларусь для опубликования
результатов диссертационных исследований

Редакционная коллегия:

АРНАУТОВ О. В.
АХТЕМИЙЧУК Ю. Т. (Украина)
БАРКОВСКИЙ Е. В.
БЕЛЕЦКИЙ А. В.
БЮХЛЕР М. В. (Германия)
ВЕКСНЕР С. (США)
ВОЛОТОВСКИЙ И. Д.
ВОРОБЕЙ А. В.
ГЕРАСИМОВИЧ Г. И.
ДЕДОВ И. И. (Россия)
ЖАРКО В. И.
ЗАТЕВАХИН И. И. (Россия)
КАРПОВ И. А.
КЕВРА М. К.
КОВАЛЕНКО В. Н. (Украина)
КУБАРКО А. И.
МАЛИНОВСКИЙ Н. Н. (Россия)

МАНАҚ Н. А.
МИХАЙЛОВ М. И. (Россия)
НАСОНОВ Е. Л. (Россия)
ПОКРОВСКИЙ В. И. (Россия)
ПОТАПНЕВ М. П.
СМЫЧЕК В. Б.
СОРОКА Н. Ф.
СУКАЛО А. В.
СУКОНКО О. Г.
СУСЛИНА З. А. (Россия)
ТЕРНОВ В. И.
ТИТОВ Л. П.
ХОЛОДОВА Е. А.
ЧЕРСТВЫЙ Е. Д.
ЧУЧАЛИН А. Г. (Россия)
ШОТТ А. В.

Главный редактор
Ю. К. АБАЕВ

Зам. гл. редактора
В. С. УЛАЩИК
Отв. секретарь
Л. А. ФЕДОТОВА

Редакционный совет:

ВАСИЛЬКОВ Н. А.
ДЕЙКАЛО В. П.
ДЕМИДЧИК Ю. Е.
ДЕРКАЧ Ю. Н.
ЛИПНИЦКИЙ И. Э.
ЛОСИЦКИЙ И. Г.
ЛЫЗИКОВ А. Н.

ПИНЕВИЧ Д. Л.
СИКОРСКИЙ А. В.
СИРЕНКО В. И.
СНЕЖИЦКИЙ В. А.
СТРИЖАК А. А.
ЧАСНОЙТЬ Р. А.
ШРУБОВ В. И.



Дорогие коллеги!

Медиков всегда объединяло стремление помочь больному, профессионализм и преданность своему делу. Эти идеи мы стараемся утверждать на страницах нашего журнала. Редколлегия и коллектив редакции видят свой долг в том, чтобы отыскивать, поддерживать, пропагандировать все новое, передовое, активизировать ваши контакты с коллегами, облегчить обмен опытом, чтобы вы не чувствовали себя наедине со своими проблемами.

Подводя итоги 2011 г., мы выбрали наиболее активных авторов журнала «Здравоохранение». Это С. Л. Воскресенский, С. Э. Глазкова, В. И. Дубров, А. Ф. Лемешев, Л. Ф. Можейко, А. В. Солнцева, Н. Ф. Сорока, Л. П. Титов, В. С. Улащик, А. П. Шелелькевич. Надеемся, 2012 г. подарит новые имена. Хотел бы отметить аккуратность и обстоятельность наших рецензентов: профессоров А. В. Воробья, Ю. Е. Демидчика, В. Ф. Жерносека, О. Г. Суконко.

В журнале опубликовано 184 статьи: медицинские университеты и БелМАПО — 56,5% (БГМУ — 28,8%); РНПЦ — 25,5%; ЛПУ — 6,3%; НАН РБ — 2,7%; статьи из-за рубежа (Россия, Украина, Узбекистан, Латвия) — 3,7%; БОКК — 1,6%; МЗ РБ — 1,1%; ВАК РБ

— 0,5%; ВОЗ — 0,5%; другие — 1,6%. Появились новые рубрики: «Школа молодого ученого», «Дискуссии за круглым столом», «Портрет современника», «Юрист отвечает», «В свободный час». В редакции состоялись дискуссии ведущих специалистов нашей республики на темы: «Сахарный диабет», «Остеопороз», «Внутрибольничные инфекции», «Внебольничные инфекции», «Инфекции, передаваемые половым путем». Модернизируется сайт журнала (www.zdrav.by), где вы сможете ознакомиться с ранее опубликованными материалами, задать интересующие вас вопросы, а мы постараемся на них ответить и учесть все ваши пожелания.

Некоторые авторы сетуют на длительность срока публикаций в журнале. Обусловлено это тем, что в 2011 г. возросло количество поступивших статей. Но это не единственная причина. В «Здравоохранении» всегда осуществлялось строгое рецензирование, требующее, как известно, времени. К сожалению, не все понимают что это, прежде всего, служит улучшению качества публикаций.

Со второго полугодия 2011 г. журнал «Здравоохранение» распространяется в России, Украине, Молдове и Литве, таким образом, у нас появилось больше возможностей пропагандировать достижения отечественной медицины за рубежом. Состав редколлегии пополнился известными учеными-медиками из России, Украины, Германии и США. Ждем от них статьи в следующем году.

Надеемся, что в 2012 г. станут более тесными контакты с ВАК Беларуси. Продолжим публиковать статьи методологического характера для будущих ученых, лекции для врачей и материалы дискуссий по актуальным проблемам медицины. Вас ожидают встречи с выдающимися отечественными учеными-медиками и организаторами здравоохранения, которые внесли значительный вклад в развитие медицины Беларуси. В плане — сотрудничество с российскими журналами. Мы будем стремиться объединять усилия всех, кто настроен на то, чтобы врачи республики могли получать современную научную информацию достойного уровня.

Благодарим наших читателей и авторов за преданность журналу. Надеемся на увеличение числа сторонников «Здравоохранения» и мечтаем о том времени, когда совместные усилия во благо здоровья нашего народа дадут более весомые результаты. Редколлегия и коллектив редакции полны творческих планов, которые мы вместе с вами обязательно реализуем в следующем году.

Завершается 2011 г. Скажем ему, уставшему от груза прожитых дней, слова благодарности. Он уйдет, унося наши заботы и печали, и мы с грустью скажем ему: «Прощай!» Распахнем же дверь навстречу 2012 г. с надеждой и оптимизмом, ведь «новый год — время, когда распутываются все узлы» (Низами). Желаем вам, дорогие друзья, крепкого здоровья, благополучия и профессиональных успехов! Журнал «Здравоохранение» всегда будет вашим надежным партнером.

Счастливого Рождества и Нового года!

С уважением

Ю. К. Абеев

Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

- Капитулец С. П., Ничипорук О. И., Капитулец Н. Н., Петкевич А. С., Фидаров Ф. М., Клавсут Г. А., Кононович С. И., Галенчик А. В.** Серологическая диагностика лептоспироза: операционные характеристики тестов 4
- Янович О. О., Носова Е. С., Титов Л. П., Дорошко М. В.** Оценка резистентности *Helicobacter pylori* к кларитромицину методом ПЦР у больных хеликобактериозом 9
- Орлова С. В., Бореко Е. И., Капитулец Н. Н.** Разработка и совершенствование методов иммунодиагностики аденовирусной инфекции 13
- Мишаева Н. П., Стегний В. А., Верещако Н. С.** Взаимодействие вирусов и боррелий в организме иксодовых клещей при микст-инфицировании 17
- Гудков В. Г., Чистенко Г. Н., Фисенко Е. Г., Ключарева А. А., Виринская А. С., Бискина Н. М., Плотникова К. Ю., Мальяк Д. В., Запольская В. В., Новацкая Ю. В.** Эпидемиологический надзор за ротавирусной инфекцией в Республике Беларусь 20
- Плотникова К. Ю., Гудков В. Г.** Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вируса гепатита А, циркулирующего на территории Беларуси 27
- Самойлович Е. О., Свирчевская Е. О., Елин О. Е., Згурская Л. И., Качкан М. В., Семейко Г. В., Ермолович М. А., Галенчик А. В., Мамаева Т. А.** Лабораторная диагностика и особенности клинической картины кори у привитых лиц 32
- Дашкевич А. М., Титов Л. П., Игнатъев Г. М., Франчук В. В.** Безопасность и эффективность вакцины «Флюваксин» при иммунизации военнослужащих 36
- Носова Е. С., Титов Л. П.** Энтерогеморрагические штаммы *Escherichia coli*: биологические свойства, эпидемиологическая характеристика, методы лабораторной диагностики 41
- Шиманович В. П., Самойлович Е. О.** Влияние иммунизации на заболеваемость эпидемическим паротитом ... 47

Клиническая медицина

- Рубаник Л. В., Поleshчук Н. Н., Сорока Н. Ф., Варонько И. А., Дейкун Д. А., Асташонок А. Н., Костюк С. А., Полуян О. С.** Фено- и генотипическая устойчивость *Chlamydia trachomatis* к антибиотикам у пациентов с хламидиоиндуцированными артропатиями... 51

Обмен опытом

- Беляева Л. М., Король С. М., Микulich Н. В., Нестерук О. Н.** Применение препарата «Тенотен» в педиатрии 56

В помощь практическому врачу

- Дивакова Т. С., Мицкевич Е. А., Фомина М. П.** Ультразвуковое исследование в диагностике пролапса гениталий и недержания мочи у женщин 60
- Можейко Л. Ф., Новикова Е. В.** Профилактика послеабортных осложнений 64
- Скрипова Л. В.** Сорбционный метод обнаружения возбудителей кишечных паразитарных болезней 66

Срочные публикации

- Хвостова И. И., Старцев А. И., Гемза Т. Ф.** Правосознание в психиатрии 68
- Ходос О. А., Гидранович Л. Г., Сачек М. М.** Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на протеолиз в ткани головного мозга крыс после хронической интоксикации этанолом 72
- Кулеш С. Д., Лихачев С. А., Астапенко А. В., Савицкий С. Э., Лурье Т. В., Шумскас М. С., Минзар И. А., Станишевский А. Л., Марченко С. В., Свиридович С. Я., Петрович И. А., Копыцкая Н. С., Белявский Н. Н., Редут В. В.** Системный тромболитис при ишемическом инсульте 77

Problems of Epidemiology, Microbiology and Infectious Diseases

- Kapitulets S. P., Nichiporuk O. I., Kapitulets N. N., Petkevich A. S., Fidarov F. M., Klavsut G. A., Kononovich S. I., Galenchik A. V.** Serological diagnosis of leptospirosis: operational characteristics of tests
- Yanovich O. O., Vosova E. S., Titov L. P., Doroshko M. V.** Assessment of *Helicobacter pylori* resistance to Clarithromycin in patients with helicobacteriosis by PCR method
- Orlova S. V., Boreko E. I., Kapitulets N. N.** Development and improvement of techniques for adenoviral infection immune diagnosis
- Mishayeva N. P., Stegny V. A., Vereshchako N. S.** Interaction between viruses and Borrelia in Ixodes ricinus in case of mixed infecting
- Gudkov V. G., Tchistenko G. N., Fisenko E. G., Klyucharyova A. A., Virinskaya A. S., Biskina N. M., Plotnikova K. Yu., Malyavko D. B., Zapolskaya V. V., Novatskaya Yu. V.** Epidemiological survey of rotavirus infection in the Republic of Belarus
- Plotnikova K. Yu., Gudkov V. G.** Molecular-and-epidemiologic features of hepatitis virus A circulating on Belarus territory
- Samoilovich E. O., Svirchevskaya E. O., Yelin O. E., Zgurskaya L. I., Kachkan M. V., Semeiko G. V., Yermolovich M. A., Galenchik A. V., Mamayeva T. A.** Specific clinical features and laboratory diagnosis of measles in vaccinated persons
- Dashkevich A. M., Titov L. P., Ignatyev G. M., Franchuk V. V.** Vaccine Fluvaxin efficiency and safety in military men immunization
- Nosova E. S., Titov L. P.** Escherichia coli enterohemorrhagic strains: biological features, epidemiological characteristic, methods for laboratory diagnosis

- Shimanovich V. P., Samoilovich E. O.** Immunization effect on epidemic parotitis occurrence

Clinical Medicine

- Rubanik L. V., Poleshchuk N. N., Soroka N. F., Varonko I. A., Deikun D. A., Astashonok A. N., Kostyuk S. A., Poluyan O. S.** Pheno- and genotypic resistance of *Chlamydia trachomatis* to antibiotics in patients with Chlamydia induced arthropathies

Sharing Experience

- Belyaeva L. M., Korol S. V., Mikulich N. V., Nesteruk O. N.** Experience of Tenoten administration in pediatrics

Help to Practitioner

- Divakova T. S., Mitskevich E. A., Fomina M. P.** Sonographic examination in diagnosis of female genitalia prolapsed and urinary incontinence
- Mozheiko L. F., Novikova E. V.** Prevention of post-abortion complications
- Skripova L. V.** Sorption method for detecting agents causing intestinal parasitic diseases

Urgent Publications

- Khvostova I. I., Startsev A. I., Gemza T. F.** Legal conscience in psychiatry
- Khodos O. A., Gidranovich L. G., Sachek M. M.** Effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate on rat's brain tissue proteolysis after chronic intoxication by ethanol
- Kulesh S. D., Likhachev S. A., Astapenko A. V., Savitsky S. E., Luriye T. V., Shumskas M. S., Minzar I. A., Stanishevsky A. L., Marchenko S. V., Sviridovich S. Ya., Petrovich I. A., Kopytskaya N. S., Belyavsky N. N., Reduto V. V.** Systemic thrombolysis under ischemic stroke



С. П. КАПИТУЛЕЦ, О. И. НИЧИПОРУК,
Н. Н. КАПИТУЛЕЦ, А. С. ПЕТКЕВИЧ, Ф. М. ФИДАРОВ,
Г. А. КЛАВСУТЬ, С. И. КОНОНОВИЧ, А. В. ГАЛЕНЧИК

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕПТОСПИРОЗА: ОПЕРАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТОВ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Сравнительная оценка диагностической эффективности стандартных серологических тестов при лабораторной диагностике лептоспироза: реакции микроагглютинации (РМА), непрямой реакции иммунофлюоресценции (НРИФ), иммуноферментного анализа (ИФА).

Материал и методы. Исследовали 38 сывороток крови больных лептоспирозом с лабораторно подтвержденным диагнозом, 135 сывороток с диагнозами нелептоспирозной этиологии и 40 сывороток здоровых доноров. Сыворотки тестировали с использованием отечественных диагностикумов «Лепт-АгАт», «Лепто-ФлюоСкрин», «Лепто-ИФА-IgG». Работу с диагностикумами проводили в соответствии с инструкциями по применению.

Результаты. Серологические тесты играют ключевую роль при изучении гуморального ответа при лептоспирозе. Впервые представлена количественная оценка основных операционных характеристик РМА, НРИФ и ИФА при верификации диагноза лептоспирозной инфекции, в том числе острой (спирохетической) и иммуногенной фазы болезни: чувствительность, специфичность, точность, процент ложноположительных и ложноотрицательных результатов, прогностическая ценность и отношение правдоподобия результатов. Обсуждаются диагностические возможности тестов.

Заключение. Установлено, что эффективность лабораторной диагностики лептоспироза определяется патогенезом заболевания, сроками отбора клинического материала и операционными характеристиками применяемых серологических тестов.

Ключевые слова: лептоспироз, реакция микроагглютинации, непрямая реакция иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ, операционные характеристики.

Лептоспироз относится к числу глобальных природно-очаговых инфекций, для которых не характерна приуроченность к узко определенной природной зоне [1, 2], и представляет важную социально-экономическую проблему для здравоохранения во всем мире [3]. В Европе лептоспироз вызывает спорадическую заболеваемость и отдельные вспышки с уровнем летальности от 3 до 60% [3, 4]. В России за последнее время показатель заболеваемости варьирует от 0,45 до 1,7 на 100 тыс. населения. В Украине ежегодно лептоспирозом болеет от 0,54 до 2,8 на 100 тыс. населения [4]. В Республике Беларусь показатель заболеваемости за последние 5 лет не превышает 0,1—0,2 на 100 тыс. населения [5].

Тем не менее в республике существует опасность заражения лептоспирозом вследствие распространения на ее территории многочисленных природных очагов инфекции [5, 6]. К факторам риска инфицирова-

ния относятся род занятий, прямой контакт с дикими и домашними животными или косвенный — через объекты окружающей среды (почва, вода и др.), контаминированные мочой мышевидных грызунов-лептоспироносителей, посещение рекреационных зон, охота, рыбалка, а также отдых в эндемичных по лептоспирозу странах.

Инфекция начинается после инкубационного периода (2—20 дней) с развитием двухфазного заболевания, в котором различают острую спирохетическую (7 дней) и иммуногенную фазы. В течение последней отмечается продукция IgM, а позднее — IgG (рисунок).

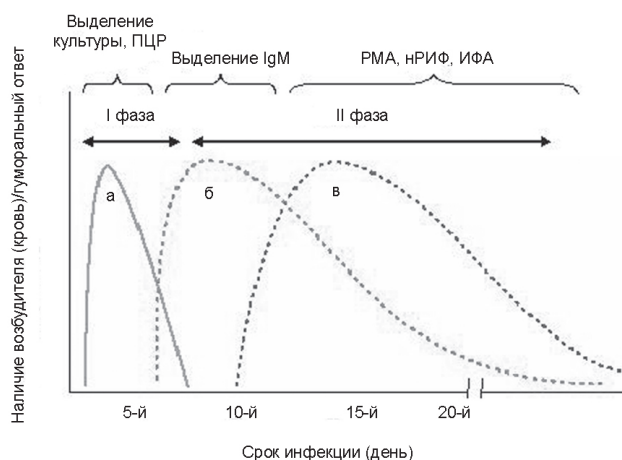


Схема развития гуморального ответа при лептоспирозе:
а — наличие возбудителя (кровь);
б — антилептоспирозные антитела класса М (IgM);
в — антилептоспирозные антитела класса G (IgG)

Начальные клинические симптомы лептоспироза варьируют от неспецифических гриппоподобных до острых лихорадочных состояний. Типичными симптомами спирохетической фазы являются головные боли, миалгии, озноб, лихорадка, артралгии, тошнота, рвота и желтуха. Реже отмечается гепатоспленомегалия и лимфаденопатия. Наиболее серьезные осложнения возникают в иммунную фазу болезни: острая почечная и печеночная недостаточность, асептический менингит и острый геморрагический синдром легких [1, 7].

Учитывая неспецифичность симптомов и убиквитарный характер инфекции, дифференциальная диагностика лептоспироза сложна, особенно в острой фазе: необходимо проводить дифференциацию диагноза из большого количества нозологических форм со схожей симптоматикой, включая грипп, вирусные гепатиты (чаще гепатит А), малярию, брюшной тиф и паратиф, туляремию, бруцеллез, геморрагические лихорадки (ГЛПС, Денге, ку-лихорадка), герпетические инфекции (цитомегаловирус, вирус Эпштейна—Барр), сепсис и др. [1, 2].

Лабораторная диагностика лептоспироза строго зависит от сроков начала инфекции и определяется в острый период (I фаза) выделением из клинического материала живой культуры возбудителя (и/или индикации его генома), а в дальнейшем (II фаза) при раз-

витии гуморального ответа — подтверждением диагноза серологическими тестами: реакция микроагглютинации (РМА) — золотой стандарт, непрямая реакция иммунофлюоресценции (ИРИФ) и иммуноферментный анализ (ИФА).

Целью настоящей работы явилась сравнительная оценка диагностической эффективности стандартных серологических тестов (РМА, ИРИФ, ИФА), используемых при лабораторной диагностике лептоспироза.

Материал и методы

Исследованы 38 сывороток крови больных лептоспирозом с лабораторно и клинически подтвержденным диагнозом, полученные в 2005—2010 гг. из Республиканского научно-практического центра гигиены и Минского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья. Референс-тестом на лептоспироз служила РМА с 7 серогруппами живых культур диагностических штаммов лептоспир, диагностический титр не ниже 1:100 [6]. Положительные на лептоспироз сыворотки разделили на 3 группы. Первую группу составили сыворотки, полученные в острую фазу инфекции — на 1—7-й день от начала болезни (n=9); вторую — сыворотки, взятые через 8—14 дней после начала болезни (n=11). Третья группа включала сыворотки больных, полученные спустя 15 и более дней от появления первых симптомов заболевания (n=18). Парные сыворотки для исследования были получены от 10 пациентов с интервалом 8—15 дней. В качестве отрицательных использовали сыворотки крови больных с диагнозами острой респираторной вирусной инфекции (19), гепатита А (13), гепатита В (10), герпетической инфекции (24), клещевого боррелиоза (12), сифилиса (15), хламидиоза (27), иерсиниоза (15), а также 40 сывороток здоровых доноров. Всего исследовано 213 образцов сывороток крови. До тестирования их хранили при -20°C.

Для исследования сывороток применяли следующие диагностические наборы производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии: набор реагентов для выявления патогенных лептоспир и антител к ним в реакции микроагглютинации на стекле «Лепт-АгАт», ТУ РБ 100558032.099-2005 изм. «1» (рег. уд. № ИМ-7.6549/1105); тест-система иммунофлюоресцентная для выявления суммарных антител к возбудителю

лептоспироза в сыворотке крови человека «Лепто-ФлюоСкрин», ТУ РБ 100558032.100-2005 изм. «1» (рег. уд. № ИМ-7.6548); и тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к возбудителю лептоспироза *Leptospira interrogans* в сыворотке и плазме крови человека «Лепто-ИФА-IgG», ТУ РБ 100558032.169-2010 (рег. уд. № ИМ-7.97183). Работу с диагностикумами проводили в соответствии с инструкциями по применению.

Статистическую обработку результатов осуществляли путем расчета основных операционных характеристик тестов: чувствительность (sensitivity), $Se=a/(a+c) \times 100$; специфичность (specificity), $Sp=d/(b+d) \times 100$; точность (accuracy), $Ac=a+d/(a+b+c+d) \times 100$; процент ложноположительных результатов (false positive), $FP=b/(b+d) \times 100$; процент ложноотрицательных результатов (false negative), $FN=c/(a+c) \times 100$; положительная прогностическая ценность (positive predictive value), $PPV=a/(a+b) \times 100$ и отрицательная прогностическая ценность (negative predictive value), $NPV=d/(c+d) \times 100$; отношение правдоподобия (likelihood ratio) положительного результата, $+LR=Se/(1-Sp)$ и отрицательного результата, $-LR=(1-Se)/Sp$, где a — количество истинноположительных сывороток, b — количество ложноположительных сывороток, c — количество ложноотрицательных сывороток и d — количество истинноотрицательных сывороток.

Результаты и обсуждение

Сравнение эффективности 3 серологических тестов диагностики лептоспироза представлено в табл. 1. Из чего следует, что наивысшая Se отмечена у ИФА, наиболее низкая выявлена у РМА. Аналогичная тенденция отмечена для Ac. Sp, напротив, была выше у РМА и несколько ниже у ИРИФ и ИФА.

Все тесты были положительными у 28 из 38 сывороток (73,7%). У ИФА отмечен наивысший FP, а у РМА — наименьший. Напротив, FN у РМА был выше, чем у ИРИФ и ИФА.

Установленные показатели прогностической ценности результатов, определяющие вероятность наличия/отсутствия заболевания, свидетельствуют о различной эффективности применяемых тестов при верификации диагноза у больного (см. табл. 1). Так, PPV превышал значимый уровень (90%) у всех тестов,

Таблица 1

Оценка эффективности отечественных диагностикумов для лабораторной диагностики лептоспироза

Операционная характеристика	«Лепт-АгАт»		«Лепто-ФлюоСкрин»		«Лепто-ИФА-IgG»	
	больные	доноры	больные	доноры	больные	доноры
Всего случаев, в том числе:	38	40	38	40	38	40
положительные	26	1	31	2	35	3
отрицательные	12	39	7	38	3	37
Se, %	76,0		84,4		92,7	
Sp, %	97,6		95,2		93,0	
Ac, %	85,7		89,7		92,9	
FP, %	2,4		4,8		7,0	
FN, %	24,0		15,6		7,3	
PPV, %	97,4		95,0		92,7	
NPV, %	76,9		85,1		93,0	
+LR	31,2		17,7		13,3	
-LR	0,2		0,2		0,1	

6 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

Таблица 2

Операционные характеристики серологических тестов при диагностике лептоспироза в зависимости от сроков инфекции

Операционная характеристика	РМА			нРИФ			ИФА		
	<1 нед	1—2 нед	>2 нед	<1 нед	1—2 нед	>2 нед	<1 нед	1—2 нед	>2 нед
Всего случаев, в том числе	9	11	18	9	11	18	9	11	18
положительные	2	7	17	5	9	17	6	9	17
отрицательные	7	4	1	4	2	1	3	2	1
Se, %	56,3	73,3	94,7	69,2	84,6	94,7	75,0	84,6	94,7
Sp, %	97,6			95,2			93,0		
Ac, %	86,0	91,1	96,7	89,1	92,7	95,1	89,1	91,1	93,5
FP, %	2,4			4,8			7,0		
FN, %	43,8	26,7	5,3	30,8	15,4	5,3	25,0	15,4	5,3
PPV, %	90,0	91,7	94,7	81,8	84,6	90,0	75,0	78,6	85,7
NPV, %	85,1	90,9	97,6	90,9	95,2	97,6	93,0	95,2	97,6
+LR	23,1	30,1	38,8	14,5	17,8	19,9	10,8	12,1	13,6
-LR	0,4	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1

тогда как значение NPV только в ИФА было значимым, а $NPV_{РМА}$ и $NPV_{нРИФ}$ — недостаточным, чтобы исключить наличие инфекции у исследуемого.

В то же время показатель +LR у РМА был выше в 1,8 и 2,3 раза, чем у нРИФ и ИФА соответственно.

В связи с полученными данными представлялось интересным выяснить, почему РМА при наивысшей специфичности проявляла в данном исследовании самую низкую чувствительность и точность? Для этого были проанализированы источник и сроки забора сывороток от больных лептоспирозом. Операционные характеристики серологических тестов при диагностике лептоспироза в клиническом материале, отобранном в различные сроки от начала заболевания, представлены в табл. 2.

Из данных табл. 2 следует, что Se и Ac анализируемых тестов существенно повышаются при исследовании сывороток, полученных через 2 нед от начала заболевания.

При тестировании повторных сывороток, полученных от больных через 8—14 дней после забора первых, отмечено увеличение количества положительных результатов и снижение ложноотрицательных. При этом диагностическая чувствительность всех тестов была удовлетворительной и составила для РМА 93,3%, нРИФ — 96,6% и ИФА — 100%.

Показатели прогностической ценности положительного/отрицательного результатов тестов в разные сроки болезни варьировали в пределах $\pm 15\%$, достигая максимальных значений в более поздние сроки. Вероятность наличия заболевания при положительном результате теста была наивысшей у РМА во все сроки инфекции, достигала значимых показателей у нРИФ во 2-ю неделю после развития симптомов болезни и была относительно невысокой у ИФА. Вероятность отсутствия лептоспироза при отрицательном результате теста была высокой у всех анализируемых серологических тестов (см. табл. 2).

Схожие тенденции отмечались при анализе показателей +LR. При этом вероятность положительного результата у больного при использовании РМА через 2 нед от начала заболевания была почти в 40 раз выше, чем у здорового. Те же показатели в аналогичные сроки болезни почти в 2—3 раза ниже при исследовании

положительных на лептоспироз сывороток другими тестами и составили при нРИФ 19,9, при ИФА — 13,6.

Для 135 образцов сывороток с другими диагнозами нелептоспирозной этиологии наивысший процент перекрестных реакций отмечен у ИФА — 23 (17,0%) случая. При РМА и нРИФ они выявлены в 10 (7,4%) и 14 (10,4%) случаях соответственно. Наиболее частоты с лептоспирозным антигеном реагировали сыворотки больных клещевым боррелиозом и сифилисом: при РМА — по 3 сыворотки (25% и 20% соответственно), нРИФ — 4 (33,3%) и 5 (33,3%) сывороток соответственно, ИФА — 6 (50%) и 7 (46,7%) сывороток соответственно (табл. 3).

Диагностические препараты «Лепт-АгАт», разработанный на основе РМА, и «Лепто-ФлюоСкрин», разработанный на основе нРИФ, внедрены в практическое здравоохранение для микробиологических (бактериологических) и серологических исследований сывороток крови больных с подозрением на лептоспироз, а также используются при эпидемиологическом мониторинге циркуляции возбудителя среди мышевидных грызунов в природных и антропоургических очагах инфекции (табл. 4). «Лепто-ИФА-IgG» в настоящее время зарегистрирован в Минздраве Республики Беларусь и находится на этапе внедрения.

Таблица 3

Эффективность серологических тестов при анализе сывороток крови нелептоспирозной этиологии

Нозологическая форма	Количество исследованных сывороток	Количество ложноположительных результатов		
		РМА	нРИФ	ИФА
ОРВИ	19	1	1	2
Гепатит А	13	2	2	3
Гепатит В	10	1	2	2
Герпетическая инфекция	24	0	0	1
Клещевой боррелиоз	12	3	4	6
Сифилис	15	3	5	7
Хламидиоз	27	0	0	1
Иерсиниоз	15	0	0	1
Всего...	135	10	14	23

Таблица 4

**Серозидемиологический мониторинг
лептоспироза на территории Минской области
за 2006—2010 гг. (по данным Минского облЦГЭиОЗ)**

Категория обследуемых	Год наблюдения				
	2006	2007	2008	2009	2010
Больные с диагнозами, не исключающими лептоспироз / из них положительных	31/0	26/1	45/0	24/0	28/0
Работники мясоперерабатывающих предприятий / из них положительных*	1135/92	1134/90	1305/82	1294/82	1292/52
Мышевидные грызуны / из них положительных	1139/27	1698/38	1478/30	1449/44	1427/48

*Первичный скрининг сывороток крови работников мясоперерабатывающей промышленности проводили в соответствии с требованием постановления Минздрава Республики Беларусь № 33 от 08.08.2000 «О порядке проведения обязательных медицинских осмотров».

Из данных табл. 4 следует, что используемые диагностикумы обеспечивают эффективный надзор за лептоспирозом путем проведения серозидемиологического обследования населения и выявление носителей лептоспир в популяции мелких мышевидных грызунов за счет обнаружения в исследуемом материале преимущественно суммарных антител (IgM+IgG) к возбудителю. Их применение в ранние сроки инфекции при остром лептоспирозе ограничено как патогенезом заболевания, так и диагностическими возможностями самих серологических тестов, лежащих в их основе.

Следует отметить, что течение лептоспироза с острой лихорадкой схоже с симптоматикой при других заболеваниях и отличается степенью тяжести: от легкой формы с благоприятным исходом до скоротечной с высокой летальностью [1, 2]. Вследствие мультиорганных поражений систем и органов, включая нарушение функций почек, печени, массивное легочное кровоизлияние, сердечную аритмию и сердечную недостаточность [1, 2, 7], существуют определенные трудности в диагностике данной инфекции [1, 2, 8].

Ведущую роль в лабораторной диагностике лептоспироза во всем мире играют серологические тесты: РМА, нРИФ, ИФА. Противолептоспирозные антитела в крови обнаруживают через 5—7 дней от начала заболевания, а иногда только через 10 дней (см. рисунок). Неспецифические антитела класса М (IgM) появляются раньше, чем антитела класса G (IgG), и часто остаются в низких титрах на протяжении многих месяцев и даже лет. Выработка специфических IgG растягивается во времени: иногда они могут быть вообще недетектируемыми или обнаруживаются в течение относительно короткого периода, но обычно их концентрация в крови постепенно возрастает в соответствии с фазами болезни до максимума, а затем снижается до низких титров, сохраняясь несколько лет [1, 2].

Проведенная оценка операционных характеристик серологических тестов для диагностики лептоспироза свидетельствует о том, что диагностическая эффективность каждого из них зависит от количественной репрезентативности выборки и сроков забора клинического материала. Чувствительность и специфичность тестов показывают, что примененный тест является положительным у людей с патологией и отрицательным у здоровых. В данном исследовании они напрямую зависели от принятых критериев оценки, основными из которых были сроки забора и анализа сывороток крови. Чувствительность тестов повышалась, если исследовали сыворотки, отобранные в более поздние сроки, когда иммунный ответ организма на проникновение возбудителя развивался достаточно эффективно, а концентрация специфических антител (IgM+IgG) в крови достигала оптимального для детекции уровня. При этом любое отклонение гуморального ответа фиксировалось и РМА, и нРИФ, и ИФА, однако это же приводило к росту ложноположительных результатов и снижению специфичности тестов у ИФА и нРИФ по сравнению с РМА. И наоборот, у высокоспецифичного теста с низким уровнем ложноположительных результатов (РМА) существует опасность упустить некоторые истинноположительные результаты (см. табл. 1 и 2).

Кроме чувствительности и специфичности одной из важных операционных характеристик диагностического теста является его прогностическая ценность, выражающая вероятность положительного/отрицательного результата (в значениях от 0 до 1 или в процентах от 0 до 100). При этом положительная прогностическая ценность представляет собой отношение истинноположительных результатов к сумме истинно- и ложноположительных, а отрицательная определяет отношение истинноотрицательных результатов к сумме истинно- и ложноотрицательных. Из этого следует, что прогностическая ценность определяет меру значимости положительного/отрицательного результата для постановки диагноза. Более высокая прогностическая ценность дает большую уверенность в том, что положительный результат теста действительно означает наличие заболевания, а отрицательный свидетельствует о его отсутствии. Эти параметры напрямую зависят от процента ложных результатов.

Анализ показывает, что чем чувствительнее тест, тем выше прогностическая ценность его отрицательного результата (то есть возрастает вероятность того, что отрицательные результаты теста отвергают наличие заболевания). В свою очередь, чем специфичнее тест, тем выше прогностическая ценность его положительного результата (то есть возрастает вероятность того, что положительные результаты теста подтверждают предполагаемый диагноз) (см. табл. 1). В данном исследовании NPV для диагностики лептоспироза у больных через 2 нед от начала болезни была практически одинаковой для всех используемых тестов (FN стремится к минимальному в прямой зависимости от увеличения сроков забора сыворо-

ток), хотя PPV уменьшалась с повышением FP, следствием чего явилось снижение их специфичности (см. табл. 2).

Эти рассуждения справедливы и при оценке отношения правдоподобия полученных результатов, определяющем во сколько раз выше (ниже) вероятность получения данного результата теста у больных, чем у здоровых. Вероятность того, что полученный результат диагностического теста будет ожидаться скорее у больного, чем у здорового, наиболее высока при РМА. Это определяется высокой специфичностью теста и низким FP при удовлетворительной чувствительности, особенно высокой при использовании его в поздние сроки инфекции. По этому показателю нРИФ и ИФА уступают РМА, хотя их абсолютные значения достаточно высоки, чтобы с уверенностью судить о достоверности полученных результатов: отношение правдоподобия положительного результата этих тестов при использовании в любой срок инфекции всегда было на порядок выше, чем вероятность получения положительного результата при тестировании сывороток доноров.

Таким образом, возможности отечественных диагностических препаратов («Лепт-АгАт», «Лепто-ФлюоСкрин» и «Лепто-ИФА-IgG») и их эффективность при диагностике лептоспироза напрямую определяются операционными характеристиками заложенных в них тестов (РМА, нРИФ и ИФА соответственно). В настоящее время они используются в основном для сероэпидемиологического мониторинга циркуляции в республике возбудителя лептоспироза в природных и антропоургических очагах инфекции. Данных по их использованию при диагностике острого лептоспироза пока недостаточно. Чрезвычайно актуальным направлением дальнейших исследований в Беларуси является разработка новых отечественных тест-систем для экспресс-диагностики острой (спирохетической) фазы инфекции, характеризующихся высокими диагностическими показателями при выявлении ранних IgM. В качестве альтернативного подхода лептоспирозные белки (антигены), идентифицированные тестом иммунного блоттинга при выявлении IgM и IgG, могут служить компонентами быстрого и точного диагностического теста для раннего обнаружения лептоспироза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Levett P. N. // *Clin. Microbiol. Rev.*— 2001.— Vol. 14.— P. 296—326.
2. Инструкция о клинике, диагностике, лечении и профилактике лептоспироза. Утв. приказом Минздрава Республики Беларусь № 200 от 21.03.2006.— Минск, 2006.
3. *Leptospirosis: an emerging public health problem* // *Wkly. Epidemiol. Rec.*— 2011.— № 6.— P. 45—52.
4. ProMED-mail web site // *International Society for Infectious Diseases* // <http://www.promedmail.org/pls/apex/>
5. О санитарно-эпидемической обстановке в Республике Беларусь в 2009 году: Государственный доклад.— Минск, 2010.
6. Капитулец С. П., Якуба А. И., Капитулец Н. Н. и др. // *Материалы междунар. конф.*— Минск, 2002.— С. 109—119.
7. Daher E. F., Abreu K. L. S., Silva Junior G. B. // *J. Bras. Nefrol.*— 2010.— Vol. 32, № 4.— P. 400—407.
8. Antoniadis A., Alexiou-Daniel S., Finadin L., Bautz E. F. K. // *Eur. J. Epidemiol.*— 1995.— Vol. 8.— P. 228—232.

SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF LEPTOSPIROSIS: OPERATIONAL CHARACTERISTICS OF TESTS

S. P. Kapitulets, O. I. Nichiporuk, N. N. Kapitulets, A. S. Petkevich, F. M. Fidarov, G. A. Klavusut, S. I. Kononovich, A. V. Galenchik

Objective. Comparative assessing of the standard serological tests diagnostic efficiency for the leptospirosis laboratory diagnosis such as reaction of microagglutination — RMA, indirect reaction of immunofluorescence — iRIF, immunofluorescence analysis — IFA.

Materials and methods. Thirty eight serum samples taken in patients with leptospirosis confirmed by the laboratory tests, 135 serum samples the diagnosis being of a non-leptospirosis etiology, and 40 serum samples taken in healthy donors were studied. The serum samples were tested applying home-produced diagnostic kits "Lepto-AgAt", "Lepto-FluoScreen", "Lepto-IFA-IgG". The tests were performed in compliance with instructions for appliance.

Results. Serological tests play a key role in studying humoral response under leptospirosis. The quantitative evaluation of the RMA, iRIF, and IFA basic operational characteristics in verification of the leptospiral infection diagnosis including the disease acute (spirochaete) and immunogenic phases — sensitivity, specificity, accuracy, percent of false positive and of false negative results, predictive value, and the results likelihood ratio — is presented for the first time. The tests diagnostic capabilities are being discussed.

Conclusion. It has been determined that the leptospirosis laboratory diagnosis efficiency depends on the disease pathogenesis, the clinical material sampling terms, and the serological tests used operational characteristics.

Key words: leptospirosis, reaction of microagglutination, indirect reaction of immunofluorescence, immunofluorescence analysis, operational characteristics.

Адрес для корреспонденции:

Капитулец Сергей Петрович.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 268-00-38.

О. О. ЯНОВИЧ, Е. С. НОСОВА, Л. П. ТИТОВ,
М. В. ДОРОШКО

ОЦЕНКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ *HELICOBACTER PYLORI* К КЛАРИТРОМИЦИНУ МЕТОДОМ ПЦР У БОЛЬНЫХ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗОМ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава
Республики Беларусь, Медицинский центр «Нордин»

Цель исследования. Провести оптимизацию метода молекулярно-генетического определения резистентности *Helicobacter pylori* к кларитромицину и определить частоту мутаций в гене rRNK микроба, связанных с резистентностью к препарату.

Материал и методы. Проведено обследование 151 больного с хеликобактериозом, обратившихся в диагностические центры Минска для эндоскопического исследования желудочно-кишечного тракта. У 109 пациентов был диагностирован хронический гастрит, у 33 — язва двенадцатиперстной кишки, у 9 больных — язва желудка. Определение *H. pylori* в биопсийном материале проводили методом ПЦР. Для определения резистентности *H. pylori* к кларитромицину использовали молекулярно-генетический FRET-метод.

Результаты. Установлено, что у больных хеликобактериозом частота встречаемости мутаций в гене 23S rRNK *H. pylori*, связанных с резистентностью к кларитромицину (A2142C, A2143G, A2142G), составляет 15,2%.

Заключение. Для повышения эффективности эрадикации бактерии *H. pylori* необходим дифференцированный подход к применению существующих стандартных схем антихеликобактерной терапии.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, резистентность к макролидам, FRET-метод.

Исследования последних лет свидетельствуют о высокой частоте колонизации слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки бактериями *Helicobacter pylori* (HP). Массивность колонизации данными бактериями и продукция ими факторов, инициирующих иммуновоспалительный, цито- и генотоксический эффект в отношении энтероцитов, ассоциируются с тяжестью течения возникающих на этой основе дегенеративно-воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта в форме гастритов, сопровождающихся болями в области желудка и абдоминальными болями, рефлюксом, регургитацией, отрыжкой, газообразованием в желудке и рвотой [1, 2]. При отсутствии эффективного лечения в течение длительного времени указанная симптоматика и локальные патологические изменения усиливаются, что может привести к развитию таких серьезных заболеваний, как гастроэзофагальный рефлюкс, пептическая язва желудка и двенадцатиперстной кишки, а также рак пищевода и желудка.

В связи с этим эрадикация HP антибактериальными средствами является важнейшим терапевтическим подходом, направленным на достижение полного подавления репродукции бактерий в слизистой оболочке желудка и обеспечения благоприятных условий заживления язв и других повреждений [3]. В 1996—1997 гг. были предложены единые стандарт-

ные схемы антихеликобактерной терапии (Европейский Маастрихтский консенсус). Схема включает использование 2—3 antimicrobных препаратов (кларитромицин, амоксициллин, тетрациклин или метронидазол) и антисекреторного (препараты висмута, блокатор Н+/К+-АТФазы) [4, 5].

Эффективность официально рекомендованных эмпирических схем лечения заболеваний органов пищеварения, ассоциированных с HP, составляет от 65 до 87%. Неэффективность применяемых схем антибактериальной терапии хеликобактериоза в большинстве случаев обусловлена сниженной чувствительностью или резистентностью микроба к назначаемым препаратам [6].

Резистентность HP к кларитромицину вызвана точечными мутациями в гене, кодирующем 23S rRNK, а именно в пептидилтрансферазной петле субъединицы rRNK [7]. Бактериальная рибосома содержит 2 субъединицы: малую — 30S, и большую — 50S (23S и 5S rRNK). В большой субъединице находится каталитический пептидилтрансферазный центр, рядом расположен туннель выхода полипептидной цепи синтезируемого белка. Функциональная активность пептидилтрансферазы (образование пептидной связи) реализуется посредством переноса карбоксильной группы пептидильного остатка на аминогруппу аминокислоты тРНК. В результате образуется новая пептидная связь, и пептидильный остаток становится на одну аминокислоту длиннее. Таким образом, осуществляется процесс биосинтеза белковых молекул прокариотами.

Макролиды представляют семейство больших макроциклических антибактериальных препаратов. Кларитромицин является полусинтетическим макролидом с 14-членным лактамным кольцом и сахарами — дезозамин и кладиноз (рис. 1).

Установлено, что макролиды через лактамное кольцо и дезозамин связываются с высокой аффинностью с доменом V пептидилтрансферазной петли (рис. 2) [8] и препятствуют переносу пептидил-тРНК

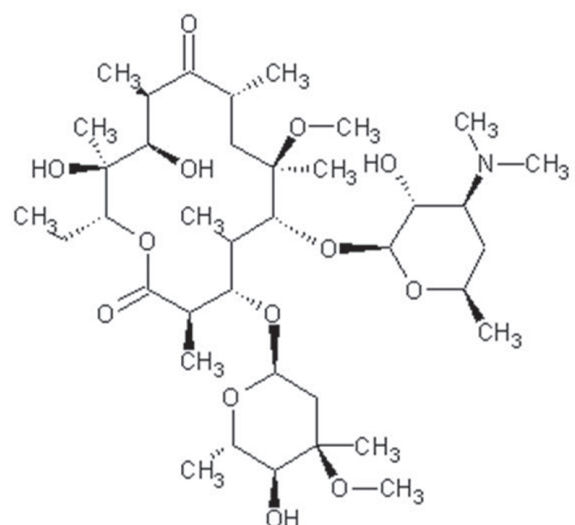


Рис. 1. Химическая структура молекулы кларитромицина

10 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

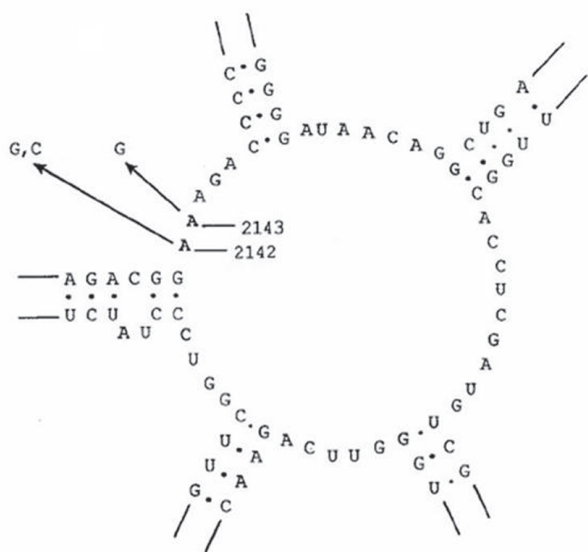


Рис. 2. Вторичная структура центральной части домена V гена 23S рРНК *HP* по модели J. Egebjerg и соавт. [11]. Указаны мутации, связанные с резистентностью к кларитромицину

из области А в область Р, прерывая процесс наращивания полипептидной цепи (рис. 3).

Таким образом, возникающие в результате воздействия противомикробных препаратов точечные мутации в данной части гена 23S оказывают влияние на силу связывания молекулы антибиотика бактериальной рибосомой [7]. Вследствие этого снижается аффинность связывания антибактериального препарата с рибосомами, что сопровождается снижением антибактериального эффекта препарата в отношении микроба, то есть происходит формирование резистентных вариантов хеликобактера [9]. Наиболее частые мутации в виде транзиций — замена А на Г в позиции 2142 (около 70%) и в позиции 2143 (11,7%) (см. рис. 2). Редко возникает трансверсия — замена А на С в позиции 2142 [10].

В настоящее время известно, что хромосома *HP* содержит 2 копии данного гена (рис. 4), однако большинство его штаммов по гену 23S рРНК являются гомозиготными, и при наличии мутации в одной копии гена она с очень большой частотой будет присутствовать во второй [12].

При этом гетерозиготность, то есть наличие одной копии гена с мутацией и другой без мутации, также приводит к возникновению резистентности [13].

Цель настоящего исследования — провести оптимизацию метода молекулярно-генетического определения устойчивости *HP* к кларитромицину и определить частоту мутаций в гене рРНК микроба, связанных с резистентностью к препарату.

Материал и методы

Проведено обследование 151 больного с хеликобактериозом (76 женщин и 75 мужчин; средний возраст — 44,1±1,6 года). Диагноз «Хронический гастрит» поставлен 109 пациентам, «Язва двенадцатиперстной кишки» — 33 и «Язва желудка» — 9. Все пациенты проходили обследование в диагностических центрах Минска.

Для эндоскопического исследования желудочно-кишечного тракта использовали биопсийный материал, взятый из антрального отдела желудка. Наличие бактерии *HP* определяли методом ПЦР.

Для определения резистентности *HP* к кларитромицину применяли метод флуоресцентного резонансного переноса энергии FRET (рис. 5). Он основан на использовании двух меченых зондов (олигонуклеотидов) в реакции ПЦР в режиме реального времени. Первый зонд помечается на 3'-конце, второй — на 5'-конце FRET акцептором (например Cy5). Первый олигонуклеотид гибридизируется с мишенью таким образом, что его 3'-конец отделен от 5'-конца второго олигонуклеотида не более чем на одну пару оснований. При наличии в фрагменте гена (ДНК-мишени) искомого участка олигонуклеотида гибридизируются

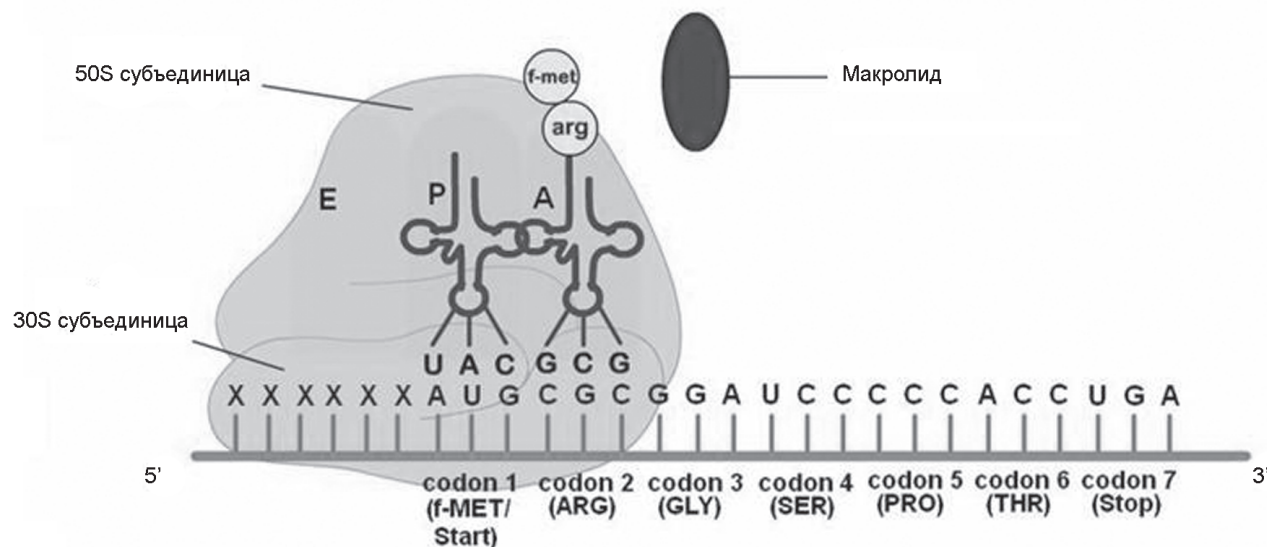


Рис. 3. Взаимодействие антибиотика с рибосомой в процессе трансляции

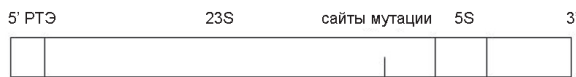


Рис. 4. Схема комплекса 23S-5S бактерии *H. pylori*: РТЭ — регуляторные транскрипционные элементы

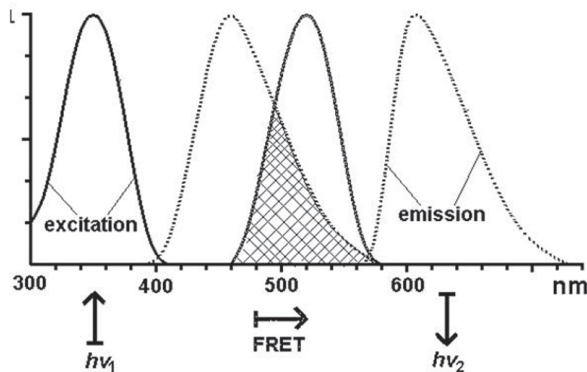


Рис. 5. Схема постановки метода определения резистентности *HP* к кларитромицину

с мишенью и происходит перенос энергии. Флуоресценция акцептора опосредуется гасителем, который испускает флуоресценцию большей длины волны, чем акцептор. Интенсивность ее пропорциональна количеству накапливаемого в реакции ПЦР-продукта. Выполнение FRET-метода возможно только в том случае, когда область длин волн флуоресцентной эмиссии донора энергии в значительной мере пересекается с областью длин волн возбуждения флуоресценции акцептора энергии (рис. 6). Эффективность данного метода зависит от расстояния между хромофорными группами донора и акцептора энергии.

Метод позволяет получить окончательный результат и узнать о наличии у пациента чувствительного или резистентного генотипа микроба в день забора биопсийного материала.

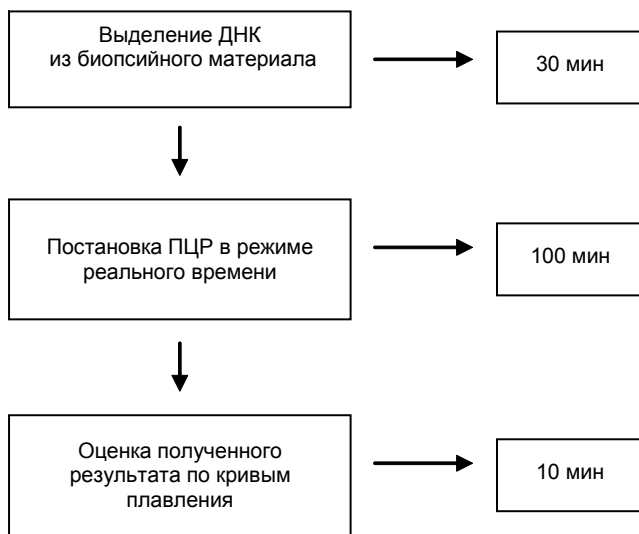


Рис. 6. Флуоресцентный резонансный перенос энергии между молекулами

В качестве праймеров использовали последовательность гена 23S рРНК *HP*: 5'-AGGTTAAGAGGATGCGTCAGTC-3' (прямой) и 5'-CGCATGATATCCCATAGCAGT-3' (обратный).

В качестве зондов использовали: сенсорный зонд 5'-меченный Cy5 (5'-GGCAAGACGGAAAGACC-3'; нуклеотиды с 2504 по 2520), который гибридизуется с регионом, содержащим мутацию, и якорный зонд, который присоединяется на 3 основания дальше (зонд 1) и помечен с 3'-конца флуоресцеином FAM (зонд 2 — 5'-TGTAGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCC-3'; нуклеотиды с 2473 по 2501).

Результаты и обсуждение

Использование FRET-метода позволяет выявить 3 наиболее часто встречающиеся мутации в гене 23S рРНК *HP*, связанные с чувствительностью к кларитромицину. Анализ кривых плавления позволяет идентифицировать 3 пика плавления ДНК при 64,5—65°C, 62,5—63°C и 55,5—56°C для дикого и мутантных типов A2142C и A2143G/A2142G соответственно. Наличие несинонимичной нуклеотидной замены в фрагменте гена микроба приводит к формированию другой последовательности ДНК, что выражается в снижении температуры плавления (рис. 7).

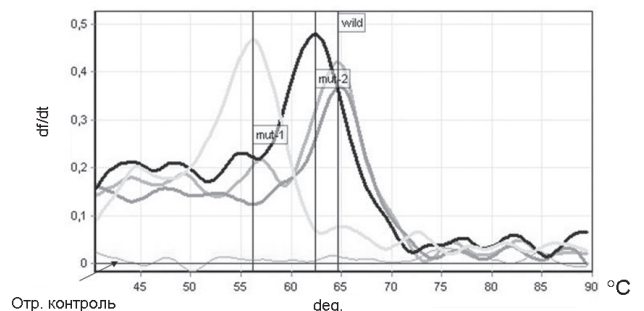


Рис. 7. Кривые плавления продуктов ПЦР для определения наличия мутаций в гене 23S рРНК *HP*

Оптимизированным авторами быстрым методом определения резистентности *HP* к кларитромицину исследован 151 образец, положительный на наличие *HP*. В 23 (15,2%) образцах, содержащих ДНК патогена, выявлены мутации в гене 23S рРНК *HP*, связанные с резистентностью к кларитромицину (A2142C, A2143G, A2142G). При этом 16 образцов с наличием устойчивого к кларитромицину хеликобактера были получены от больных с хроническим гастритом и 6 — от больных с язвой двенадцатиперстной кишки.

В последнее время появилось большое количество сообщений о выделении от пациентов с хеликобактериозом штаммов возбудителя, резистентных к кларитромицину и метронидазолу [14, 15]. Такие штаммы *HP* значительно труднее поддаются эрадикации, что снижает эффективность рекомендованных лечебных схем на 20—50% и делает их экономически затратными. Неудачи в проведении эрадикационной терапии приводят к возникновению вторичной резистентности, которая возникает более чем у половины штам-

мов [10]. Уровень первичной резистентности *HP* к макролидам (кларитромицину) в Европе составляет 2—20%, что связано с частым использованием препаратов этой группы для лечения больных с респираторными инфекциями [16—18].

Вторичная резистентность *HP* к используемым антибиотикам обусловлена неадекватным лечением: заниженными дозами препаратов, применением неполных схем лечения (с использованием 2 препаратов), несоблюдением сроков лечения и кратности приема или неправильной оценкой эффективности эрадикации [19]. Согласно данным европейского мультицентрового исследования большее распространение таких штаммов замечено у взрослого населения в южной части Европы (более 20%) по сравнению с северной (около 5%). Резистентность в большинстве случаев обусловлена проводимой предыдущей эрадикационной терапией [20].

В настоящем исследовании частота мутаций, связанных с устойчивостью к кларитромицину, составила 15,2%. По литературным данным, частота антибиотикорезистентных штаммов *HP* выше у больных с хроническим гастритом (16,7% — к кларитромицину, 56,4% — к метронидазолу), чем с язвенной болезнью (5,6% — к кларитромицину, 19,8% — к метронидазолу) [21]. В проведенном исследовании частота резистентности *HP* к кларитромицину составила 70% у больных с хроническим гастритом и 30% — с язвой двенадцатиперстной кишки.

Безусловно, для сохранения высокой клинической эффективности кларитромицина в составе схем эрадикационной терапии необходимо соблюдать принципы рационального назначения антибиотиков, в том числе макролидов. В частности, это касается необходимости использования достаточно высоких доз антибиотиков, позволяющих уменьшить время, в течение которого сохраняется субингибирующая концентрация, обеспечивающая селекцию устойчивых штаммов.

Определение резистентности *HP* является одним из основных способов мониторинга распространения фенотипа и генов резистентности, позволяет подобрать подходящее антибактериальное средство, прогнозировать течение болезни и эффективность терапии. Применение FRET-метода для диагностики устойчивости дает возможность быстро получить точный ответ о чувствительности/резистентности данного микроорганизма и в случае необходимости скорректировать протокол химиотерапии.

Таким образом, для повышения эффективности эрадикации бактерии *HP* необходим дифференцированный подход к применению существующих стандартных схем антихеликобактерной терапии. Состав препаратов, входящих в схемы, следует изменять с учетом данных о частоте выявления устойчивых штаммов бактерий в разных регионах и локальной резистентности *HP* к каждому из применяемых препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шкитин В. А., Шпирна А. И., Старовойтов Г. Н. // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*.— 2002.— Т. 4, № 2.— С. 128—145.
2. Конорев М. Р., Литвяков А. М., Титов Л. П. // *Мед. новости*.— 1998.— № 7.— С. 15—20.

3. Vautier G., Scott B. // *Aliment. Pharmacol. Ther.*— 1997.— Vol. 11, № 1.— P. 107—108.
4. *Current European concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht Consensus Report // Gut.*— 1997.— Vol. 41, № 1.— P. 8—13.
5. Lam S. K., Talley N. J. // *J. Gastroenterol. Hepatol.*— 1998.— Vol. 13.— P. 1—12.
6. Graham D. Y., Dore M. P. // *Basic Mechanisms to Clinical Cure: Abstr.*— San Diego, 1998.— P. 45.
7. Alarcon T., Domingo D., Prieto N., et al. // *J. Antimicrobiol. Chem.*— 2006.— Vol. 57.— P. 71—78.
8. Yonath A. // *Annu. Rev. Biochem.*— 2005.— Vol. 74.— P. 649—679.
9. Yilmaz O., Demiray E. // *World. J. Gastroenterol.*— 2007.— Vol. 13, № 5.— P. 671—675.
10. Mergraud F. // *Gut.*— 2004.— Vol. 53.— P. 1374—1384.
11. Egebjerg J., Larsen N., Garrett R. A. // *The Ribosome: Structure, Function, and Evolution / Ed. W. E. Hill, A. Dalberg, R. A. Garrett, et al.*— Washington, 1990.— P. 168—179.
12. Taylor D. E., Ge Z., Purych D., et al. // *Antimicrob. Agents. Chemother.*— 1997.— Vol. 41, № 12.— P. 2621—2628.
13. Bukanov N. O., Berg D. E. // *Mol. Microbiol.*— 1994.— № 11.— P. 509—523.
14. Megraud F. // *Macrolide Antibiotics / Ed. W. Schonfeld, H. A. Kirst.*— Berlin, 2002.— P. 243—260.
15. Янович О. О., Носова Е. С., Титов Л. П., Дорошко М. В. // *Сб. статей РНПЦ эпидемиологии и микробиологии*.— Минск, 2010.— С. 142—143.
16. Tankovic J., Chaumette-Planckaert M. T., Deforges L., et al. // *Gastroenterol. Clin. Biol.*— 2007.— Vol. 31, № 10.— P. 792—795.
17. Мишкина Т. В. *Диагностическая значимость метода полимеразной цепной реакции при генотипировании Helicobacter pylori у детей с хронической гастродуоденальной патологией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.*— СПб., 2007.
18. Medraud F., Cayla R., Lamouliatte H., Bouchard S. // *Am. J. Gastroenterol.*— 1994.— Vol. 89.— P. 1368.
19. Кудрявцева Л. В. // *Материалы 7-й сессии Рос. группы по изучению Helicobacter pylori.*— Н. Новгород, 1998.— С. 11—14.
20. Pajares J. M. et al. // *Rev. Esp. Enferm. Dig.*— 2007.— Vol. 99, № 2.— P. 63—70.
21. Van der Ende A., Rauws E. A., Feller M., et al. // *Gastroenterol.*— 1996.— Vol. 111.— P. 638—647.

Получена 18.07.11.

ASSESSMENT OF HELICOBACTER PYLORI RESISTANCE TO CLARITHROMYCIN IN PATIENTS WITH HELICOBACTERIOSIS BY PCR METHOD

O. O. Yanovich, E. S. Nosova, L. P. Titov, M. V. Doroshko

Objective. To optimize the method of molecular-genetic determination of *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin and to determine frequency of mutations in the microbe rRNA gene associated with resistance to the drug. **Materials and methods.** One hundred and fifty one patients with helicobacteriosis addressed to Minsk diagnostic centers for the gastrointestinal tract endoscopic examination were examined. Chronic gastritis was diagnosed in 109 patients, duodenal ulcers were found in 33 persons, gastric ulcers — in nine patients. *H. pylori* was detected in the biopsy material by the PCR method. For determining *H. pylori* resistance to clarithromycin the molecular-genetic FRET method was used.

Results. It was determined that mutations in *H. pylori* rRNA 23S gene associated with resistance clarithromycin (A2142C, A2143G, A2142G) occurred in 15.2% of patients with helicobacteriosis.

Conclusion. For increasing the efficiency of *H. pylori* eradication a differentiated approach to appliance of the available standard schemes of anti-helicobacter therapy is necessary.

Key words: *Helicobacter pylori*, resistance to macrolides, FRET method.

Адрес для корреспонденции:

Янович Ольга Олеговна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 267-80-64.

С. В. ОРЛОВА, Е. И. БОРЕКО, Н. Н. КАПИТУЛЕЦ

РАЗРАБОТКА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ИММУНОДИАГНОСТИКИ АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Создание усовершенствованных иммунофлюоресцентных и иммуноферментных тест-систем для диагностики аденовирусной инфекции.

Материал и методы. В работе использовали аденовирусы трех серотипов (1-й, 3-й, 5-й). Накопление вирусов проводили на культуре клеток Нер-2С. В качестве ростовых сред использовали питательные среды Игла: MEM и DMEM. Для метки выделенных иммуноглобулинов использовали хроматографически чистый флюоресцеинизотиоцианат (ФИТЦ) с содержанием основного вещества не ниже 85%. Нагрузку красителя на белок подбирали, исходя из спектра концентраций от 1,0 до 30 мкг/г.

Электрофорез белков в полиакриламидном геле проводили по методу U. K. Laemmli, иммуноблоттинг — по стандартной методике, описанной Н. Towbin.

Результаты. Разработаны иммунофлюоресцентные и иммуноферментные тест-системы для диагностики аденовирусной инфекции. Отработан режим получения меченых ФИТЦ иммуноглобулинов и оценена возможность их использования для детекции антигена аденовируса. Получен антиген и установлены оптимальные условия проведения реакции определения IgM и IgG в сыворотке крови больных с аденовирусной инфекцией. Для подтверждения специфичности детекции антител проведена сравнительная постановка ИФА с коммерческой тест-системой («DRG», Германия), а также определение антител IgG и IgM у людей с различной патологией и здоровых.

Ключевые слова: аденовирусная инфекция, методы иммунодиагностики, тест-система.

Аденовирусная инфекция распространена повсеместно, составляет 5—10% от всех вирусных болезней. Заболеваемость регистрируют в течение всего года с подъемом в холодное время. Наблюдают как спорадические случаи, так и эпидемические вспышки. Аденовирусы, патогенные для человека, представлены 28 серологическими типами. Наиболее распространены 3-й, 4-й, 7-й, 7а-, 14-й, 21-й типы, вызывающие острые респираторные заболевания. К «латентным» аденовирусам относятся 1-й, 2-й, 5-й, 6-й типы и часто могут быть обнаружены у здоровых людей. Эпидемические типы вирусов (особенно 14-й и 21-й) обуславливают вспышки заболеваний среди взрослых и детей, но регистрируют их редко. Генетическая стабильность, частота субклинических инфекций и персистенция антител помогают объяснить редкое возникновение вспышек [1, 2].

У перенесших заболевание формируется типоспецифический гуморальный иммунитет, связанный с синтезом антител классов M и G, в носовом секрете выявляются SIgA. Иммунитет у детей не длительный, повторные заболевания наблюдаются через 8—12 мес после перенесенной первичной инфекции. Аденовирусы антигенно стабильны (дли-

тельно сохраняются защитные антитела к соответствующему серотипу). Считается, что у взрослых после перенесенной аденовирусной инфекции антитела сохраняются в течение 1—8 лет в зависимости от серотипа и являются типоспецифичными. Иммунитет к каждому типу стойкий и длительный, но поскольку существуют более 28 серотипов аденовирусов, то и заболеть можно не один раз. Способствовать распространению заболевания могут лица, у которых инфекция протекает субклинически, иммунитет развивается также у инфицированных при отсутствии симптомов.

Диагностика аденовирусной инфекции должна осуществляться по двум основным направлениям: совершенствование иммунологических тестов детекции вирусных антигенов и детекция противовирусных антител. Для ранней дифференциальной диагностики ОРВИ необходимо создание простых, быстрых и недорогих тестов, к числу которых относятся усовершенствованные методы иммунофлюоресцентного (МФА) и иммуноферментного (ИФА) анализа. МФА широко применяется при массовых и скрининговых исследованиях [4, 5]. В настоящее время разработано много вариантов постановки ИФА. Твердофазный вариант (ТИФА) используют для определения антител или антигенов, имеющих стабильные распознаваемые детерминанты [2—7].

Целью настоящей работы явилось создание усовершенствованных иммунофлюоресцентных и иммуноферментных тест-систем для диагностики аденовирусной инфекции.

Материал и методы

В работе использовали аденовирусы трех серотипов (1-й, 3-й, 5-й). Накопление вирусов проводили на культуре клеток Нер-2С. В качестве ростовых сред использовали питательную среду Игла (MEM), модифицированную Дульбеко среду Игла (DMEM).

Для метки выделенных иммуноглобулинов использовали хроматографически чистый флюоресцеинизотиоцианат (ФИТЦ) с содержанием основного вещества не ниже 85%. Конъюгацию белка с ФИТЦ проводили при pH 8,9 и молярности карбонатного буфера 0,1 моль. Нагрузку красителя на белок (15—20 мкг/г) подбирали, исходя из спектра рекомендуемых концентраций от 1,0 до 30 мкг/г.

Электрофорез (ЭФ) белков в полиакриламидном геле проводили по методу U. K. Laemmli, иммунный блоттинг — по стандартной методике, описанной Н. Towbin [цит. по 8].

Результаты и обсуждение

Наиболее распространенным методом экспресс-диагностики ОРВИ, доступным для массового обследования населения в нашей стране, является МФА [4, 6].

Для метки антител ФИТЦ использовали иммуноглобулины, выделенные из иммуноасцитической жидкости (ИАЖ) белых мышей [5]. В силу своей химической гетерогенности иммуноглобулины присоединяют различное количество красителя, процесс

конъюгации зависит от их активности и концентрации, а также от времени, температуры, pH среды. Высоконагруженные ФИТЦ белки приобретают способность связываться не только с рецепторами молекулы глобулина, но и с другими компонентами, обуславливая неспецифическое свечение. При недостатке ФИТЦ часть белка остается неконъюгированной, интенсивность свечения уменьшается. Для получения специфических конъюгатов были подобраны оптимальные условия метки, включающие использование глобулинов с титром не ниже 1:512, концентрацию красителя 15—20 мкг/г, время инкубации 12—16 ч при постоянном перемешивании на холоде. Освобождение меченого белка от несвязавшегося красителя проводили с помощью гель-фильтрации на колонках с сефадексом G-50. Учитывая, что эффективность разделения зависит как от марки сорбента, так и от соотношения высоты колонки к ее диаметру, использовали колонки трех размеров (1:7, 1:15 и 1:20), обеспечивая одинаковую нагрузку белком (наносили до 10% высоты колонки) — 0,7; 1,5 и 2,0 мл 2,0—2,5% белка соответственно.

Анализ полученных результатов показал, что белок выходит из колонки первым пиком, ФИТЦ — вторым. Белок при гель-фильтрации, по данным литературы, разводится в 2 раза. При использовании колонки 1:7 полное разделение пиков не получено, поэтому концентрация белка стала выше, чем в исходном препарате. Вероятно, это обусловлено присутствием свободного красителя, поскольку известно, что ФИТЦ частично уменьшает пропускание света при 280 нм. Гель-фильтрация на колонке 1:15 позволила разделить конъюгат белок—ФИТЦ и несвязавшийся ФИТЦ, но пограничные 2—3 фракции еще содержали свободный краситель. Очистка меченого глобулина на колонке 1:20 позволила полностью разделить конъюгат глобулин—ФИТЦ и несвязавшийся ФИТЦ. В результате были получены конъюгаты к вирусам гриппа А (H3N2), А (H1N1), В, РС-, парагриппа и аденовирусам (рис. 1).

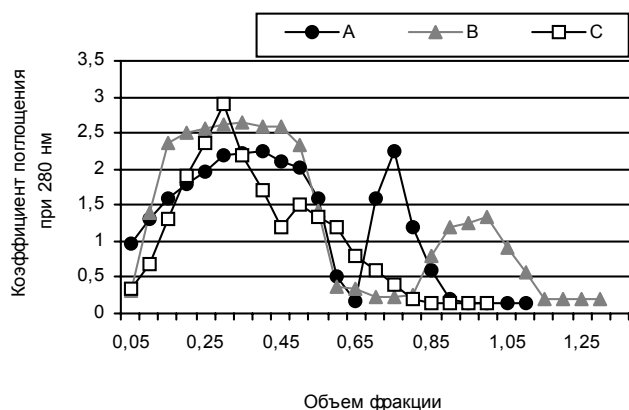


Рис. 1. Разделение конъюгата глобулин—ФИТЦ и несвязавшегося ФИТЦ на колонке с сефадексом G-50. Соотношение высоты колонки к ее диаметру: А — 1:15; В — 1:20; С — 1:7

Этап приготовления антигенсодержащих слайдов включал процедуру заражения клеток и их фиксацию, максимально позволяющих сохранить целостность клеток. Монослойные клетки Her-2C затем снимали для окрашивания в динамике на 2—5-е сутки. Зараженные клетки окрашивали мечеными ФИТЦ иммуноглобулинами с контрастированием родамином.

Специфическое свечение антигена аденовирусов выявлялось на клетках Her-2C, имеющих единый рецептор для вирусов Коксаки и аденовирусов. Процент диффузного свечения в данном случае увеличился к 4-м суткам (рис. 2).

Одним из основных направлений по совершенствованию диагностики ИФА является получение антигена для сенсibilизации твердой фазы, обеспечивающего наиболее высокую чувствительность, специфичность и необходимый уровень стандартизации тест-системы.

Антиген аденовируса получали и накапливали на линии клеток Her-2C в течение 4—5 пассажей. Вирусосодержащую суспензию обрабатывали на ультразвуковом дезинтеграторе «Virsonic» на холоде и осветляли центрифугированием при 3000 об./мин в течение 15 мин. Спектр белков исследовали методом иммуноблоттинга (рис. 3). После переноса электрофоретически разогнанных белков на нитроцеллюлозную мембрану в полоске обнаружены полипептиды, связавшиеся с антителами к аденовирусу (см. рис. 2). Детектированы следующие белки: VIII с молекулярной массой 13 кДа, ответственный за структурную устойчивость, и XI, II (12 кДа, 24 кДа), находящиеся в центральной части иксоэдра. Белок с молекулярной массой около 40 кДа, вероятно, представляет диссоциированный пептонный белок.

Детектированные специфические детерминанты вируса обеспечили связывание с гомологичными антителами, что позволило использовать полученный антиген для иммобилизации твердой фазы при постановке ТИФА.

Эффективность связывания антигена и антител зависит в первую очередь от их концентрации, спе-

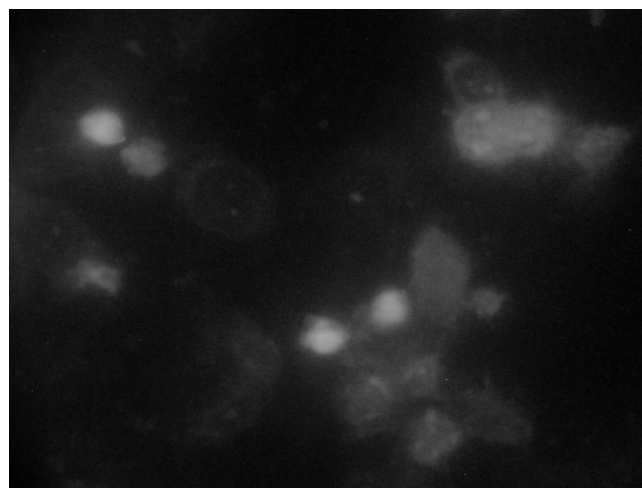


Рис. 2. Иммунофлуоресцентное выявление антигена аденовируса в клетках Her-2C

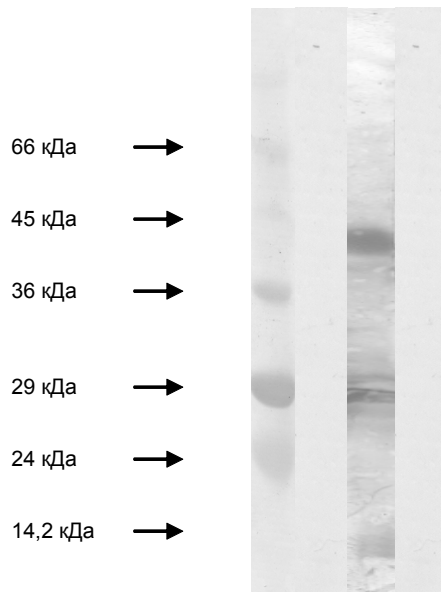


Рис. 3. Иммунофоререграмма аденовирусного антигена: слева — маркерные белки, справа — антиген

цифической активности и времени контакта. Для сенсibilизации испытывали разные концентрации антигена в разведениях 1:5, 1:10, 1:20 при уровне инфекционной активности 1,8 Ig. Для нейтрализации антигена в исследуемых пробах использовали ИАЖ белых мышей с содержанием нейтрализующих антител не ниже 1:256 в разведениях 1:5, 1:10, 1:20 (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что при сенсibilизации лунок планшета антигеном в больших концентрациях (разведение 1:2) происходит связывание антител при всех испытанных концентрациях, однако при разведении ИАЖ 1:5 чувствительность реакции меньше, вероятно, за счет присутствия большого количества белка. Оптимальным соотношением

антигена и антител является 1:10 и 1:20. Неспецифического связывания антигена с белками асцитической жидкости не зарегистрировано. В дальнейшей работе использовали разведения антигена 1:10, 1:20.

Специфическую активность разработанных антигена и иммуноглобулина оценивали в ТИФА в разных разведениях и сравнивали с коммерческими тест-системами («DRG», Германия).

Оценка полученных результатов показала, что связывание антигенов с иммуноглобулинами происходит при всех использованных концентрациях (табл. 2).

Исследование специфической активности разработанного антигена показало, что иммуноглобулин в разведениях 1:5 и 1:10 (ОП равна 0,53 и 0,56 соответственно) проявляет большую активность, чем положительный контроль из коммерческой тест-системы («DRG», Германия) — ОП равна 0,4. Иммуноглобулины реагируют с разработанными антигенами во всех испытываемых концентрациях, не выявлено отличий при сенсibilизации разными концентрациями антигена. Оптимальное связывание антител происходит при концентрации 1:10.

В лабораторной диагностике аденовирусной инфекции применяют два основных подхода: непосредственное исследование материала на наличие вирусного антигена или нуклеиновых кислот и серологическая диагностика, основанная на определении маркеров ранней и/или поздней инфекции и установлении значительного прироста вирусных антител в течение болезни.

Учитывая, что аденовирусы широко распространены, иммунитет, как правило, формируется практически у 90% населения уже к 5—7-летнему возрасту. Длительность постинфекционного иммунитета незначительна, но он периодически «подкрепляется» частыми контактами с этим возбудителем. Поэтому на фоне постоянного присутствия IgG возможно появле-

Таблица 1

Оптимальные соотношения концентраций антигена и антител

Разведения антигена	Разведение антитела						Контроль асцитической жидкости
	1:5		1:10		1:20		
	30 мин	60 мин	30 мин	60 мин	30 мин	60 мин	
1:2	1,5*	1,7*	1,7*	1,7*	1,8	1,8	0,0
1:10	1,4	1,4	1,3	1,4	2,8	2,7	0,5
1:20	1,1	1,1	1,1	1,2	1,9	1,9	0,8
Контроль клеток	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

*Индекс активности (ИА), положительной считается проба с ИА больше 1,0.

Таблица 2

Сравнительная оценка специфической активности полученных препаратов аденовируса с коммерческим аденовирусным антигеном

Исследуемая проба (антитела)	Сенсibilизация коммерческим антигеном («DRG»)	Сенсibilизация разработанным антигеном		
		1:5	1:10	1:20
Иммуноглобулин 1:5	0,53	0,63	0,44	0,50
Иммуноглобулин 1:10	0,56	0,75	0,59	0,56
Иммуноглобулин 1:20	0,46	0,50	0,61	0,46
Положительный контроль («DRG»)	0,40	0,50	0,69	0,60
Отрицательный контроль (НИИ гриппа)	0,03	0,03	0,03	0,03
Отрицательный контроль (ИАЖ)	0,10	0,06	0,06	0,06

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

ние IgM, которые могут быть маркером раннего инфицирования новым серотипом аденовируса.

Разработанная ИФА тест-система была использована для определения антител в сыворотке крови больных с аденовирусной инфекцией. Для подтверждения специфичности детекции антител провели сравнительную постановку ИФА с коммерческой тест-системой («DRG», Германия) (табл. 3).

Таблица 3

Уровень специфических антител к аденовирусу у больных с аденовирусной инфекцией в острой фазе

Срок забора крови, сут	Оптическая плотность			
	разработанная тест-система		коммерческая тест-система DRG	
	IgM	IgG	IgM	IgG
7-8-е	0,196	1,50	0,017	0,90
7-8-е	0,24	1,65	0,39	1,20
7-8-е	0,42	1,47	0,20	0,90
10—12-е	0,14	0,80	0,11	0,70
10—12-е	0,05	1,00	0,02	1,00
10—12-е	0,09	0,218	0,01	0,20
Контрольная сыворотка	0,007	0,009	0,01	0,07

Обе тест-системы дали практически одинаковый результат: у 3 пациентов на 7—8-е сутки от начала заболевания выявили иммуноглобулины класса М, у всех больных присутствовали IgG. Это свидетельствует об эффективности диагностики с применением разработанной тест-системы.

Интерес представляли исследования по определению антител IgG и IgM у людей с различной патологией и здоровых, изучали образцы сывороток крови доноров, волонтеров (здоровых людей) и больных с вирусом герпеса и вирусным гепатитом А (ВГА) (табл. 4).

Таблица 4

Определение маркеров аденовирусной инфекции

Группа обследуемых	Антитела к аденовирусу	
	IgM абс. (%)	IgG абс. (%)
Доноры, n=10	2 (20)	9 (90)
Волонтеры, n=20	5 (25)	18 (90)
Больные вирусом герпеса, n=7	0	5 (71)
Больные ВГА, n=16	1 (6,2)	9 (56,2)

Антитела класса М к аденовирусу, свидетельствующие о недавнем инфицировании («свежей» инфекции), выявлены в группах доноров, волонтеров

в 20% и 25% случаев соответственно и у 1 больного ВГА. Иммуноглобулины класса G обнаружены во всех исследованных образцах сыворотки крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д. К. Медицинская вирусология.— М., 2008.
2. Евстропов А. Н. // Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия.— 2001.— Т. 3, № 1—2.— С. 10.
3. Соминина А. А., Зибина Э. А., Карпович Л. Г. и др. // Вопр. вирусологии.— 2000.— № 5.— С. 30—33.
4. Носик Н. Н., Стаханова В. М. // Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия.— 2000.— Т. 2, № 2.— С. 70—78.
5. 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.
6. Онищенко Г. Г. Быстрая диагностика гриппа и других ОРВИ иммунофлюоресцентным методом: Метод. рекомендации.— М., 2006.
7. Егоров А. М., Осипов А. П. Теория и практика иммуноферментного анализа.— М., 1999.
8. George C. R., Minnich L. L. // J. Clin. Microbiol.— 1987.— Vol. 25, № 2.— P. 355—357.

DEVELOPMENT AND IMPROVEMENT OF TECHNIQUES FOR ADENOVIRAL INFECTION IMMUNE DIAGNOSIS

S. V. Orlova, E. I. Boreko, N. N. Kapitulets

Objective. To develop improved immunofluorescent and immunofermment test systems for adenoviral infection diagnosing.

Materials and methods. Adenoviruses of three types (1, 3, 5) were used in the study. The viruses were accumulated on the Hep-2C cell culture. Eagle's culture medias (MEM, DMEM) were used as media for growing. Chromatographically blank fluorescein inzitocianate (FITC) with the basic substance content not less than 85% was used for the immunoglobulins separated labeling. The stain load on the protein was selected basing on the concentration spectrum 1.0 µg/g to 30 µg/g. The protein electrophoresis in the polyacrylamide gel was carried out by U. K. Laemmli's method, the immune blotting — by the standard method described by H. Towbin.

Results. Immunofluorescent and immunofermment test systems were developed for adenoviral infection diagnosing. A regime for the immunoglobulins FITC labeling was worked out and possibilities of their usage for detecting adenovirus antigens were assessed. The antigen was obtained and the optimal terms for performing the reaction for the IgM and IgG determination in the blood serum of persons having adenoviral infection were proposed. For confirming the antibodies detection specificity a comparative IFA was performed using a commercial test system (DRC, Germany). In addition IgG and IgM antibodies were determined in persons having various pathologies and in healthy subjects.

Key words: adenoviral infection, methods of immune diagnosis, test system.

Адрес для корреспонденции:

Орлова Светлана Алексеевна.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 268-00-39.

Н. П. МИШАЕВА, В. А. СТЕГНИЙ, Н. С. ВЕРЕЦАКО

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСОВ И БОРРЕЛИЙ В ОРГАНИЗМЕ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ ПРИ МИКСТ-ИНФИЦИРОВАНИИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Изучить взаимовлияние вируса клещевого энцефалита и боррелий *Borrelia afzelii* — возбудителя Лайм-боррелиоза в Беларуси — в организме клещей *Ixodes ricinus* в эксперименте.

Материал и методы. Личинок клещей заражали возбудителями клещевого энцефалита или Лайм-боррелиоза кормлением на белых мышах с вирусемией или бактериемией в разной последовательности: одну партию личинок (200 экз.) заражали вирусом клещевого энцефалита, а после превращения их в нимф — боррелиями *B. afzelii*. Вторую партию личинок (200 экз.) заражали *B. afzelii*, а перелинявших нимф — вирусом клещевого энцефалита. Контролем служили клещи, зараженные моноинфекцией.

Результаты. Установлено, что клещи могут заражаться, длительно хранить и передавать трансстадийно вирус клещевого энцефалита и боррелий *B. afzelii*, хотя степень зараженности бывает разной. Так, при моноинфекции зараженность клещей вирусом клещевого энцефалита составила 63,6%, зараженность *B. afzelii* — 32%. Это достоверно выше, чем у клещей, содержащих оба патогена (от 7,9 до 23,3%).

Заключение. В организме иксодовых клещей не возникает антагонистических отношений между вирусами и спирохетами, поскольку они локализируются в разных органах и тканях (слюнные железы, кишечник), представляющих собой своеобразные экологические ниши для их репродукции и сохранения.

Ключевые слова: иксодовые клещи, клещевой энцефалит, Лайм-боррелиоз, вирус, спирохета, микст-инфицирование.

Известно, что иксодовые клещи рода *Ixodidea* являются хранителями и переносчиками возбудителей вирусных, бактериальных и протозойных инфекций, патогенных для человека. Более того, один клещ может быть переносчиком нескольких возбудителей одновременно, относящихся к разным систематическим группам [1], которыми он заражается в процессе питания предимагинальных стадий развития (личинки, нимфы) на различных видах животных. Доказано, что зараженность клеща 2—3 патогенами не исключение, а закономерность [2].

При присасывании таких клещей у человека развивается микст-инфекция, которая отличается от моноинфекции более тяжелым течением и требует длительного лечения [3]. Чаще всего при микст-инфекциях в клинической картине преобладают проявления одной инфекции — Лайм-боррелиоз (ЛБ) или клещевой энцефалит (КЭ), однако манифестировать могут оба заболевания сразу [4]. Считается, что это зависит от очередности заражения предимагинальных фаз развития клещей отдельными патогенами или при питании клещей на животных с микст-инфекцией [2]. До настоящего времени эти вопросы недостаточно изу-

чены, особенно если клещи заражены патогенными агентами, далекими в эволюционном отношении (вирусы, бактерии).

В Республике Беларусь иксодовые клещи, и в первую очередь *Ixodes ricinus*, — наиболее многочисленный и повсеместно встречающийся вид, являются переносчиками ЛБ и КЭ, при этом до 5% клещей содержат в своем организме оба возбудителя [5]. Доля микст-инфекций в структуре клещевых инфекций на эндемичных территориях может достигать 36% [4].

Цель настоящего исследования — изучить взаимовлияние вируса КЭ и боррелий *Borrelia afzelii* (возбудителей ЛБ в Беларуси) — в организме клещей *I. ricinus* в эксперименте.

Материал и методы

Исследования проводили с клещами *I. ricinus* лабораторной линии, которая была получена от самок клещей, отловленных в природе и проверенных на отсутствие зараженности вирусом КЭ и боррелиями. Исследование клещей на зараженность вирусом КЭ проводили методом биопробы, зараженность боррелиями — методом флюоресцирующих антител.

Культуру боррелий получали из живых клещей, собранных на эндемичных по Лайм-боррелиозу территориях. Клещей обрабатывали спиртом, делали прокол брюшка и выдавливали его содержимое в пробирку с 2 мл среды BSK-H («Sigma», США). Пробирку выдерживали в термостате при 33°C несколько дней и при изменении цвета среды с розового на лимонно-желтый содержимое просматривали на наличие бактерий в темном поле микроскопа. При обнаружении боррелий проводили пересев на больший объем среды (4 мл в пробирке объемом 5 мл), и после их размножения до уровня 70—80 микробных клеток в поле зрения микроскопа хранили до момента использования или заражения клещей при -70°C.

Эксперименты выполняли на личинках клещей, свободных от клещевых патогенов. Личинок (по 200 экз.) заражали возбудителями КЭ или ЛБ кормлением на белых мышах массой 12—14 г с вирусемией или на животных массой 18—20 г с бактериемией. Заражение клещей проводили в разной последовательности: одну партию личинок (200 экз.) заражали вирусом КЭ, после их превращения в нимф — боррелиями *B. afzelii*. Вторую партию личинок (200 экз.) заражали *B. afzelii*, перелинявших нимф — вирусом КЭ. Имаго клещей первой и второй партий, зараженных последовательно двумя патогенами, считали подопытными. Контролем служили имаго клещей, зараженных на стадии личинок или нимф моноинфекцией (вирус КЭ или *B. afzelii*).

Питание личинок на мышах осуществляли в среднем 3,5 дня, нимф — 5,2 дня. Мышей с присосавшимися личинками (нимфами) помещали по одиночке в сетчатые клетки, которые устанавливали на подставках, расположенных в белых эмалированных кюветах. Сюда наливали дистиллированную воду, куда падали напитавшиеся клещи. Вода служила «барьером» — непреодолимым препятствием для расплощения зараженных клещей.

18 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

Напитавшихся клещей, упавших в воду, ежедневно собирали, промывали в стерильной дистиллированной воде, высушивали на фильтровальной бумаге и помещали в пробирки с дифференцированной влажностью, где хранили до момента линьки в следующую стадию развития.

Результаты оценивали по проценту зараженности подопытных и контрольных клещей вирусом КЭ или боррелиями и сохранению указанных возбудителей в процессе метаморфоза членистоногих. Личинок клещей исследовали в пуле по 5 особей, нимф и имаго — индивидуально.

Детекцию боррелий *B. afzelii* проводили как в личинках, так и в нимфах клещей в темном поле микроскопа. При исследовании живых зараженных клещей спирохеты выявлялись в виде движущихся светлых жгутиков, четко просматриваемых в поле зрения микроскопа.

Результаты и обсуждение

Для проведения экспериментов вирусом КЭ и *B. afzelii* было заражено 6 партий личинок *I. ricinus* (по 200 экз. в партии), представляющих собой потомство самок лабораторной линии клещей F₁. Схема заражения представлена в табл. 1.

Показано, что в 1-м варианте личинки клещей были накормлены на белых мышах с напряженной вирусемией, вызванной подкожным заражением животных 10% суспензией мозга больных мышей, погибших от КЭ (исходный титр вируса 5,5 lgLD₅₀). После линьки личинок в нимфы последние были заражены боррелиями путем кормления на белых мышах с бактериемией. Для этого мышам вводили (внутрибрюшинно и подкожно) культуру боррелий, содержащей не менее 5000 спирохет в 0,1 мл.

Вторая партия личинок (2-й вариант), свободных от клещевых патогенов, была инфицирована в обратной последовательности: сначала боррелиями, а после линьки в нимфы — вирусом КЭ.

Пробирки с напитавшимися клещами периодически просматривали, в случае появления признаков плесени их пересаживали в новые пробирки.

Личинок и нимф клещей исследовали на наличие вируса (боррелий) после каждого заражающего корм-

ления на животных. После появления во всех вариантах опытов имаго клещей также исследовали на наличие изучаемых патогенов. Результаты представлены в табл. 2. Установлено, что даже при питании предимагинальных фаз развития клещей на животных с вирусемией (вирус КЭ) или бактериемией (боррелии *B. afzelii*) не все кровососы инфицируются. Так, при моноинфекции зараженность клещей вирусом КЭ составила 63,6%, *B. afzelii* — 32%. Это достоверно выше, чем у клещей, содержащих оба патогена (от 7,9 до 23,3%). Доля клещей, содержащих в своем организме 2 патогена, выше, когда сначала происходит заражение вирусом КЭ, а затем — боррелиями. Зараженность клещей вирусом КЭ в случае, когда этот патоген первым проникает в организм клеща, составил 18,7%, что в 2,4 раза выше, чем при первоначальном проникновении боррелий (7,9%). Даже зараженность клещей боррелиями в варианте опыта КЭ+ЛБ в 1,3 раза выше, чем при первичном заражении клещей боррелиями, то есть при варианте ЛБ+КЭ (23,3% и 18,2% соответственно).

Интерес представляют данные об интенсивности заражения личинок и нимф боррелиями в процессе кровососания на белых мышах, инфицированных по разным схемам. Одну партию личинок кормили на мышах, зараженных боррелиями за 26 дней до подсадки клещей. Вторую партию личинок и голодных нимф кормили на мышах, которым ежедневно в течение 4 сут вводили боррелии на протяжении всего периода кровососания клещей. В данном варианте опыта использовали культуру боррелий, длительно хранящуюся при -70°C.

Установлено, что заражение клещей боррелиями происходило неравномерно. Из данных табл. 3 следует, что в личинках боррелии выявлялись в 100% исследованных проб, но их количество было небольшим: в каждом поле зрения микроскопа обнаруживали не более 3 боррелий. В исследованных нимфах зараженными оказались лишь 56,6% напитавшихся особей, при этом количество выявленных спирохет в нимфах чаще всего колебалось от 1 до 5, а в части особей стадии нимф — от 15 до 50.

Ниже представлены данные исследования полевого материала (клещи, собранные в природе) на зара-

Таблица 1

Последовательность заражения клещей F₁ *I. ricinus* микст-инфекцией (возбудителями КЭ и ЛБ)

Клещи	Вариант опыта	Последовательность заражения
Потомство самок клещей <i>I. ricinus</i> , свободных от вируса КЭ и боррелий	1-й вариант: КЭ+ЛБ	Личинки накормлены на белых мышах, зараженных подкожно вирусом КЭ за 2 дня до подсадки клещей. Нимфы, вылинявшие из зараженных вирусом КЭ личинок, накормлены на животных, зараженных боррелиями за 26 сут до начала эксперимента. Концентрация боррелий — около 5000/0,1 мл.
	Контроль: КЭ ЛБ	Вирусом КЭ заражены чистые личинки. Боррелиями заражены чистые нимфы
	2-й вариант: ЛБ+КЭ	Личинки накормлены на белых мышах, зараженных боррелиями (не менее 5000/0,1 мл). Нимфы, вылинявшие из зараженных боррелиями личинок, накормлены на белых мышах, зараженных вирусом КЭ. Доза вируса — 0,15 мл 10% суспензии мозга больных мышей. Титр вируса 5,5 lgLD ₅₀ /0,03 мл.
	Контроль: ЛБ КЭ	Боррелиями заражены чистые личинки. Вирусом КЭ заражены чистые нимфы

Таблица 2

Восприимчивость клещей к патогенам при кровососании на белых мышах, зараженных вирусом КЭ или боррелиями *B. afzelii*

Вариант опыта	Вирус клещевого энцефалита			<i>Borrelia afzelii</i>			
	число исследованных нимф	число зараженных вирусом		число исследованных нимф	число зараженных боррелиями		
		абс.	%		абс.	%	
КЭ+ЛБ	32	6	18,7	30	7	23,3	
ЛБ+КЭ	26	2	7,9	22	4	18,2	
КЭ	нимфы	11	7	63,6	—	—	
	имаго	34	8	23,5	—	—	
ЛБ	нимфы	—	—	—	21	9	42,8
	имаго	—	—	—	25	8	32,0

Таблица 3

Зараженность боррелиями личинок и нимф *I. ricinus* при кровососании на белых мышах, зараженных *B. afzelii* по разным схемам

Стадия развития клещей	Схема заражения клещей боррелиями	Число исследованных клещей	Зараженные клещи
Личинки	Личинок кормили на белых мышах, зараженных однократно подкожно (5000 спирохет в 0,1 мл) за 26 сут до подсадки клещей	30 личинок (6 проб)	6, или 100%, проб (в каждом поле зрения выявлено по 1—3 спирохеты)
Нимфы	Нимф кормили на мышах, которым вводили по 2000 боррелий в 0,5 мл ежедневно в течение 4 сут — всего срока паразитирования клещей	30 нимф (исследованы индивидуально)	16, или 56,6%, нимф (у 42,8% нимф число спирохет составляло от 1 до 5, у 13,8% нимф — от 15 до 50)

Таблица 4

Зараженность боррелиями клещей *I. ricinus* природной популяции

Вид боррелий или их сочетание	Количество зараженных клещей	%	Число видов в одном клеще
<i>B. s.l.</i>	13	30,95±7,13	1
<i>B. s.l.+B. garinii</i>	12	28,57±6,97	2
<i>B. s.l.+B. afzelii</i>	7	16,67±5,75	2
<i>B. s.l.+B. garinii+B. afzelii</i>	1	2,38±2,35	3
<i>B. s.l.+B. valaisiana</i>	2	4,76±3,28	2
<i>B. s.l.+B. afzelii+B. lusitaniae</i>	7	16,67±5,75	3
Всего...	42	100,0	13

женность различными видами патогенов. В табл. 4 приведены сведения о выделении различных видов боррелий или их сочетаний из голодных имаго клещей, собранных в парках и лесонасаждениях Минска и его окрестностях (всего 187 экз.). Из представленных данных видно, что в клещах *I. ricinus* встречается 4 вида боррелий: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana* и *B. lusitaniae*, а также не определенные как вид боррелии комплекса *B. s.l.* Всего из 187 клещей зараженными боррелиями оказались 42 (22,5%), при этом 13 были инфицированы 1 видом боррелий (*B. s.l.*), 21 — 2 видами, 8 клещей — 3 видами боррелий.

Кроме того, в организме клещей наблюдали смешанную инфекцию патогенными агентами из разных систематических групп: один клещ *I. ricinus* был заражен 2 патогенами (*B. s.l.+Anaplasma phagocytophilum*), второй — 4 патогенами (*B. s.l.+B. garinii+Anaplasma phagocytophilum+Babesia spp.*)

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что клещи *I. ricinus* могут заражаться, длительно хранить и передавать трансстадийно патогенные агенты, относящиеся к различным систематическим группам и занимающими в организме своеобраз-

ные «экологические ниши» (вирус КЭ — слюнные железы, боррелии — кишечник). Это подтверждают результаты исследования на микст-инфекции клещей, отловленных в природе, когда в одной особи были выявлены как боррелии разных видов, так и возбудители инфекций, далекие в эволюционном отношении (боррелии, анаплазмы, бабезии).

Выводы

1. Данные по экспериментальному заражению клещей *Ixodes ricinus* вирусом КЭ и боррелиями *Borrelia afzelii* показали, что в организме клеща между возбудителями из различных систематических групп, занимающих разные «экологические ниши», антагонистические отношения отсутствуют.

2. Об отсутствии антагонистических отношений между патогенными агентами вирусной и бактериальной природы свидетельствуют результаты исследования на микст-инфекции клещей, отловленных в природе, когда в одной особи были выявлены как боррелии разных видов, так и возбудители инфекций, далекие в эволюционном отношении (боррелии, анаплазмы, бабезии).

ЛИТЕРАТУРА

1. Alekseev A. N., Dubinina H. V., Jushkova O. V. // *Int. J. Med. Microbiol.*— 2004.— Vol. 293 (Suppl. 37).— P. 104—108.
2. Korenberg E. I. // *Ibid.*— P. 80—85.
3. Вельгин С. О., Протас И. И., Щерба В. В. // *Журн. эпидемиол. и инфекц. болезней.*— 2007.— № 3.— С. 38—41.
4. Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Козлов С. С. *Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы).*— СПб., 2000.
5. Трофимов Н. М., Счесленок Е. П., Коренберг Э. И. и др. // *Мед. паразитол. и паразитарные болезни.*— 1998.— № 4.— С. 21—22.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Б10-195).

INTERACTION BETWEEN VIRUSES AND BORRELIA IN IXODES RICINUS IN CASE OF MIXED INFECTING

N. P. Mishayeva, V. A. Stegnyy, N. S. Vereshchako

Objective. To study in Belarus the interaction between the virus causing tick-borne encephalitis and *Borrelia afzelii* causing Lyme borreliosis in the *Ixodes ricinus* body in the experiment.

Materials and methods. Tick larvae were infected with the pathogenic agents causing tick-borne encephalitis or Lyme borreliosis while feeding

white mice having virus or bacteria positive blood the sequence differing: one larvae group (n=200) were infected by the virus causing tick-borne encephalitis and after they turned into nymphs they were infected by *B. afzelii*. Another larvae group (n=200) were infected by *B. afzelii* and the nymphs molted were infected by the virus causing tick-borne encephalitis. The ticks infected by a monoinfection served the control.

Results. It was determined that ticks can become infected, keep for a long time and transfer the virus causing tick-borne encephalitis and *B. afzelii* from stages to stage though the infection degree could differ. Thus, after the ticks were exposed to monoinfecting the virus causing tick-borne encephalitis was detected in 63.6% of cases, *B. afzelii* in 32%. It was reliably higher as compared with the ticks infected by both pathogenic agents 97.9% to 23.3%.

Conclusion. The *Ixodes ricinus* bodies demonstrate absence of antagonistic relations between the virus and spirochaete as they locate in different organs and tissues (saliva glands, intestine) being singular ecological niches for their reproduction and preservation.

Key words: *Ixodes ricinus*, tick-borne encephalitis, Lyme borreliosis, virus, spirochaete, mixed infecting.

Адрес для корреспонденции:

Мишаева Нина Павловна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 263-31-40.

В. Г. ГУДКОВ, Г. Н. ЧИСТЕНКО, Е. Г. ФИСЕНКО,
А. А. КЛЮЧАРЕВА, А. С. ВИРИНСКАЯ,
Н. М. БИСКАНА, К. Ю. ПЛОТНИКОВА, Д. В. МАЛЯВКО,
В. В. ЗАПОЛЬСКАЯ, Ю. В. НОВАЦКАЯ

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР
ЗА РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь, Белорусский государственный медицинский университет, Минский городской центр гигиены и эпидемиологии, Белорусская медицинская академия последипломного образования, Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Белорусский государственный медицинский колледж

Разработана концепция организации современной системы эпидемиологического надзора за ротавирусной инфекцией. Она состоит из 2 основных частей (подсистем) — популяционного и дозорного эпидемиологического надзора, а также общих для них информационной, эпидемиолого-диагностической и управленческой подсистем. Система дозорного эпидемиологического надзора включает подсистемы молекулярно-эпидемиологического и серологического мониторинга, информационный ресурс «Характеристика изолятов ротавирусов, выделенных в Республике Беларусь», национальную и региональные базы данных персонифицированных случаев заболевания ротавирусной инфекцией. Концепция предусматривает адекватное разделение функций органов государственного санитарно-эпидемиологического надзора в соответствии с их научно-техническим (технологическим) и кадровым потенциалом.

Ключевые слова: ротавирусная инфекция, острые кишечные инфекции, ротавирус, эпидемиологический надзор.

Ротавирусная инфекция (РВИ) занимает главное место в структуре острых кишечных инфекций (ОКИ). Это обусловлено высокой контагиозностью и устойчивостью возбудителя, огромным количеством экскретируемого больными вируса, двойным механизмом заражения, естественной восприимчивостью населения и нестойким иммунитетом, повторными случаями заболевания и слабым влиянием уровня экономического и санитарно-гигиенического развития населения на интенсивность эпидемического процесса.

Показатель заболеваемости РВИ в 2010 г. в Беларуси составил 53,64 случая на 100 тыс. населения, в Минске с лучшей в республике организацией лабораторной диагностики и регистрации этой инфекции — 142,83 случая. По сравнению с предыдущим годом в 2010 г. произошел существенный рост заболеваемости как в Минске (143,85%), так и в целом по стране (128,52%). В первом квартале 2011 г. в республике также отмечается рост заболеваемости РВИ по сравнению с аналогичным периодом предыдущего года (115,62%).

Эпидемиологический надзор за РВИ в стране осуществляется в соответствии с методическими рекомендациями и другими инструктивно-методическими документами, подготовленными в конце 1990-х годов [3]. Однако к настоящему времени получены новые данные о молекулярно-биологической характеристике возбудителя инфекции, разработаны специфические профилактические иммунобиологические препараты — зарубежные живые противоротавирусные вакцины и отечественный лактоиммуноглобулин, в стадии разработки находятся инактивированные вакцины. Установлено, что эффективность иммунопрофилактики зависит от степени иммунологической гомологии противоротавирусных иммунобиологических

препаратов с циркулирующими штаммами (типами) ротавирусов. Наряду с другими факторами это обусловило целесообразность осуществления молекулярно-эпидемиологического мониторинга за популяцией ротавируса и дозорного эпидемиологического надзора за инфекцией.

В настоящей работе изложена концепция современной системы эпидемиологического надзора за РВИ в Беларуси. Указанная концепция разрабатывалась на основе изучения закономерностей эпидемического процесса РВИ в республике с учетом современных представлений об этиологическом агенте и методах лабораторной диагностики заболевания, методологических подходах к организации системы эпидемиологического надзора, противоэпидемических и профилактических мероприятий в отношении этой инфекции.

Характеристика этиологического агента. Ротавирус относится к семейству *Reoviridae*, роду *Rotavirus* (рис. 1). Вирион имеет икосаэдрическую симметрию, колесообразную форму диаметром около 80 нм, без наружной липопротеиновой оболочки.

Вирусный капсид трехслойный, внутренний слой содержит вирусный геном, состоящий из 11 сегментов двухцепочечной РНК, каждый из которых кодирует либо структурные белки (VP), либо неструктурные (NSP), в том числе токсин NSP4.

В процессе экспериментальной и естественной коинфекции сегментированный геном ротавирусов легко образует реассортанты, в том числе межвидовые, что обуславливает высокую генетическую изменчивость вируса, играет важную роль в его эволюции и используется при разработке вакцин.

Белок VP7 формирует наружную поверхность вириона, покрытую шипами белка VP4. Считается, что эти 2 протеина в основном обуславливают вирусонейтрализующий иммунный ответ хозяина и играют центральную роль при вакцинации. Протеин VP4, также как и белки VP5 и VP8, образующиеся в результате его расщепления трипсином в кишечнике, способствует проникновению вируса в энтероциты и раз-

витию инфекционного процесса. Существует целый ряд генетических вариантов белка VP7 (G-тип) и VP4 (P-тип) и их комбинаций (G-P-тип), характеризующих антигенную структуру вириона и определяющих адекватную структуру противовирусных иммунобиологических препаратов.

Средний слой образован протеином VP6, необходимым для транскрипции генов — основы синтеза вирусных белков в инфицированных клетках. Этот протеин является групповым антигеном, общим для ротавирусов человека и животных (группа А), и основной мишенью для диагностических иммунологических тестов, в том числе ИФА.

Протеин VP2 формирует внутреннюю оболочку, а белки VP1 и VP3 являются ферментами, участвующими в копировании вирусных генов.

Молекулярно-биологическая структура ротавирусов лежит в основе их классификации: одна из них учитывает варианты нуклеотидной последовательности всех 11 сегментов генома [8], другая, более распространенная и используемая на практике, — бинаминальная классификация ротавирусов по Р- и G-типам. Последняя чаще всего используется для характеристики циркулирующей популяции ротавирусов и противоротавирусных иммунобиологических препаратов.

Ротавирусы обладают энтеротропностью и в процессе инфекции интенсивно реплицируются в ворсинках тонкого кишечника, при этом концентрация вирионов в экскретах достигает 10—12 lg и более в грамме фекалий. Вместе с тем они плохо культивируются в клеточных культурах.

Ротавирусы отличаются стабильностью во внешней среде (месяцы и годы при низких температурах), устойчивостью к эфиру, хлороформу, детергентам, величине pH среды до 9,0, ряду дезинфектантов, однако они чувствительны к фенолу, крезолу, формальдегиду, этиловому спирту, перекиси водорода. Фенотипические свойства ротавирусов следует учитывать при выборе адекватных для этого возбудителя дезинфектантов.

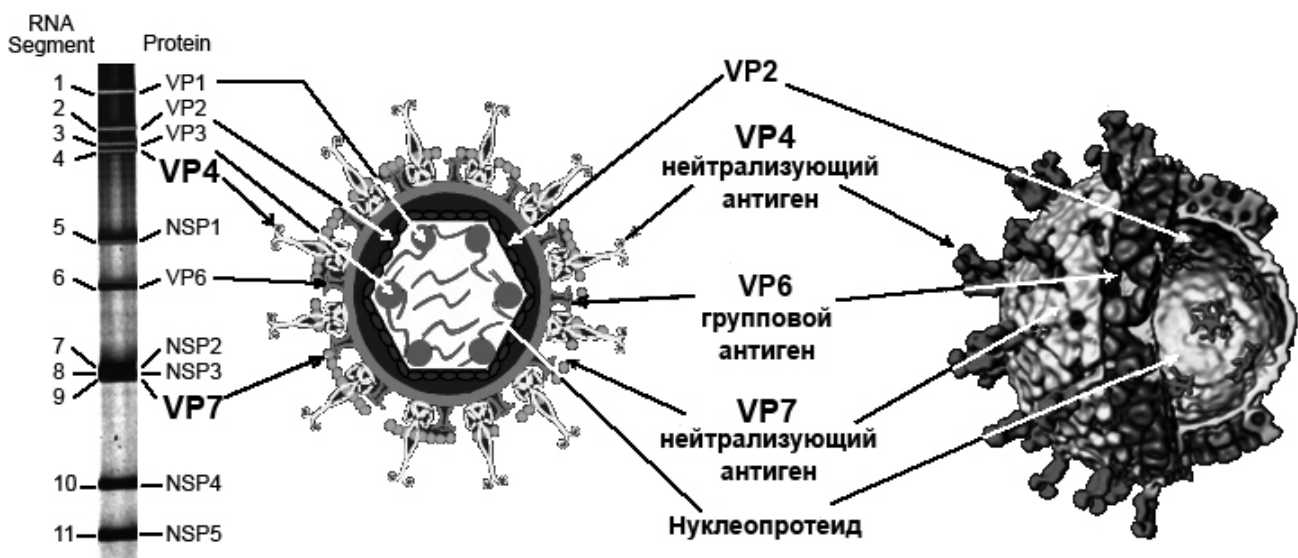


Рис. 1. Схема вириона ротавируса [10]

Лабораторная диагностика. В связи со схожестью клинического течения РВИ и других ОКИ окончательный диагноз РВИ устанавливают после лабораторной верификации. Лабораторная диагностика, как правило, основана на выявлении ротавирусного антигена в фекалиях больных. Экскреция ротавирусов может быть выявлена в течение 5—7 дней от начала заболевания, нередко она продолжается дольше. Наиболее подходящим методом диагностики является ИФА, используемый с подтверждающим (конфирматорным) тестом. В экстренных случаях, а также при отсутствии специализированной лаборатории и небольшом объеме исследований можно использовать иммунохроматографический экспресс-метод исследования (ИХМ) с подтверждающим (конфирматорным) тестом. Однако чувствительность этого метода ниже, чем ИФА.

При наличии острого респираторного синдрома, нередко предшествующего типичной клинической картине энтерита, раннее выявление ротавирусного антигена можно осуществлять в мазках и слизи из носоглотки. Эти исследования выполняются методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) или флюоресцирующих антител.

Выявление маркеров возбудителя в объектах внешней среды наиболее эффективно проводить методом ПЦР, однако, учитывая высокую концентрацию экскретируемого возбудителя и его стабильность во внешней среде, допускается проведение аналогичных исследований методом ИФА.

Генотипирование изолятов ротавирусов по G-P-типам осуществляется с помощью мультиплексной ПЦР, молекулярно-биологическое типирование ротавирусов по другим маркерам — методом секвенирования и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генома.

Заболевание РВИ и вакцинация против нее индуцируют образование антител к ротавирусам классов А, М, G. Определение антител к ним в сыворотке крови или слюне используется для оценки распространенности инфекции в популяции (суммарные антитела или IgG), эффективности вакцинации (антитела классов А, G), в необходимых случаях — для верификации этиологии заболевания (IgM, IgA). Определение группоспецифических антител к ротавирусам проводится методом ИФА, наличие и титр типоспецифических (G-P-типы) вирусонейтрализующих антител к ротавирусам в сыворотках крови — методом нейтрализации тест-штаммов ротавируса, адаптированных к культуре клеток.

Лабораторная диагностика РВИ должна осуществляться в сжатые сроки, обеспечивающие своевременную регистрацию случая заболевания и эффективное использование результатов исследования в клинической и эпидемиологической практике.

Как показал многолетний опыт, лабораторная диагностика РВИ в республике может успешно осуществляться с помощью отечественных препаратов: тест-системы иммуноферментной для выявления антигенов ротавирусов «РОТА-АГ» и тест-набора конфирматорного для подтверждения специфичности

выявления антигенов ротавирусов «КОНПРОТА-АГ», тест-системы для выявления антигенов ротавирусов методом иммунохроматографического анализа с подтверждающим тестом «РОТА-АГ-ИХМ-Конф» [1, 2]. В РНПЦ эпидемиологии и микробиологии также разработаны методики проведения всех вышеуказанных лабораторных исследований, готовятся к выпуску соответствующие диагностические препараты.

Закономерности эпидемического процесса РВИ в Беларуси. РВИ, как и другие кишечные инфекции, имеет фекально-оральный механизм передачи заболевания, но отличается дополнительным, аэрогенным, механизмом передачи [4, 9]. Двойственный механизм передачи определяет многообразие путей и факторов распространения инфекции: контактно-бытовой, водный и пищевой со множеством факторов передачи, а также воздушно-капельный (аэрозольный).

Источником инфекции являются инфицированные люди — больные манифестной или субклинической формой, а также вирусоносители. Считается, что инфицирующая доза возбудителя составляет около 100 вирусных частиц, в то время как в 1 г фекалий источника инфекции может содержаться более 100 млрд таких доз. Инкубационный период РВИ чаще всего составляет 1—2 дня, но общепризнано, что он может варьировать от 10—12 ч до 7 дней, при этом ротавирусы обнаруживают в испражнениях у 50% детей за 1 сут, у 31% — за 2 сут и у 9% детей — за 3—5 сут до появления первых клинических проявлений заболевания [5].

Факторами повышенного риска РВИ являются: возраст до 6 лет (особенно 2—3 года), искусственное вскармливание младенцев, пребывание в педиатрических, прежде всего инфекционного профиля, стационарах, родильных домах; очаги инфекции, условия с низкими санитарными нормами, а также недостаток санитарных знаний и навыков у населения.

РВИ является среднераспространенным инфекционным заболеванием в Республике Беларусь (годовой показатель заболеваемости — менее 100 случаев на 100 тыс. населения во всех регионах страны).

Удельный вес РВИ в структуре ОКИ в республике составляет около 30—35%. При этом различия уровней регистрируемой заболеваемости на отдельных административных территориях, по данным авторов, обусловлены в основном соответствующей организацией лабораторной диагностики и регистрации заболевания.

Эпидемический процесс характеризуется многолетней и сезонной цикличностью. Многолетняя цикличность РВИ в республике проявляется спадами и подъемами заболеваемости с периодичностью 1—2 года. Годовая динамика характеризуется сезонным подъемом в течение 5—6 мес, обычно с декабря по май, в отдельные годы его начало смещается на январь — февраль. Пики заболеваемости приходятся на февраль — март, в эпидемиологически неблагоприятные годы они регистрируются в основном в феврале, в более благоприятные — в марте. Годовая динамика заболеваемости в годы эпидемическо-

го неблагополучия отличается более ранним началом, большей интенсивностью и продолжительностью сезонного подъема. В годы относительного благополучия сезонными факторами обуславливается примерно до 40% заболеваний, в эпидемиологически неблагоприятные — до 60% и более. Интенсивность эпидемического процесса может возрастать и за счет круглогодично действующих факторов.

Круглогодичная заболеваемость и сезонный подъем РВИ формируются во всех возрастных группах населения. Однако наиболее высокие показатели заболеваемости регистрируются у детей в возрасте 1—2 лет, сезонный подъем характеризуется более ранним началом, наибольшей продолжительностью и интенсивностью, что свидетельствует о формировании эпидемического варианта возбудителя и интенсивном его распространении именно в этой возрастной группе.

Контингентом риска по заболеванию РВИ является детское население. Наиболее уязвимой возрастной группой, удельный вес которой достигает 90% и более, являются дети 0—6 лет. Максимальные показатели заболеваемости регистрируют у детей в возрасте от 1 года до 2 лет (их удельный вес составляет около 50%), минимальные — у детей 7—14 лет и взрослых.

Чаще болеют так называемые неорганизованные дети, удельный вес которых составляет более 60%. Пол ребенка не связан с частотой этого заболевания.

Хотя РВИ присуща вспышечная (групповая) форма эпидемического процесса, в республике регистрируются только единичные локальные вспышки инфекции с контактно-бытовым путем передачи возбудителя, в основном в детских дошкольных учреждениях, источником инфекции здесь являлись первые заболевшие дети.

РВИ присуще также вирусносительство среди персонала детских инфекционных больниц, педиатрических стационаров, родильных домов, беременных и обусловленное этим внутрибольничное инфицирование. По данным, полученным в странах Евросоюза в течение одного календарного года, 26—31% детей, поступающих на стационарное лечение, переносят внутрибольничную РВИ. В период сезонного подъема эта цифра возрастает до 50%. В Беларуси подобные явления не регистрируются.

Бремя РВИ. Количество пациентов, которое ежегодно госпитализируется в стационарах республики по поводу РВИ, составляет около 90% и более от всех зарегистрированных случаев. В возрастной структуре больных примерно 85—90% занимают дети от 0 до 4 лет. Бремя РВИ, как доля этой патологии в структуре ОКИ среди всех госпитализированных в течение календарного года детей, определенное по методике ВОЗ в Минске, составляло 54,0%, при этом минимальное значение показателя (16,9%) наблюдалось в сентябре, максимальное (77,2%) — в марте.

Бремя РВИ для возрастных групп 0—4 года, 0—6 лет и 0—14 лет составляло 56,8%, 56,2% и 54,3% соответственно [6]. Эти показатели свидетельствуют о выраженном бремени РВИ и целесообразности ее массовой иммунопрофилактики в республике.

Генотипическая характеристика популяции ротавирусов. Типирование изолятов ротавирусов проводится по генам, кодирующим структурные белки вириона VP4 (P-тип) и VP7 (G-тип), участвующие в реакции нейтрализации возбудителя при взаимодействии с их антителами.

Результаты генотипирования изолятов ротавирусов хранятся, систематизируются и анализируются в полном электронном информационном ресурсе «Характеристика изолятов ротавирусов, выделенных в Республике Беларусь» для использования организациями здравоохранения республики [7]. Циркулирующая в стране популяция ротавирусов генетически многообразна и в 2005—2010 гг. в основном была представлена 8 вариантами G-P-типов возбудителя. Чаще всего в этот период выявляли 4 генетических варианта вируса. Доминирующими были возбудители с биномиальной формулой G4P [8] и G2P [4]. Два других (G1P [8] и G3P [8]) встречались реже, остальные G-P-типы (G3P [9], G4P [4, 6] и G9P [8]) обнаруживались значительно реже и не каждый год.

Удельный вес различных генотипов вируса на протяжении этого периода изменялся, выявлялись новые генотипы вируса. Подобные изменения типовой структуры популяции ротавирусов могут быть причиной существенных всплесков уровня заболеваемости населения.

Принципы организации системы эпидемиологического надзора за РВИ. Эпидемический процесс РВИ рассматривается с системных позиций как процесс взаимодействия человека и ротавирусов в определенной природной и социально-экономической среде в конкретный период времени.

Важным свойством эпидемического процесса, производным дискретности взаимодействующих популяций, является его относительная автономность, обусловленная действием совокупности эпидемиологически значимых факторов в определенный период времени и на конкретной территории. Это проявляется неодинаковыми показателями заболеваемости в регионах, на отдельных территориях, в разных коллективах, а также различающимися уровнями иммунной прослойки населения к вирусу и типовой структурой популяции возбудителя инфекции. Автономность эпидемического процесса РВИ, как и ряда других инфекций, обуславливает и возможность локального управления им.

Эпидемиологический надзор осуществляется в соответствии с территориально-факторной концепцией эпидемиологического надзора, согласно которой эпидемический процесс следует рассматривать в совокупности 3 основных взаимосвязанных аспектов — территориального, факторного и временного.

Суть территориального аспекта обусловлена автономным характером эпидемического процесса и заключается в проведении эпидемиологического анализа заболеваемости и осуществлении других функций эпидемиологического надзора на определенных участках территорий различного масштаба, границы которых определяются логикой эпидемического процесса.

Факторный аспект заключается в том, что эпидемиологический анализ и оценка ситуации должны

проводиться на основе выявления факторов риска и учета объективных критериев характера эпидемического процесса. Это, например, величина иммунной прослойки в популяции, интенсивность циркуляции вируса и его свойства, уровень санитарно-гигиенического состояния территории и эпидемиологически значимых объектов, санитарно-гигиенических знаний и навыков населения, концентрация эпидемиологически значимых ксенобиотических факторов, социально-экономические факторы и др.

Временной аспект эпидемиологического надзора предполагает адекватную «привязку» его осуществления к реальному времени течения эпидемического процесса и прогнозируемым изменениям.

С целью рационального использования сил и средств санитарно-эпидемиологической службы и адекватного распределения функций эпидемиологического надзора за РВИ разделяется на 3 основных уровня по научно-техническому (технологическому) и кадровому потенциалу. Первичный уровень осуществляют, как правило, организации санитарно-эпидемиологической службы районного и зонального звена; квалифицированный — областные организации санитарно-эпидемиологической службы; специализированный — республиканские и имеющие соответствующий потенциал областные организации санитарно-эпидемиологической службы. Так, например, диагностические исследования по выявлению антигенов ротавирусов в экскретах с помощью ИХМ могут выполняться в лабораториях любого уровня, проведение данных исследований методом ИФА предполагает наличие соответствующего комплекта оборудования и квалифицированного персонала.

Иммунологические исследования методом ИФА и в культуре клеток относятся к квалифицированному научно-техническому (технологическому) уровню эпидемиологического надзора за РВИ и могут проводиться в областных ЦГЭиОЗ или других организациях здравоохранения, имеющих соответствующий научно-технический и кадровый потенциал. Молекулярно-биологические исследования относятся к специализированному научно-техническому (технологическому) уровню эпидемиологического надзора за РВИ и выполняются в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии или других организациях здравоохранения с соответствующим научно-техническим и кадровым потенциалом.

Содержание, структура и функции системы эпидемиологического надзора за РВИ. Целью мониторинга за РВИ является эпидемиологическая диагностика эпидемического процесса и разработка на ее основе рекомендаций по проведению организационных, санитарно-гигиенических, противоэпидемических, лечебно-профилактических мероприятий, направленных на снижение заболеваемости населения, предотвращение групповых заболеваний (вспышки инфекции).

Эпидемиологический надзор за РВИ осуществляется по принципам организации данного надзора за группой ОКИ с учетом следующих особенностей РВИ: повсеместная распространенность инфекции и высокая заболеваемость детей младшего возраста; двойственный механизм передачи — фекально-оральный (основ-

ной) и аэрогенный; многообразие путей и факторов распространения инфекции, адекватные механизмам заражения: контактно-бытовой, водный и пищевой со множеством факторов передачи, а также воздушно-капельный или аэрозольный; выраженная сезонность, групповая (вспышечная) форма эпидемического процесса, внутрибольничное инфицирование; тяжелое течение заболевания и высокий уровень госпитализации; повторные случаи заболевания, обусловленные нестойким и, возможно, типоспецифическим иммунитетом; массивное и продолжительное выделение устойчивого к факторам внешней среды, в том числе дезинфектантам, и вирулентного вируса большими и вирусоносителями; высокая изменчивость возбудителя, генетическое (типное) многообразие популяции, периодическая смена циркулирующих штаммов; доступность специфической лабораторной диагностики заболевания, включая генотипирование возбудителя; иммунопрофилактика этой инфекции.

Система эпидемиологического надзора за РВИ (рис. 2) состоит из 2 основных частей (подсистем) — традиционных для РВИ и других ОКИ — популяционного эпидемиологического надзора и новой подсистемы — дозорного эпидемиологического надзора, и включает общие для них традиционные подсистемы: информационную, эпидемиолого-диагностическую и управленческую.

Дозорный эпидемиологический надзор (ДЭН) — целевое, контрольно-выборочное, конкретизированное по параметрам наблюдения (контингент, территория, объект, объем, задачи, методы) слежение за динамикой эпидемического процесса с последующим анализом полученной информации и выработкой на этой основе прогноза и рекомендаций по его управлению.

ДЭН за РВИ осуществляется среди детей в возрасте до 17 лет включительно, госпитализированных в областные центры республики и Минска. Клинической базой для проведения ДЭН является инфекционная больница (отделение), обслуживающая весь поднадзорный контингент населения на подконтрольной территории. Допускается использование 2 или более вышеуказанных клинических баз.

Задачами подсистемы популяционного эпидемиологического надзора (ПЭН) на подконтрольной территории являются: регистрация и учет случаев заболевания РВИ; формирование государственной статистической отчетности об уровне заболеваемости РВИ; анализ и оценка общих эпидемиологических закономерностей распространения инфекции; контроль и предупреждение возникновения вспышечной заболеваемости РВИ в детских воспитательно-образовательных учреждениях, организациях здравоохранения, в которых осуществляется лечение и реабилитация детей, а также в родовспомогательных учреждениях.

Задачи подсистемы ДЭН заключаются в формировании специализированной информационной базы эпидемиологически значимых данных о случаях заболевания РВИ; развитии банка изолятов ротавирусов, выделенных на территории республики, и информационной базы данных об их молекулярно-биологических свойствах; проведении специализированных выбороч-

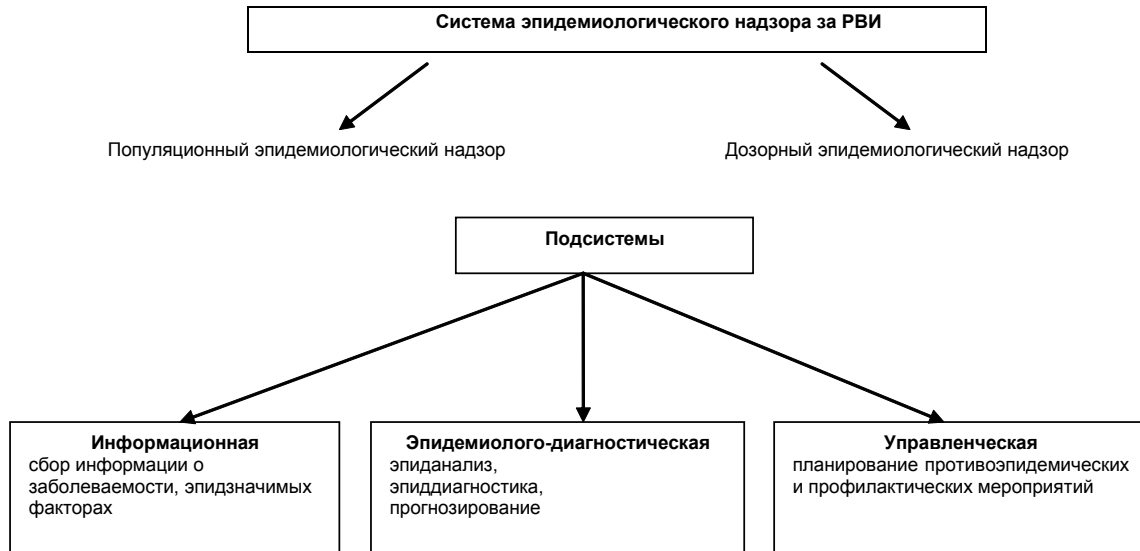


Рис. 2. Структурно-функциональная схема системы эпидемиологического надзора за РВИ

ных эпидемиологических, молекулярно-эпидемиологических, иммунологических и других исследований с целью выявления особенностей эпидемического процесса РВИ и разработки эффективных противоэпидемических и профилактических мероприятий; выявлении закономерных причин и условий распространения инфекции на подконтрольной территории, определении доминирующих путей и факторов передачи возбудителя с помощью факторного анализа; разработке противоэпидемических и профилактических мероприятий, направленных на снижение заболеваемости РВИ и предотвращение вспышечной групповой формы эпидемического процесса; оценке эффективности противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Информационное обеспечение в подсистемах ПЭН и ДЭН неодинаково и соответствует их задачам. Так, в подсистеме ПЭН экстренные извещения (форма 58/у) заполняются и передаются организацией здравоохранения по месту выявления заболевания в территориальный (районный, зональный) ЦГЭ в случае выявления болезни с первичным диагнозом РВИ у детей до 17 лет, посещающих дошкольное учреждение, проживающих в детском доме, доме ребенка, находящихся на стационарном лечении (реабилитации) в организации здравоохранения, детском оздоровительном учреждении; а также у лиц старше 18 лет, связанных по роду деятельности с технологическим процессом производства пищевых продуктов и водоподготовки, работников детских учреждений и организаций здравоохранения.

Регистрация всех выявленных случаев РВИ по форме 60 осуществляется в учреждениях здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь по месту жительства и (или) обслуживания заболевших. Эти организации осуществляют суммарный ежемесячный учет случаев РВИ и предоставляют соответствующие отчеты в территориальный ЦГЭ.

В подсистеме ДЭН сбор информации о случаях заболевания РВИ осуществляется выборочно. Отобранный случай должен соответствовать 2 или более

из следующих критериев: средняя или тяжелая степень клинического течения заболевания; возраст больного до 2 лет включительно; пребывание за пределами Республики Беларусь в течение 7 дней до начала заболевания.

На каждый отобранный случай РВИ в территориальном ЦГЭ заполняется информационная карта больного, являющаяся, по сути, персонифицированной входной формой программного продукта «УЛИС-эпидемиология», на основе которого создаются региональные базы данных в областных и Минском городском ЦГЭ. Национальная база данных формируется в РЦГЭиОЗ и РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Специализированные молекулярно-биологические (генотипирование ротавирусов) и иммунологические исследования в области РВИ, формирование банка изолятов ротавирусов, выделенных на территории республики, и соответствующего информационного ресурса [7] осуществляет РНПЦ эпидемиологии и микробиологии по направлению региональных ЦГЭ.

Эпидемиолого-диагностическая подсистема обеспечивает анализ и оценку ситуации на подконтрольной административной территории на основе получаемой информации.

Районные и зональные ЦГЭ проводят оперативный эпидемиологический анализ по следующим направлениям: ежедневный анализ поступающих экстренных извещений с первичным диагнозом РВИ, ОКИ в целях выявления возможных очагов групповой заболеваемости в детских организованных коллективах; анализ вероятных путей и факторов распространения инфекции в очагах групповой заболеваемости РВИ, ОКИ (2 и более случаев) и при других локальных эпидемиологических осложнениях по типу «случай—контроль».

Ретроспективный эпидемиологический анализ: ежемесячная, ежегодная оценка уровня заболеваемости относительно средних многолетних данных с учетом фазы эпидемического цикла для подконтрольной территории; ежемесячная, ежегодная оценка годовой динамики, возрастной структуры и очаговости заболеваемости.

Региональные ЦГЭ осуществляют эпидемиологическую диагностику на основе информации подсистем ПЭН и ДЭН, включая оценку уровня, территориального, сезонного распределения и динамики заболеваемости в возрастных и социальных группах; действующих путей распространения и факторов передачи инфекции (на основе выборочных исследований по типу «случай—контроль»); бремени РВИ, эпидемиологической эффективности профилактических мероприятий, в том числе применения иммунобиологических препаратов.

Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья проводит эпидемиологическую диагностику эпидемического процесса РВИ в стране на основе информации региональных ЦГЭ и ОЗ; определяет необходимость проведения специальных эпидемиологических исследований в республике и (или) отдельных регионах; оценивает бремя РВИ, эпидемиологическую эффективность профилактических мероприятий.

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии анализирует результаты молекулярно-эпидемиологических исследований по генотипированию ротавирусов, определяет типовую структуру циркулирующих штаммов ротавирусов и их доминантные генотипы, а также степень соответствия иммунобиологических препаратов антигенной структуре популяции ротавирусов, циркулирующих в республике; анализирует напряженность и структуру иммунитета населения к возбудителю.

Управленческая подсистема. Управленческие решения принимаются на основе эпидемиологической диагностики и включают противоэпидемические и профилактические мероприятия, направленные на предотвращение массового распространения инфекции и снижение заболеваемости на подконтрольной административной территории.

Концепцией предусматривается ответственность руководителей эпидемиологически значимых объектов за организацию противоэпидемического режима, контроль за вирусоносителями, введение понятия индивидуального противоэпидемического режима для клинически здоровых источников инфекции (вирусоносителей), использование дезинфектантов с установленной вирулицидной активностью в отношении ротавирусов, а также возможность применения противоротавирусных лечебно-профилактических иммунобиологических препаратов.

Таким образом, высокая социально-экономическая значимость РВИ, генетическое разнообразие ротавирусов, периодическая смена доминирующих штаммов этого возбудителя, невысокая эффективность контроля над инфекцией обуславливают необходимость совершенствования эпидемиологического надзора и обеспечения эффективности существующих и разрабатываемых противоротавирусных иммунобиологических препаратов. Это может быть достигнуто путем внедрения в республике современной системы эпидемиологического надзора с подсистемами популяционного и дозорного эпидемиологического надзора, молекулярно-эпидемиологического и серологического мониторинга. Такая система позволит адекватно контролировать как эпидемический процесс в целом, так и взаимодействия в нем макро- и микропопуляции, рациональ-

но распределять функции организаций санитарно-эпидемиологической службы различных уровней, исключать дублирование, повышать их эффективность, и в конечном счете добиваться поступательного снижения заболеваемости ротавирусной инфекцией в республике. Изложенные в настоящей работе и некоторые другие материалы явились основой проекта инструкции «Эпидемиологический надзор за ротавирусной инфекцией», направленной для рассмотрения в Министерство здравоохранения Республики Беларусь. Все содержащиеся в указанном проекте новые способы (методы, технологии) осуществления эпидемиологического надзора за ротавирусной инфекцией, серологического и молекулярно-эпидемиологического мониторинга успешно апробированы и могут быть использованы на практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Виринская А. С., Гудков В. Г., Дорогова С. В. // Здравоохранение.— 2010.— № 11.— С. 24—27.*
2. *Виринская А. С., Гудков В. Г. // Современные проблемы инфекционной патологии человека: Сб. науч. трудов.— Минск, 2009.— Вып. 2.— С. 223—225.*
3. *Гудков В. Г., Виринская А. С., Астапов А. А. и др. Ротавирусная инфекция: этиология, патогенез, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение, профилактика, эпидемиологический надзор: Метод. рекомендации.— Минск, 1998.*
4. *Гудков В. Г., Малавко Д. В., Виринская А. С. и др. // Здравоохранение.— 2006.— № 11.— С. 58—61.*
5. *Гудков В. Г., Виринская А. С., Ключарева А. А. и др. // Здравоохранение.— 2008.— № 11.— С. 8—12.*
6. *Гудков В. Г., Виринская А. С., Плотникова К. Ю. и др. // Здравоохранение.— 2010.— № 11.— С. 28—33.*
7. *Плотникова К. Ю., Гудков В. Г., Виринская А. С. Регистративное свидетельство № 1761000917 от 15.06.2010.*
8. *Estes M. K., Cohen J. // Microbiol. Rev.— 1989.— Vol. 53.— P. 410—449.*
9. *Maliauka D. V., Klyuchareva A. A., Gudkov V. G., Virinskaya A. S. // Abstr. of 26th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases.— Graz, 2008.— P. 102.*
10. *Estes M. K. // Fields Virology.— 1996.— Vol. 2.— P. 1625—1655.*

EPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF ROTAVIRUS INFECTION IN THE REPUBLIC OF BELARUS

V. G. Gudkov, G. N. Tchistenko, E. G. Fisenko, A. A. Klyucharyova, A. S. Virinskaya, N. M. Biskina, K. Yu. Plotnikova, D. B. Malyavko, V. V. Zapolskaya, Yu. V. Novatskaya

A concept for organizing a current system of the epidemiological survey of rotavirus infection has been developed. It consists of two main parts (subsystems) — the population epidemiologic survey and the watchman epidemiologic survey — and of the conventional informational, epidemiologic-and-diagnosis and managerial subsystems. The system of the watchman epidemiologic survey includes the following subsystems of the molecular-and-epidemiologic and serologic monitoring, the information resource «Characteristics of isolates of rotaviruses isolated in the Republic of Belarus», the national and regional databases of the rotavirus caused personified cases. The concept stipulates an adequate differentiation between the functions performed by the institutions of the state sanitary-and-epidemiologic survey according their scientific-and-technical (technological) and staff potentials.

Key words: *epidemiologic survey, rotavirus infection, acute intestinal infections, rotavirus.*

Адрес для корреспонденции:

Гудков Владимир Георгиевич.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 237-69-92.

К. Ю. ПЛОТНИКОВА, В. Г. ГУДКОВ

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ГЕПАТИТА А, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Провести молекулярно-эпидемиологический мониторинг и изучить генетическую характеристику вируса гепатита А, циркулирующего в республике.

Материал и методы. Исследовано 55 нуклеотидных последовательностей фрагмента VP1-P2A области генома вируса гепатита А, полученных в результате секвенирования образцов РНК, выявленных в клинических образцах от больных гепатитом А из различных регионов республики. Использовали программы MEGA 5.0, BLAST.

Результаты. Показано, что в республике одновременно циркулируют несколько генетических вариантов (субгенотипы IA, IB, IIIA) вируса. Неравномерное распределение выявляемых генотипов по годам (в 2006 и 2008 гг. преобладал субгенотип IA (73,3±8,1%), в 2009—2010 гг. — IIIA (72,0±9,0%)) свидетельствует о нестабильности генотипической структуры популяции возбудителя, множественности источников и путей распространения инфекции. Установлено завозное происхождение некоторых вариантов вируса гепатита А.

Заключение. Полученные данные указывают на существование эпидемиологической угрозы активизации эпидемического процесса гепатита А среди восприимчивого населения за счет завоза инфекции из других стран и необходимость совершенствования эпидемиологического надзора за ней.

Ключевые слова: вирус гепатита А, генотип, филогенетический анализ.

Вирусный гепатит А — повсеместно распространенное и высококонтагиозное острое инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом заражения. Причиняет обществу существенный экономический ущерб (по данным Роспотребнадзора, в России 1 случай гепатита А обходится более 1500 долларов США, в экономических развитых странах — 3820 и более) [1, 2]. В Беларуси особую актуальность и социально-экономическую значимость болезнь имела вплоть до конца 80-х годов XX века, когда уровень заболеваемости в период циклических подъемов превышал 500 случаев на 100 тыс. населения. С начала 90-х годов и до настоящего времени в республике, также как и в большинстве стран мира, отмечается существенное снижение заболеваемости. Этому способствовало повышение уровня благосостояния и санитарно-гигиенической культуры населения, санитарно-гигиенических стандартов в обществе, совершенствование эпидемиологического надзора за инфекцией, и, не в последнюю очередь, начавшаяся в республике с 2003 г. вакцинация детей, масштабы которой постоянно возрастали. Применяемая тактика позволила предотвратить вспышки инфекции и существенно, пример-

но до 1—3 случаев на 100 тыс. жителей, снизить уровень заболеваемости гепатитом А в Беларуси в последние годы. Однако, сложившуюся благополучную эпидемиологическую ситуацию нельзя считать абсолютно стабильной. Так, в 2010 г. впервые за последние 10 лет в республике отмечался рост заболеваемости, который произошел преимущественно за счет взрослого городского населения (2,1 случая на 100 тыс. человек), что в 2,3 раза выше уровня 2009 г. (0,96). В 3,7 раза заболеваемость возросла в Минске (на 160% выше республиканского уровня) и Минской области (в 2,3 раза).

Относительно благополучная эпидемиологическая ситуация в экономически развитых странах также не дает оснований для оптимистических прогнозов. Продолжительный период снижения заболеваемости, как и в нашей республике, обусловил появление значительной доли неиммунного населения, что является неблагоприятным прогностическим признаком. Недавние крупные вспышки и эпидемические подъемы заболеваемости гепатитом А в России (2005—2007), Латвии (2008) и некоторых других государствах, также произошедшие на фоне многолетнего благополучия, показали, что эта инфекция остается актуальной проблемой для здравоохранения и общества. Так, в Латвии, по данным ВОЗ, в 2005—2007 гг. показатели заболеваемости последовательно снижались с 6,16 до 0,66 случая на 100 тыс. населения, а в 2008 г. в стране произошел эпидемический подъем гепатита А, охвативший около 3000 человек (124,3 случая на 100 тыс. населения). В 2010 г. наблюдался выраженный подъем заболеваемости в ряде регионов России, в апреле того же года отмечена крупная (более 1000 человек) вспышка гепатита А в Москве.

Формирование за эпидемиологически благополучный период значительной прослойки неиммунного населения, наличие эндемичных источников инфекции и интенсивная миграция из эпидемиологически неблагополучных стран, где заболеваемость значительно выше (Россия, Украина, Таджикистан, Египет, Турция и др.), создают реальную угрозу быстрого роста заболеваемости и в нашей республике. В подобных условиях большое значение приобретает способность системы эпидемиологического надзора за гепатитом А обеспечить раннее выявление источников инфекции, связей между случаями заболеваний, путей и факторов распространения возбудителя. Решению этих вопросов во многом способствует молекулярно-эпидемиологический мониторинг, сутью которого является анализ и сопоставление нуклеотидной последовательности генома (фрагментов генома) циркулирующих вариантов вируса [3—5].

Целью настоящих исследований явилось проведение молекулярно-эпидемиологического мониторинга и изучение генетической характеристики вируса гепатита А (ВГА), циркулирующего на территории Беларуси.

Материал и методы

Исследовано 140 образцов биологического материала, полученных от пациентов с гепатитом А из

различных регионов республики в 2006 г. и в период с января 2008 г. по май 2010 г., в том числе 134 пробы сывороток крови, содержащих антитела класса М к ВГА, и 6 экстрактов фекалий.

Использовали два праймера производства «Праймтех» (Беларусь) к VP1-P2A области генома: прямой — 5'-СТАТТСАГАТТГСААТТАСААТ-3' (2896—2918); обратный — 5'-ССАТТТСААГАТТССАСАСАСТ-3' (3381—3360) [6, 7].

РНК выделяли с помощью лизирующего раствора, содержащего гуанидинтиоцианат. Из раствора РНК осаждали изопропанолом, полученный осадок отмывали последовательно этанолом и ацетоном, после чего растворяли в деионизированной воде.

Для обратной транскрипции и амплификации использовали соответствующий набор реактивов производства «Fermentas» (Литва) согласно инструкции. Режим амплификации: 2 мин при 94°C — 1 цикл; 20 с при 94°C, 10 с при 50°C, 10 с при 72°C — 5 циклов; 5 с при 94°C, 5 с при 50°C, 10 с при 72°C — 30 циклов и заключительный этап элонгации при 72°C в течение 7 мин.

Учет результатов амплификации осуществляли с помощью электрофореза продуктов амплификации в 2% агарозном геле, для определения размера фрагмента использовали ДНК-маркер производства «Fermentas» (Литва). При получении положительного результата соответствующую полоску геля вырезали, фрагмент ДНК очищали с помощью набора для выделения ДНК «QIAquick Gel Extraction Kit» («Qiagen», Германия). Секвенирование проводили с помощью набора «Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit» (Beckman Coulter, США). Режим амплификации: 20 с при 96°C, 20 с при 50°C, 4 мин при 60°C — 30 циклов. Продукты амплификации очищали и анализировали на приборе «Genetic Analysis System CEQ 8000» (Beckman Coulter, США).

Молекулярно-генетический анализ и генотипирование ВГА осуществляли путем изучения фрагмента из 315 нуклеотидных оснований, охватывающих VP1-P2A регион, с помощью программы MEGA 5.0. Последовательности выравнивали с помощью алгоритма W. Clustal. Генетические расстояния определяли на основе модели нуклеотидных замен Tamura—Nei. Полученную матрицу далее использовали для реконструкции филогенетических древ с помощью метода neighbor-joining (объединения ближайших соседей), надежность построения оценивали методом bootstrapping (анализировали 1000 псевдореплик).

При проведении филогенетического анализа использовали следующие прототипные последовательности генома ВГА, содержащиеся в международной базе данных GenBank: AN1 (AB020564), H2 (EF406357), HAS-15 (X15464), GBM (X75214), Isolate 102 Germ (EU416233.1), MBV (M20273), HM-175 WT (NC_001489), HAF-203 (AF268396), CF53 (AY644676), HA-JNG08-92 (AB279733), HA-JNG06-90F (AB258387), HA-JNG04-90 (AB279732), KRM003 (AB425339).

Результаты и обсуждение

При исследовании 140 проб клинического материала, полученных от пациентов с гепатитом А, РНК ВГА обнаружена в 111 (79,3%) из них, в том числе в 98 (73,1%) сыворотках и 3 (50%) фекальных пробах. Нуклеотидная последовательность фрагмента VP1-P2A генома была определена для 55 (49,5%) РНК-содержащих образцов. Установленные для исследованных вариантов ВГА нуклеотидные последовательности указанного фрагмента генома анализировали путем сравнения с прототипными последовательностями аналогичного участка генома этого возбудителя, депонированными в GenBank.

Все изученные варианты ВГА получили название, отражающее место (страна, регион), время (год, месяц) забора клинического материала и регистрационный номер образца.

Оптимальный метод для определения эволюционных дистанций устанавливали с помощью инструментов, встроенных в программу MEGA 5.0. Как показал анализ, наиболее точно исследуемые нуклеотидные последовательности описывает модель Tamura—Nei с учетом следующих параметров (в порядке возрастания Байесовского информативного критерия): наличие инвариантных сайтов (TN93+I), наличие инвариантных сайтов и гамма-распределение (TN93+G+I), только гамма-распределение (TN93+G). Расчетное значение гамма-параметра составило 0,25.

Филогенетическая реконструкция показала, что циркулирующие в стране варианты ВГА представлены двумя генотипами: I и III. При этом из 55 изолятов, включенных в исследование, 27 (49,1%) принадлежат к субгенотипу IA, 8 (14,5 %) — субгенотипу IB и 20 (36,4%) — субгенотипу IIIA.

Принятый для определения генотипов и субгенотипов подход основан на установлении доли различий в нуклеотидной последовательности участка генома и был разработан для фрагмента из 168 пар оснований [8]. Внутри генотипов фрагменты в среднем различались не более чем на 4,7±0,9%, среднее различие между субгенотипами составило 9,1±2,0%, генотипами — 23,4±3,0%. При этом сравнение фрагментов, охватывающих наиболее часто используемую в последнее время в эпидемиологических исследованиях ВГА область из 315 пар оснований, также отвечало указанным требованиям: аналогичные показатели составили 4,6±0,7%, 8,5±1,4% и 20,7±2,0% соответственно.

Самым гетерогенным по структуре оказался субгенотип IA: среднее генетическое расстояние — 0,030±0,006 нуклеотидных замен на сайт по сравнению с таковым для субгенотипов IB и IIIA 0,012±0,005 и 0,018±0,005 соответственно. В этой группе наблюдается достоверное выделение нескольких кластеров, причем все они образованы вирусами, циркулировавшими в разные годы (рис. 1). Наибольшей однородностью характеризовались вирусы, выявленные в 2006 г. (среднее значение сходства нуклеотидных последовательностей — 99,8%), наименьшей — в 2009 г. (94,9%). Единственный вариант ВГА субге-

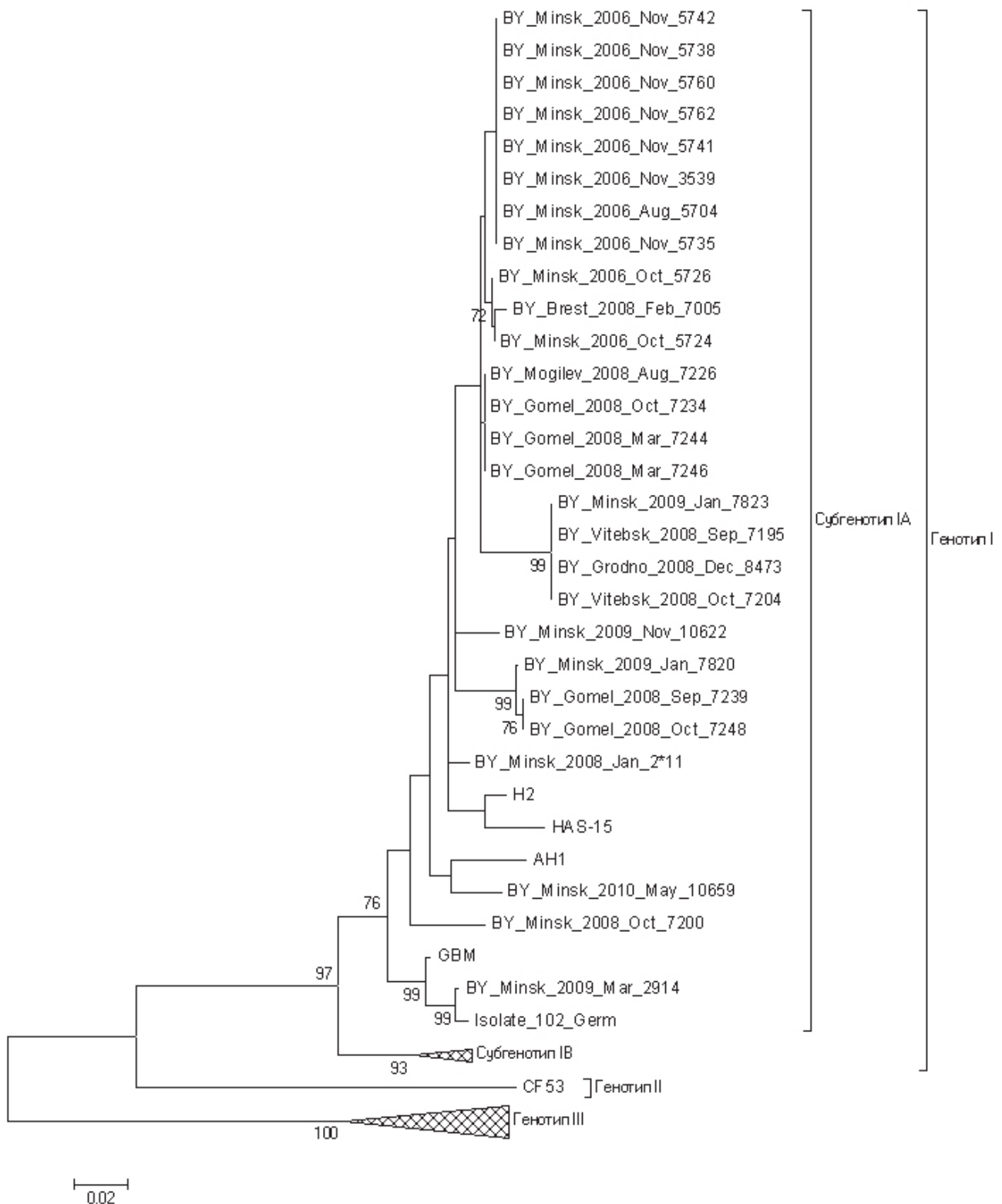


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента 315 п.н. региона VP1-P2A вариантов ВГА субгенотипа IA, выделенных в разные годы в Беларуси

нотипа IA, выделенный в 2010 г. (№ 10659), существенно отличался от вирусов, циркулировавших в 2006 и 2008—2009 гг. (генетическое расстояние — $0,035 \pm 0,008$ нуклеотидных замен на сайт). Тем не

менее наиболее эволюционно удаленным от большинства вирусов субгенотипа IA оказался вариант ВГА № 2914, обнаруженный в 2009 г. (генетическое расстояние между ним и остальными вирусами субгено-

типа IA составило $0,070 \pm 0,019$ нуклеотидных замен на сайт) и достоверно кластрирующийся с изолятом № 102, выделенным в Германии (идентичность последовательностей — 99,4%). Дистанция между вирусами № 2914 и № 7820 оказалась максимальной для данной группы и составила $0,093 \pm 0,028$ нуклеотидных замен на сайт. Это позволяет предположить завозной характер гепатита А в данном случае.

Анализ полученных нуклеотидных последовательностей вариантов ВГА, принадлежащих субгенотипу IA, с помощью программы BLAST позволил выявить значительное отличие вируса № 7200 от вариантов, представленных в GenBank. Так, наименьший уровень различий вируса № 7200 наблюдается с изолятом № 050, выделенным в Германии в 2007 г. Однако генетическое сходство при этом не превысило 97,1%, а эволюционное расстояние составило $0,034 \pm 0,014$ нуклеотидных замен на сайт. Таким образом, на территории республики выявлен вариант ВГА субгенотипа IA, который в достаточной степени отличается от имеющихся в настоящее время в базе данных.

Как было установлено в ходе эпидемиологических исследований, происхождение всех вирусов, относящихся к субгенотипу IB и выделенных в 2008—2010 гг., связано с туристическими поездками в Египет (природу вируса 2006 г. № 5715 установить не удалось). Четыре случая, выявленные в конце 2008 г. — начале 2009 г. (вирусы № 7249, № 7636, № 7711 и № 7826), достоверно объединялись в один кластер и имели 100%-ную идентичность нуклеотидной последовательности (рис. 2). Эти данные позволяют обосновать наличие общего источника инфицирования, несмотря на то, что штаммы обнаружены в разных областях республики.

В группе вирусов, относящихся к субгенотипу IIIA, статистически подтверждено наличие кластера, объединяющего 3 вируса, для одного из которых (№ 8996) наиболее вероятной страной происхождения является Таджикистан (рис. 3). Хотя остальные вирусы не образовывали достоверные кластеры, для них была показана высокая степень генетического сходства: среднее генетическое расстояние составило $0,004 \pm 0,003$ нуклеотидных замен на сайт.

Анализ аминокислотной изменчивости показал, что, несмотря на относительно высокую частоту замен в нуклеотидной последовательности, подавляющее большинство из них являются синонимичными и не приводят к изменению аминокислот. Среднее значение доли различий в аминокислотной последовательности было максимальным для субгенотипа IA ($0,6 \pm 0,3\%$), минимальным для субгенотипа IIIA ($0,2 \pm 0,2\%$).

Неравномерное распределение выявляемых генотипов по годам свидетельствует о нестабильности генотипической структуры популяции возбудителя на территории республики, множественности источников и путей распространения инфекции (рис. 4). Так, если в 2006 и 2008 гг. наблюдалось преобладание субгенотипа IA ($90,9 \pm 8,7\%$ и $63,2 \pm 11,1\%$ соответственно), то, начиная с 2009 г., превалировал субгенотип IIIA ($54,5 \pm 15,0\%$ — в 2009 г. и $85,7 \pm 9,4\%$ — в 2010 г.). Доля субгенотипа IB в 2008 г. достигла значения в 26,3%, в то время как в остальные годы составляла только 7,1—9,1%.

Выводы

1. Установлено, что на территории республики одновременно циркулируют несколько генетических

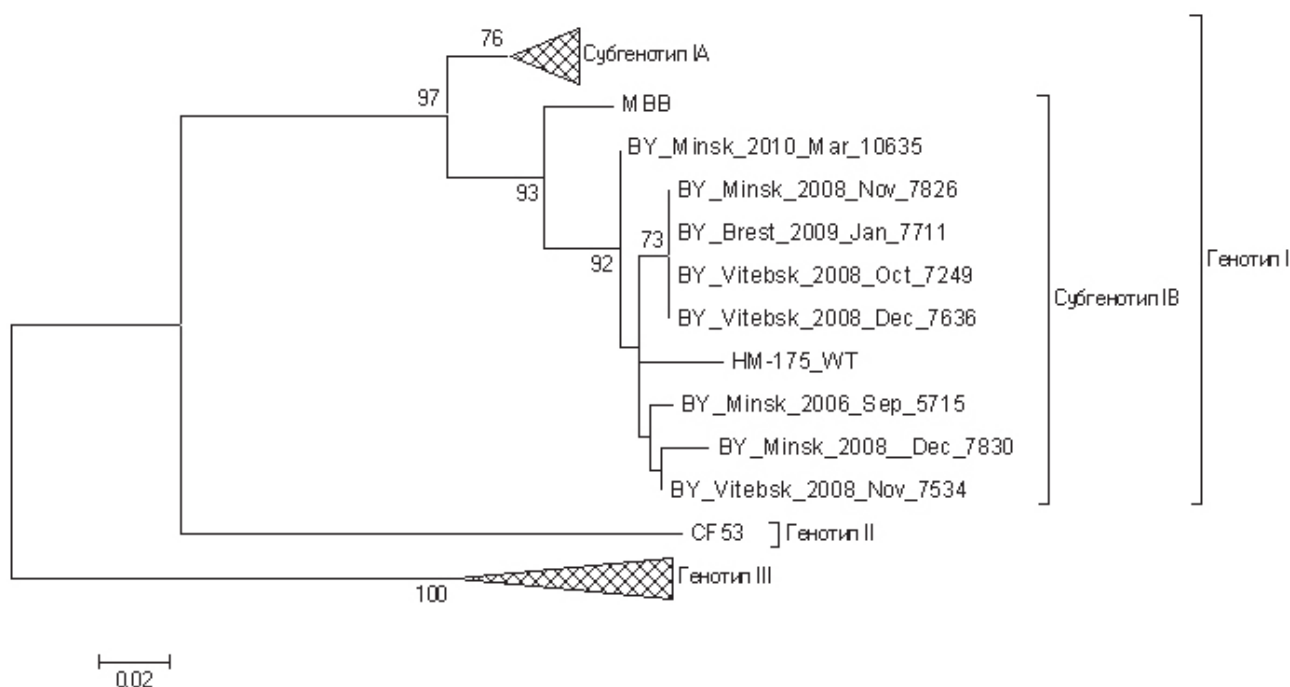


Рис. 2. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента 315 п.н. региона VP1-P2A вариантов ВГА субгенотипа IB, выделенных в разные годы в Беларуси

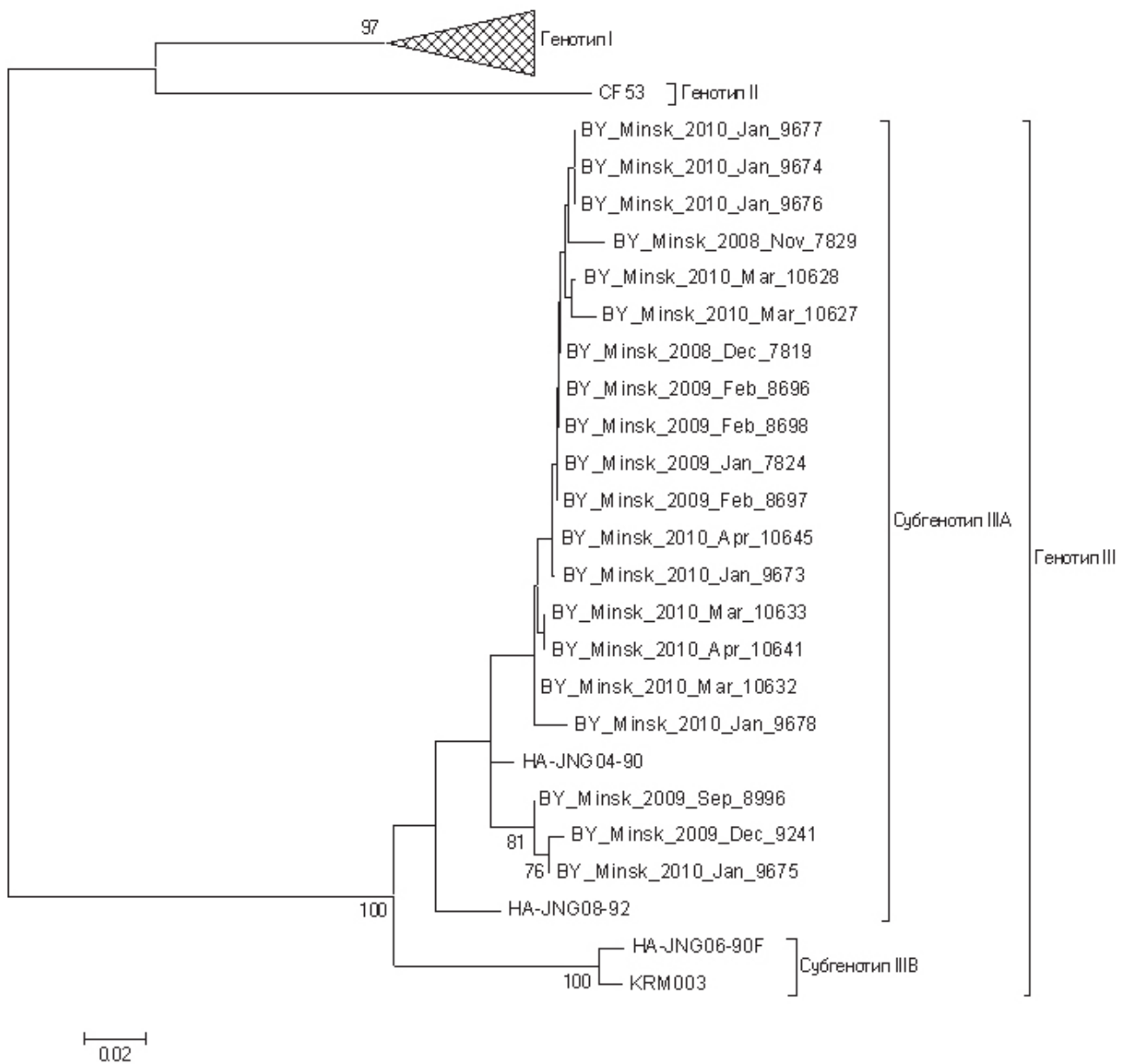


Рис. 3. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента 315 п.н. региона VP1-P2A вариантов ВГА субгенотипа IIIA, выделенных в разные годы в Беларуси

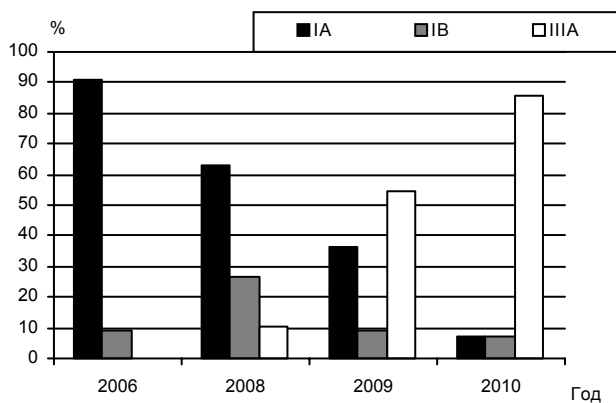


Рис. 4. Генотипическая структура популяции ВГА в республике

вариантов (субгенотипы IA, IB, IIIA) вируса гепатита А, характерных для различных стран мира.

2. Неравномерное распределение выявляемых генотипов по годам свидетельствует о нестабильности генотипической структуры популяции возбудителя, множественности источников и путей распространения инфекции.

3. Все случаи гепатита А в республике, наблюдавшиеся в 2008—2010 гг., обусловленные установленным субгенотипом IB вируса, носили завозной характер (страна происхождения вируса — Египет), это касается и некоторых вариантов вируса гепатита А, относящихся к IA и IIIA субгенотипам. Так, наблюдавшийся в Минске в первые 5 мес 2010 г. четырехкратный рост заболеваемости гепатитом А по сравнению

с аналогичным периодом 2009 г. преимущественно обусловлен распространением штаммов вируса субгенотипа IIIA. Это указывает на существование эпидемиологической угрозы активизации эпидемического процесса среди восприимчивого населения за счет завоза инфекции и необходимость совершенствования эпидемиологического надзора за ней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сайт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [Электронный ресурс].— 2007.— Режим доступа: <http://old.rosпотребнадзор.ru/activity/immunoprof/immecan/>— Дата доступа: 10.09.2009.
2. Luyten J., Beutels P. // *Pharmacoeconomics*.— 2009.— Vol. 27, № 5.— P. 379—389.
3. Kemmer N. M., Miskovsky E. P. // *Infect. Dis. Clin. N. Am.*— 2000.— Vol. 14.— P. 605—615.
4. Amon J. J., Devasia R., Xia G., et al. // *J. Infect. Dis.*— 2005.— Vol. 192, № 8.— P. 1323—1330.
5. Chironna M., Lopalco P., Prato R., et al. // *J. Clin. Microbiol.*— 2004.— Vol. 42, № 6.— P. 2825—2828.
6. Hutin Y. J., Pool V., Cramer E. H., et al. // *N. Engl. J. Med.*— 1999.— Vol. 340, № 8.— P. 595—602.
7. Nainan O. V., Armstrong G. L., Han X. H., et al. // *J. Infect. Dis.*— 2005.— Vol. 191.— P. 957—963.
8. Robertson B. H., Jansen R. W., Khanna B., et al. // *J. Gen. Virol.*— 1992.— Vol. 73.— P. 1365—1377.

Е. О. САМОЙЛОВИЧ, Е. О. СВИРЧЕВСКАЯ, О. Е. ЕЛИН,
Л. И. ЗГУРСКАЯ, М. В. КАЧКАН, Г. В. СЕМЕЙКО,
М. А. ЕРМОЛОВИЧ, А. В. ГАЛЕНЧИК, Т. А. МАМАЕВА

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ КОРИ У ПРИВИТЫХ ЛИЦ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь, Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Червенская центральная районная больница, Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Габричевского

Цель исследования. Выявление особенностей клинического течения и лабораторной диагностики кори у привитых лиц.

Материал и методы. В мае — июле 2011 г. диагноз кори лабораторно подтвердили у 44 больных с использованием одного из методов: выявление IgM-антител в сыворотке или плазме крови, определение увеличения содержания IgG-антител в парных сыворотках, выделение вируса кори из мононуклеаров периферической крови. Среди обследованных 31 больной ранее был привит против кори.

Результаты. Лабораторная диагностика кори у привитых лиц имела свои особенности. IgM-антитела в сыворотке крови выявлены только у 20 (64,5%) заболевших. Сероконверсия либо увеличение концентрации IgG-антител в парных сыворотках отмечены у 6 (60,0%) из 10 обследован-

MOLECULAR-AND-EPIDEMIOLOGIC FEATURES OF HEPATITIS VIRUS A CIRCULATING ON BELARUS TERRITORY

K. Yu. Plotnikova, V. G. Gudkov

Objective. To carry out the molecular-and-epidemiologic monitoring for hepatitis virus A circulating in the Republic and to study its genetic characteristics.

Materials and methods. Fifty five nucleotide sequences of the VP1-P2A site fragment of the hepatitis virus A genome obtained in the result of sequencing the RNA samples revealed in the clinical samples taken from persons with hepatitis A from the Republic different regions. The MEGA 5.0, BLAST programs were applied.

Results. It has been determined that several genetic variants (subgenotypes IA, IB, IIIA) of the virus are circulating simultaneously in the Republic. An uneven distribution of the genotypes (in 2006 and 2008 the subgenotype IA (73.3±8.1%), in 2009—2010 — IIIA (72.0±9.0%) prevailed) evidences about the pathogenic agent genotypic structure instability, the infection multiple sources and routes of expansion. It has been stated that some variants of the hepatitis virus A originated from abroad.

Conclusion. The data obtained point at an epidemiologic threat of the hepatitis A activation among the perceptive population due the infection importation from other countries and at the necessity to improve the epidemiologic survey for that infection.

Key words: hepatitis virus A, genotype, phylogenic analysis.

Адрес для корреспонденции:

Плотникова Ксения Юрьевна.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сп. тел. (8-017) 237-69-96.

ных. Выделить вирус кори удалось у 7 (38,9%) из 18 обследованных. Клиническая картина заболевания у привитых лиц не всегда соответствовала стандартному определению кори. У 26,9% заболевших лихорадка не достигала 38°C, у 7,7% инфекция протекала без сыпи, у 20,8% обследованных сыпь сохранялась только 2 дня, у 25,0% пациентов этапности появления сыпи не наблюдалось, после исчезновения сыпи у 20,8% больных пигментация не отмечалась, пятна Коплика на слизистой оболочке щек отсутствовали у 42,3% обследованных. Общепитоксикационный синдром у данной категории больных выражен незначительно.

Заключение. В результате первичных или вторичных поствакцинальных «неудач» среди привитых лиц могут оставаться восприимчивые к кори. Клиническая картина заболевания у привитых характеризуется более легким течением и отсутствием осложнений. Лабораторная диагностика кори у данных лиц сложна, для верификации диагноза требуется широкий арсенал диагностических методов.

Ключевые слова: корь, вакцинация, клиническая картина, диагностика.

Введение вакцинации привело к существенному снижению заболеваемости корью. Если в 1960-е годы по расчетным данным в мире ежегодно заболевало корью 130 млн человек и 2,5 млн случаев заканчивались летальным исходом, то уже к середине 2000-х годов число заболевших снизилось до 20—30 млн, количество летальных исходов — до 450 тыс. [1]. В Европейском регионе ВОЗ число зарегистрированных случаев кори снизилось с 200 тыс. в 1994 г. до 30 тыс. в 2003 г., а затем до 7375 в 2009 г. [4, 5]. Од-

нако 2010 г. и первая половина 2011 г. ознаменовались вспышками кори во многих странах Европейского региона, в первую очередь в Западной Европе. Рост заболеваемости в 2011 г. отмечен в 35 странах; только в странах Европейского Союза за первые 6 мес выявлена 21 тыс. случаев кори, 6 из которых — с летальным исходом [7]. В этой ситуации риск завоза вируса на территорию других стран становится очень высоким.

В Республике Беларусь последняя вспышка кори зарегистрирована в 2006 г. (149 случаев, 72 из которых — в Минской области) [3]. Ее причиной явились многократные заносы вируса из Украины, где в этот год было выявлено более 44 тыс. больных [2, 8]. В 2007—2010 гг. в Беларуси регистрировали единичные случаи завоза кори (2007 г. — из Таиланда, 2010 г. — из Индии) или она вовсе не регистрировалась (2008 г. и 2009 г.). В начале 2011 г. выявлено 2 несвязанных между собой случая завоза инфекции из Германии (один — в Минске, другой — в Витебске). В мае 2011 г. корь стали регистрировать в Червенском районе Минской области. С момента выявления первых заболевших проводилось тщательное наблюдение за контактными лицами, их изоляция при появлении первых симптомов болезни, своевременное направление клинического материала на исследование в Республиканскую лабораторию по диагностике кори и краснухи (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). За 2 мес (с 17 мая по 9 июля) в районе выявлено и лабораторно подтверждено 44 случая кори. Среди заболевших были лица, получившие ранее 1 или 2 вакцины против кори.

Целью данной работы явилось выявление особенностей клинического течения и лабораторной диагностики кори у привитых лиц.

Материал и методы

Клинический диагноз кори ставили в соответствии со стандартным определением заболевания [9]. От 51 больного с подозрением на корь (клинические симптомы болезни либо повышение температуры тела после контакта с больным корью) на лабораторное исследование в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии направлены образцы гепаринизированной крови или сыворотки крови. У некоторых больных потребовались повторный забор и исследование крови.

На наличие IgM-антител к вирусу кори в сыворотке или плазме крови обследовали 51 заболевшего. IgM-антитела выявляли с использованием иммуноферментной тест-системы («Siemens», Германия).

Выявление IgG-антител в парных сыворотках крови и исследование их авидности проводили для 10 заболевших. IgG-антитела определяли с использованием иммуноферментных тест-систем

(«Siemens», Германия, или «Virion/Serion», Германия). Авидность IgG-антител изучали с помощью иммуноферментной тест-системы («Вектор-Бест», Россия).

Проводили вирусологическое обследование 18 пациентов. Вирус кори выделяли из мононуклеаров периферической крови, полученных с помощью центрифугирования в градиенте плотности фикол-верографина общепринятым методом. Взвесью мононуклеаров инокулировали культуру клеток Vero-SLAM и наблюдали 2 нед. При отсутствии цитопатического эффекта в течение этого времени выполняли 2 слепа пассажа. С появлением цитопатического эффекта вирусосодержащий материал собирали, разливали по аликвотам и замораживали при -20°C для дальнейшего хранения и анализа.

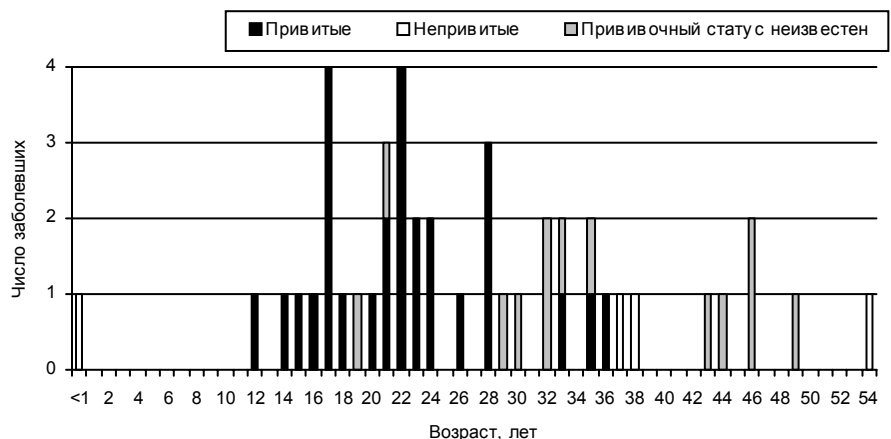
Особенности клинической картины кори (тяжесть течения заболевания, температурная реакция, наличие и характер сыпи, энантема и пятна Коплика, кашель, конъюнктивит и др.) проанализировали у 26 ранее вакцинированных больных, госпитализированных в инфекционное отделение Червенской ЦРБ.

Результаты и обсуждение

Комплексное клинико-эпидемиологическое и лабораторное обследование (клиническая картина, контакт с больным корью, выявление специфических IgM-антител, увеличение содержания IgG-антител, выделение вируса) подтвердило диагноз кори у 44 человек в возрасте от 11 мес до 54 лет.

Как показал эпидемиологический анализ, 27 (61,4%) из 44 заболевших, согласно данным прививочной документации, ранее были вакцинированы против кори (из них 3 — однократно, 24 — двукратно), у 13 (29,5%) прививочный статус установить не удалось, 4 (9,1%) больным не проводили плановую вакцинацию против кори. Возрастное распределение заболевших представлено на рисунке. У всех привитых лиц, за исключением одного, от введения последней дозы плановой вакцины прошло 9 и более лет.

Среди 13 заболевших с неизвестным прививочным статусом 4 были старше 45 лет и, следовательно, не могли получить плановую вакцинацию против кори (в Беларуси вакцинация введена с 1967 г., ревакцинация — с 1987 г.). Из остальных 9 пациентов



Распределение заболевших корью по возрасту

без данных о прививках в соответствии с национальным календарем прививок 6 могли получить 1 дозу вакцины, 3 человека — 2 дозы. Исследование авидности IgG-антител подтвердило проведенную ранее вакцинацию против кори у 4 из них, в дальнейшем эти лица рассматривались в группе привитых, заболевших корью. Таким образом, данную группу составил 31 заболевший.

Специфические IgM-антитела в 1-м образце крови обнаружены у 20 (64,5%) ранее привитых лиц (таблица). У остальных 11 больных данные IgM-антитела отсутствовали либо значения оптической плотности являлись пограничными между отрицательными и положительными (то есть попадали в так называемую серую зону). У 8 лиц забор крови осуществили на 1—3-й день с момента появления сыпи, и отсутствие IgM-антител, возможно, было связано с ранними сроками забора материала. Для уточнения диагноза у всех 11 пациентов проведен повторный забор сыворотки крови. При исследовании 2-го образца IgM-антитела выявлены у 1 больного, у 10 (32,2%) они по-прежнему не определялись либо значения оптической плотности оставались пограничными.

Клинические проявления и диагностические маркеры кори у привитых лиц

Показатель	Количество обследованных лиц	Количество положительных лиц абс. (%)
Специфические IgM-антитела	31	20 (64,5)
Сероконверсия или нарастание концентрации IgG-антител	10	6 (60,0)
Выделение вируса кори	18	7 (38,9)
Повышение температуры тела	26	26 (100)
Кашель	26	25 (96,2)
Макулопапулезная сыпь	26	24 (92,3)
Этапность появления сыпи	24	18 (75,0)
Пигментация	24	19 (79,2)
Пятна Коплика	26	15 (57,7)
Энантема на небе	26	20 (76,9)

При исследовании парных сывороток крови на наличие IgG-антител у 10 пациентов выявлена сероконверсия (отсутствие антител в 1-й сыворотке крови и их появление во 2-й) либо диагностически значимое увеличение содержания антител — у 6 (60,0%) больных, что явилось лабораторным критерием подтверждения предполагаемого клинического диагноза кори. Сероконверсию удалось определить у 2 лиц, когда 1-я сыворотка была взята в день начала заболевания, и у 1 больного — на 2-й день с момента появления сыпи. Достоверное увеличение концентрации антител также удавалось выявить только при заборе 1-й сыворотки не позднее 4 дней от начала появления сыпи.

Проведенное исследование авидности IgG-антител показало, что в 10 случаях из 11 антитела имели высокую авидность. Это подтверждает информа-

цию о ранее проведенной вакцинации против кори у этих лиц.

Вирусологическое исследование гепаринизированной крови, забранной с 1-го по 5-й день от начала клинических проявлений заболевания, позволило выделить вирус кори у 7 из 18 обследованных, ранее привитых, в том числе у одной больной без IgM-антител в сыворотке крови.

Анализ клинической картины кори у 26 ранее привитых лиц, госпитализированных в стационар, показал, что ни в одном случае не отмечалось тяжелое течение заболевания. У 15 (68,2%) пациентов наблюдалось состояние средней степени тяжести, у 7 (31,8%) — легкой.

Заболевание сопровождалось повышением температуры тела у всех обследованных: у 7 (26,9%) — 37—38°C, у 14 (53,8%) — 38—39°C и у 5 (19,2%) — выше 39°C.

Сухой кашель наблюдался у 25 (96,2%) из 26 пациентов, конъюнктивит развился только у 5 (19,2%).

Появление сыпи отмечено у 24 (92,3%) больных. Во всех случаях она имела типичный макулопапулезный характер, сохранялась от 2 до 4 дней (у 5 человек — 2, у 9 — 3, у 10 — 4 дня). Характерная для кори четкая этапность появления сыпи отмечена только у 18 (75,0%) из 24 ранее привитых лиц. У 6 пациентов сыпь появилась одновременно на лице, шее, верхних конечностях, животе, но так и не возникла на нижних конечностях. После ее исчезновения у 19 (79,2%) больных отмечалась пигментация, в том числе у 8 — с последующим шелушением.

У 2 человек, заболевших на 12-й день после контакта с больным корью, сыпь отсутствовала. Клиническим проявлением кори у этих лиц было повышение температуры тела и сухой кашель. Лихорадка сохранялась 3—5 дней и не превышала 39°C. В обоих случаях диагноз лабораторно подтвержден выявлением сероконверсии IgG, в 1 случае — выделением вируса заболевания из мононуклеаров периферической крови.

Характерные для кори пятна Коплика на слизистой оболочке щек отмечены у 15 (57,7%) обследованных, энантема на мягком небе — у 20 (76,9%).

Ни у одного из привитых заболевших не выявлено осложнений. У 1 пациента среди клинических проявлений кори отмечался реактивный гепатит (транзиторная гиперферментемия — повышенный уровень АЛТ, АСТ).

Общеинтоксикационный синдром наблюдался у всех обследованных и был слабо или умеренно выражен.

При низком уровне заболеваемости корью клиническая диагностика этой инфекции имеет низкое положительное прогностическое значение, поскольку многие другие болезни (парвовирусная инфекция, краснуха и др.) могут сопровождаться сыпью, напоминающей корь [9]. Поэтому для постановки диагноза требуется лабораторное подтверждение.

В соответствии с критериями ВОЗ основным методом подтверждения диагноза кори является выявление IgM-антител в сыворотке крови с 4-го по 28-й

день от появления сыпи [1, 9]. Подтвердить диагноз можно и по достоверному увеличению содержания указанных антител. Для этого необходимо исследовать минимум 2 сыворотки крови, забранные с интервалом не менее 10 дней: 1-я — в острый период заболевания, 2-я — в период реконвалесценции. Поскольку этот метод требует забора и исследования 2 образцов сыворотки крови и результат может быть получен только через 2—3 нед от начала заболевания, в последнее время его редко применяют. В диагностических целях можно выявлять РНК вируса кори в клиническом материале (носоглоточный соскоб, моча, гепаринизированная кровь) либо выделять вирус заболевания из клинического материала в культуре клеток. Учитывая трудоемкость последнего метода с последующим молекулярно-генетическим изучением вируса, это исследование проводится в большей степени не в диагностических целях, а для молекулярной эпидемиологии — определение генотипа вируса и путей его трансмиссии, установление его происхождения и т. д.

Проведенное обследование 31 человека, ранее однократно или двукратно вакцинированных против кори и заболевших во время локальной вспышки инфекции, показало, что лабораторно подтвердить диагноз с помощью выявления IgM-антител удалось только у 20 (64,5%) пациентов. Очень важными являются сроки забора материала. Отсутствие IgM-антител в сыворотке крови, взятой ранее 4 дней от появления сыпи, не исключает диагноз кори [6]. Однако, как показали проведенные исследования, у 35,5% привитых, заболевших корью, IgM-антитела в сыворотке крови не появились или определялись их пограничные значения. Следовательно, для таких пациентов данный метод не обладает столь высокой чувствительностью, как у невакцинированных.

Для диагностики кори у привитых лиц определение сероконверсии или увеличения концентрации IgG-антител в парных сыворотках крови также является затруднительным, поскольку в ответ на повторную встречу с вирусом может происходить очень быстрое образование специфических IgG-антител (за счет реализации вторичного типа иммунного ответа), что приводит к достаточно высокому их содержанию уже в 1-й сыворотке крови. Термин «четырёхкратное нарастание титров антител», получивший широкое применение в гемагглютинирующих тестах, оказывается практически неприменимым при исследовании образцов в современных иммуноферментных тест-системах, позволяющих определять не титр антител, а их концентрацию, выраженную в международных единицах. Диагностическое значение имеет статистически значимое увеличение содержания антител.

Выделение вируса кори или обнаружение его РНК в клиническом материале с помощью ПЦР не относится к основным диагностическим методам, однако для подтверждения диагноза у привитых лиц значение этих методов возрастает. В данном исследовании удалось выделить вирус кори у заболевших при отсутствии одного из основных клинических симптомов — макулопапулезной сыпи, а также без специ-

фических IgM-антител. Учитывая чрезвычайно высокую контагиозность вируса, полученные результаты свидетельствуют, что больные со стертой клинической картиной могут являться источником инфекции для окружающих.

Обнаружение вируса кори с последующим его молекулярно-генетическим изучением также играет чрезвычайно важную роль в дифференциации поствакцинального заболевания и инфекции, вызванной диким вирусом, поскольку серологические исследования не позволяют различить иммунный ответ на вакцинацию и натуральную инфекцию.

Диагностика кори у привитых в целом является сложной задачей и по той причине, что клиническая картина у них не всегда соответствует стандартному определению заболевания. Как известно, корь характеризуется такими симптомами, как обильная макулопапулезная сыпь на протяжении 3 и более дней, лихорадка 38°C и выше, кашель, насморк и конъюнктивит. О клиническом диагнозе свидетельствуют также пятна Коплика и распространение сыпи с головы на туловище и далее на конечности. В настоящем исследовании у 26,9% привитых заболевших лихорадка не достигала 38°C, у 7,7% заболевание протекало без сыпи, у 20,8% она сохранялась только 2 дня, характерной для кори четкой этапности появления сыпи не отмечено у 25,0% пациентов, пятна Коплика на слизистой оболочке щек отсутствовали у 42,3% заболевших, энантема на небе — у 23,1%, после исчезновения сыпи у 20,8% обследованных пигментации не отмечалась. Общепринятый синдром у данной категории пациентов носил менее выраженный характер.

Известно, что в невакцинированной популяции корь является достаточно тяжелой инфекцией, приводящей к осложнениям и даже летальным исходам. Среди обследованных 26 заболевших не зарегистрировано ни одного случая тяжелого течения кори.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что вследствие первичных либо вторичных поствакцинальных «неудач» среди ранее привитых лиц могут оставаться восприимчивые к кори. Причины этого могут быть разные. Но основная из них, видимо, кроется в термолабильности вируса. Малейшее несоблюдение условий холодной цепи при транспортировке и хранении живой коревой вакцины может привести к снижению ее активности. У лиц, привитых такой вакциной, напряженность и продолжительность сохранения иммунитета существенно снижаются, что не исключает возможность инфицирования при контакте с больным корью. Однако, поскольку анамнестические поствакцинальные антитела у привитых лиц в той или иной степени сохраняются, даже при развитии заболевания клиническая картина характеризуется более легким течением в сравнении с классическим течением у непривитых. Лабораторная диагностика кори у привитых также представляет большие сложности в сравнении с диагностикой классической кори. В некоторых случаях для лабораторной верификации диагноза требуется широкий арсенал диагностических методов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по лабораторной диагностике кори.— ВОЗ, 2009.
2. Самойлович Е. О., Свирчевская Е. Ю., Шиманович В. П. и др. // *Здравоохранение*.— 2007.— № 11.— С. 37—41.
3. Самойлович Е. О., Ананичкова Н. М., Свирчевская Е. Ю. и др. // *Здравоохранение*.— 2006.— № 11.— С. 22—25.
4. Progress Toward Elimination of Measles and Prevention of Congenital Rubella Infection.— European Region, 1990—2004 // *MMWR*.— 2005.— Vol. 54, № 7.— P. 175—178.
5. Progress Toward Measles Elimination — European Region, 2005—2008 // *MMWR*.— 2009.— Vol. 58, № 6.— P.142—145.
6. Helfand R. F., Heath J. H., Anderson L. J., et al. // *J. Infect. Dis.*— 1997.— Vol. 175.— P. 195—199.
7. Kreidl P. // *Euro Surveill.*— 2011.— Vol. 16 (Iss. 28, pii=19918).
8. Samoilovich E. O., Yermalovich M. A., Semeiko G. V., et al. // *Euro Surveill.*— 2006.— Vol. 11 (Iss. 30:E060727.3).
9. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region.— World Health Organization, 2010.

SPECIFIC CLINICAL FEATURES AND LABORATORY DIAGNOSIS OF MEASLES IN VACCINATED PERSONS

E. O. Samoilovich, E. O. Svirchevskaya, O. E. Yelin, L. I. Zgurskaya, M. V. Kachkan, G. V. Semeiko, M. A. Yermolovich, A. V. Galenchik, T. A. Mamayeva

Objective. To determine specific features of measles clinical course and laboratory diagnosis in vaccinated persons.

Materials and methods. In May — July 2011 the measles diagnosis was confirmed by laboratory assays in 44 patients applying one of the

following methods: IgM antibodies detection in blood serum or plasma, IgG antibodies level increase determination in coupled serum samples, virus of measles isolation from peripheral blood mononuclear cells. Among the persons assayed 31 subjects had been vaccinated earlier. **Results.** The measles laboratory diagnosis had specific features in the vaccinated persons. IgM antibodies were determined in the blood serum of twenty (64.5%) patients. Seroconversion or the IgG antibodies concentration increase was registered in six (60.0%) of ten persons assayed. Measles virus was isolated in seven (38.9%) of eighteen persons assayed. The clinical course of the disease in the vaccinated persons corresponded to the measles standard definition not always. In 26.9% of patients the fever was lower 38°C, in 7.7% of those persons infection was not accompanied by rash, in 20.8% of sick subjects rash had been observed only for two days, rash did not develop step-by-step in 25.0% of patients, no pigmentation was found in 20.8% of patients after the rash resolution, no Koplick's macules were present on the cheeks' mucous membranes of 42.3% of persons having fallen ill. The general intoxication syndrome was not evident in that category of patients.

Conclusion. In result of primary or secondary post-vaccination failures some persons among those vaccinated can remain susceptible to measles virus. The clinical course of the disease in the vaccinated persons is characterized as mild and lacking complications. The measles is not easy to diagnose in those persons by the laboratory values, a large number of diagnostic methods is necessary for the diagnosis verification.

Key words: measles, vaccination, clinical features, diagnosis.

Адрес для корреспонденции:

Самойлович Елена Олеговна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 263-85-65.

А. М. ДАШКЕВИЧ, Л. П. ТИТОВ, Г. М. ИГНАТЬЕВ,
В. В. ФРАНЧУК

БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ВАКЦИНЫ «ФЛЮВАКСИН» ПРИ
ИММУНИЗАЦИИ ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава
Республики Беларусь, Военно-медицинское управление
Министерства обороны Республики Беларусь

Цель исследования. Оценить реактогенность, иммунологическую и эпидемиологическую эффективность противогриппозной вакцины «Флюваксин» при иммунизации группы добровольцев из числа военнослужащих.

Материал и методы. В исследовании участвовали 50 военнослужащих в возрасте от 18 до 25 лет. Материалом для изучения противогриппозного иммунитета служили пробы крови (сыворотка) добровольцев, взятые до вакцинации и через 28±7 дней после прививки. Анализ реактогенности вакцины проводили на основании данных учетно-аналитической информации. Продукцию противогриппозных антител в ответ на введение вакцины оценивали путем титрования сывороток в реакции торможения гемагглютинации. Иммуногенность вакцины определяли в соответствии с требованиями Европейского комитета готовых лекарственных средств к противогриппозным вакцинам (CPMP/BWP/214/96). Вариационный анализ полученных результатов проводили с применением пакета прикладных программ «SPSS».

Результаты. Анализ реактогенности препарата «Флюваксин» показал, что у 16 (35,56±7,14%) вакцинированных были зарегистрированы местные и общие реакции (относятся к нормальным реакциям слабой степени выраженности), которые исчезали самостоятельно в течение 2—4 дней и не оказывали существенного влияния на общее состояние военнослужащих.

Наибольшая иммуногенность флюваксина отмечалась в отношении вирусов гриппа А(H1N1) и В, в меньшей степени — А(H3N2). В целом оценка иммунологической эффективности свидетельствует о том, что вакцина обладает достаточной иммуногенной активностью, причем сила иммунного ответа выше у лиц с исходно низкими титрами антител.

В течение 6 мес после вакцинации случаи гриппа среди добровольцев не регистрировались, симптомы острой респираторной инфекции отмечались у 2 военнослужащих.

Заключение. Вакцина для профилактики гриппа «Флюваксин» обладает слабой реактогенностью, имеет высокий уровень безопасности и хорошо переносится привитыми. Препарат обладает достаточной иммуногенной активностью, после вакцинации повышается уровень специфического протективного иммунитета.

Ключевые слова: грипп, вакцина «Флюваксин», реактогенность, иммуногенность, эффективность вакцинации.

Острые респираторные инфекции (ОРИ) верхних дыхательных путей и грипп по частоте лидируют среди инфекционных заболеваний, регистрируемых в воинских подразделениях. Проведение вакцинопрофилактики у личного состава вооруженных сил в предэпидемический период наряду с другими противо-

эпидемическими мероприятиями позволяет существенно снизить уровень заболеваемости гриппом и ОРВИ [1].

Для специфической профилактики в настоящее время применяются живые и инактивированные вакцины, которые в свою очередь могут быть трех типов: цельновирионные, расщепленные (сплит-вакцины) и субъединичные [1, 2].

В целом каждая из современных противогриппозных вакцин обладает своими достоинствами и может использоваться для профилактики гриппа у определенных возрастных категорий населения с учетом сопутствующих хронических заболеваний и физиологического состояния организма. Военнослужащие являются с этой точки зрения уникальной когортой, так как составляют практически гомогенную по возрасту, полу, характеру питания, количеству потребляемых калорий, ежедневной физической нагрузке группу. Кроме того, иммунная система молодых людей достигла зрелости и находится на пике функциональных возможностей: способна эффективно отражать «атаки» инфекционных агентов и развивать специфический иммунный ответ на вакцинацию [3].

Основными иммунобиологическими характеристиками вакцинных препаратов являются безопасность (реактогенность), иммуногенность и протективность [4]. Реактогенность (нежелательные реакции организма человека на введение вакцин) определяется частотой возникновения местных и системных реакций, которые являются отражением вакцинального процесса и существенно не влияют на иммунологическую эффективность вакцинации. По признанию специалистов, вакцины против сезонного гриппа являются наиболее безопасными: постпрививочные осложнения регистрируются крайне редко [5].

Иммуногенность вакцинных препаратов рассматривается как их способность индуцировать развитие системного противогриппозного иммунного ответа достаточной силы [3, 4]. Формирование противогриппозного гуморального иммунитета в ответ на введение вакцины, также как и при естественной гриппозной инфекции, связано с адекватной продукцией антител к антигенам поверхностных гликопротеинов вируса гриппа — гемагглютинину и нейраминидазе. Обладая рецепторсвязывающей активностью, гемагглютинин вируса гриппа обеспечивает прикрепление возбудителя к эпителиальным клеткам макроорганизма с последующим проникновением в цитоплазму эпителиоцитов. Антитела к гемагглютину (анти-ГА) блокируют взаимодействие возбудителя с мембранными рецепторами клеток-мишеней и тем самым нейтрализуют инфекционность вирионов. Благодаря этому повышается специфическая резистентность организма к вирусам гриппа, содержащим идентичный или близкородственный гемагглютинин. В свою очередь, антитела к нейраминидазе (анти-НА) нейтрализуют ее действие [7]. В формировании противовирусного гуморального иммунитета различают первичный и вторичный ответ. В первом случае иммунная система индивидуума отвечает выработкой низкоаффинных антител к поверхностным антигенам вирионов, которые принадлежат

к классу М. Вторичный гуморальный иммунный противовирусный ответ характеризуется продукцией высокоаффинных в отношении вирусных антигенов антител, принадлежащих преимущественно к классам G и A, которые обладают выраженной вируснейтрализующей активностью [5, 8]. Протективный эффект анти-ГА и анти-НА зависит от их концентрации и длительности циркуляции в крови. Установлено, что при содержании данных антител в сыворотке крови в титрах 1:40 и выше число новых случаев инфекции с клиническими проявлениями заболевания, развитие тяжелых форм заболевания и летальности в группах риска значительно снижается, что и определяет профилактическую эффективность ежегодно проводимой в коллективах вакцинации [5, 7].

Цель настоящего исследования — оценка реактогенности, иммунологической и эпидемиологической эффективности противогриппозной вакцины «Флюваксин» при иммунизации военнослужащих.

Материал и методы

Группа исследования была сформирована на добровольной основе из числа военнослужащих Минска (50 человек в возрасте от 18 до 25 лет; средний возраст $20,4 \pm 1,6$ года).

В предэпидемический период 2010—2011 гг. для профилактической вакцинации в Беларуси впервые применялась вакцина «Флюваксин» (Changchun Changsheng Life Sciences Ltd., Китай). Флюваксин — инактивированная расщепленная вакцина, зарегистрированная впервые в Китае в 2004 г. За период 2004—2009 гг. в мире использовано более 15 млн доз данного препарата. В одной дозе вакцины содержится по 15 мкг гемагглютинаина вируса каждого из рекомендованных в 2010 г. Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) штаммов вируса: подобный пандемическому вирусу A/California/7/2009(H1N1), A/Perth/16/2009(H3N2), B/Brisbane/60/2008, а также следы консерванта (тиомерсал) [3].

С целью повышения достоверности результатов разработана учетно-аналитическая документация (карта участника проекта), в которой содержались следующие сведения: наличие/отсутствие сопутствующей патологии; переносимость вакцины (в течение 5 дней после прививки); данные о респираторной заболеваемости (период с октября 2010 г. по март 2011 г.).

Материалом для исследования специфического противогриппозного иммунитета служили пробы крови (сыворотка) добровольцев, забранные до вакцинации и через 28 дней (отклонение — ± 7 дней) после прививки (тестировали одновременно). Сыворотки были зашифрованы, хранились в замороженном состоянии при температуре -20°C до проведения исследования.

Учитывали следующие проявления местной реакции: болезненность, покраснение и припухлость в месте прививки. Общую реакцию организма оценивали на основании данных о температуре тела (повышение до $37,5^\circ\text{C}$ включительно служило показателем слабой общей реакции, от $37,6$ до $38,5^\circ\text{C}$ — средней, от $38,6^\circ\text{C}$ и выше — сильной), характере нарушений

общего состояния привитых (общее недомогание, головная боль) и симптомов, патогенетических для гриппозной инфекции (катаральные явления).

Продукцию противогриппозных антител в ответ на введение вакцины оценивали в лаборатории гриппа и гриппоподобных заболеваний РНПЦ эпидемиологии и микробиологии путем титрования сывороток в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с применением 0,75% суспензии эритроцитов 0 (I) группы крови человека в соответствии с методикой, рекомендованной ВОЗ [9, 13]. Для удаления неспецифических ингибиторов образцы обрабатывали нейраминидазой нехолерных вибрионов и прогревали при 56°C в течение 30 мин. В реакции использовали эпидемические штаммы вирусов гриппа, выделенные в республике в 2009 г.: А/Минск/42/09(Н1N1-р), А/Минск/229/09(Н3N2), В/Минск/119/09. Титр специфических противогриппозных антител считали равным наибольшему разведению сыворотки, в котором наблюдалось полное ингибирование гемагглютинации. В качестве защитного считали титр в РТГА 1:40 и выше. Для вычисления среднегеометрических титров (СГТ) титр менее 1:10 принимали равным 1:5.

Иммуногенность вакцины оценивали в соответствии с требованиями Европейского комитета готовых лекарственных средств к противогриппозным вакцинам (СРМР/ВВР/214/96) [14], согласно которым при иммунизации препаратом должен достигаться по крайней мере один из трех критериев: 1) сероконверсия (число диагностических приростов титров антител (в 4 и более раза) по сравнению с фоновой сывороткой) — не менее 40%; 2) кратность нарастания среднегеометрических титров антител — не менее чем в 2,5 раза в сравнении с фоновой сывороткой; 3) серопротекция (процент лиц с защитными титрами специфических антител) — не менее 70%.

Анализ заболеваемости гриппом и ОРВИ проводили на основании данных учетно-аналитической информации.

Результаты исследований обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента, при отсутствии нормального распределения — с помощью непараметрических критериев. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$. Вариационный анализ полученных результатов проводили с применением пакета прикладных программ «SPSS».

Результаты и обсуждение

Оценка реактогенности вакцины. Наблюдение за характером местных и общих реакций на введение вакцины проводилось в течение 5 дней после прививки у 45 военнослужащих. Из исследования были исключены 5 человек в связи с комиссованием либо переводом для дальнейшего прохождения службы в другие воинские части. По данным литературы, число привитых, у которых возможны реакции, различается для вакцинных препаратов разных поколений, и составляет в среднем 15—50% [6].

Оценка реактогенности препарата «Флюваксин» показала, что у 16 (35,56±7,14%) вакцинированных зарегистрированы местные и общие реакции слабой

степени выраженности (рис. 1), которые исчезали самостоятельно в течение 2—4 дней и не оказывали существенного влияния на общее состояние военнослужащих.

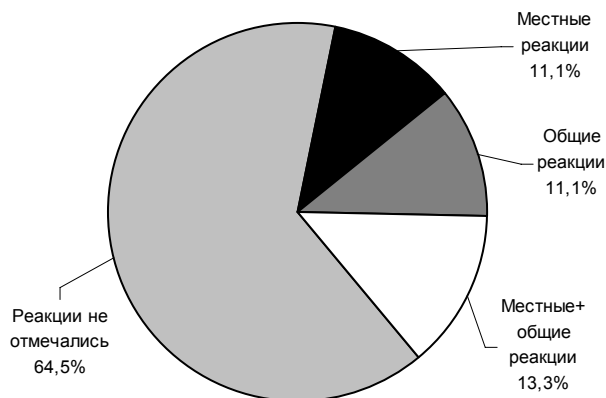


Рис. 1. Частота местных и общих реакций у добровольцев на введение вакцины «Флюваксин»

По характеру предъявляемых жалоб наиболее частой местной реакцией была болезненность в месте инъекции, общей — повышение температуры тела до 37,5°C и головная боль.

Проведенный анализ анкетных данных показал, что флюваксин является слабореактогенным препаратом, демонстрирует высокий уровень безопасности, хорошо переносится привитыми: выраженные местные и общие реакции и поствакцинальные осложнения среди лиц, участвующих в исследовании, не регистрировались.

Оценка иммунологической эффективности.

При исследовании образцов сывороток крови, забранных до введения вакцины, специфические антитела в защитных титрах к штамму вируса гриппа А(Н1N1) были выявлены у 46%, А(Н3N2) — у 26% и В — у 12% военнослужащих. В большинстве случаев регистрировали пороговый защитный уровень (1:40), хотя у некоторых из добровольцев уровень антител к разным типам вируса гриппа достигал титров 1:160 и даже 1:640. Относительно высокий процент иммунных лиц к вирусу гриппа А(Н1N1), вероятно, можно объяснить его предшествующей интенсивной циркуляцией в предыдущем году.

После иммунизации доля лиц с защитным титром противогриппозных антител увеличилась на 30—34% ($P < 0,05$) (рис. 2).

Таким образом, наибольшая иммуногенность вакцины «Флюваксин» по уровню серопротекции отмечена в отношении вируса гриппа А(Н1N1).

Сравнительная оценка частоты сероконверсий и кратности нарастания титров антител в целом среди военнослужащих и исходно «неиммунных» лиц, у которых титр антител был ниже защитного уровня, показала, что уровень сероконверсии в целом среди вакцинированных добровольцев к подтипу вируса гриппа А(Н1N1) составил 50%, А(Н3N2) — 32%, В — 44%.

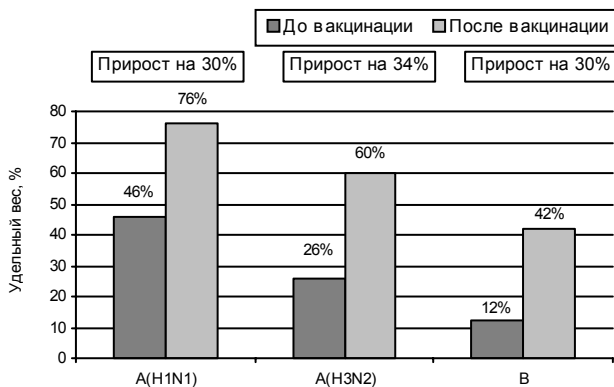


Рис. 2. Сравнительная характеристика интенсивности иммунного ответа на антигенные компоненты разных вирусов гриппа вакцины «Флюваксин» (удельный вес лиц с защитным титром до и после вакцинации)

Данные о кратности прироста среднегеометрических титров антител между пробами сывороток, взятых до и после вакцинации, представлены в табл. 1.

При анализе показателей специфического иммунитета среди условно «неиммунных» лиц (исходный титр антител $\leq 1:20$) (табл. 2) выявлено, что частота сероконверсий и кратность нарастания СГТ антител были немного выше по сравнению с таковыми в целом среди вакцинированных добровольцев.

Хотя полученные различия не являются статистически достоверными ($P > 0,05$), нельзя исключать тот факт, что уже имеющийся до вакцинации иммунитет может тормозить развитие иммунного ответа на введенную дозу препарата. Однако иммунизация лиц с предшествующим уровнем иммунитета также целесообразна, так как в результате происходит быстрый запуск сохранившихся в организме клеток памяти иммунной системы для синтеза новых антител и таким образом поддерживает и повышает защитный титр антител [10, 11].

Полученные результаты отличаются от данных регистрационных клинических испытаний вакцины «Флюваксин» в РФ в 2007 г., согласно которым час-

тота 4-кратного прироста антител к вакцинным штаммам составила 85,7—100% (по данным исследования — 43,2—89,3%), а доля лиц с защитным титром после вакцинации увеличилась в отношении 3 вакцинных типов вирусов на 93—100% (в нашем случае — на 28—34%) [3].

Исход вирусной инфекции для индивидуума на уровне чувствительных клеток и организма в целом обусловлен множеством факторов иммунной и неиммунной природы, механизмами неспецифической, специфической и комплексной природы. Индивидуальные особенности организма, базирующиеся на факторах генетической и гуморальной регуляции иммунного ответа, определяют его характер, темпы и силу на внедрившийся инфекционный агент или инъекцию вакцинного препарата. Важное значение в этом имеет период, предшествующий иммунизации пациента вакциной, наличие контакта с этим или близкородственным агентом, циркуляция в крови специфических к антигенным компонентам вакцины антител, наличие пула клеток памяти (В- и Т-лимфоциты) [4, 8]. Полученные данные о различиях в интенсивности продукции противовирусных антител и кратности их прироста среди военнослужащих, у которых до иммунизации были выявлены антитела в защитном титре и среди «неиммунных» лиц, в целом согласуются с общими закономерностями функционирования иммунной системы и ее способности к ограничению параметров иммунного ответа посредством регуляторных механизмов [4, 8, 12].

Таким образом, по результатам исследования наибольшая иммуногенность вакцины «Флюваксин» отмечена в отношении вирусов гриппа А(H1N1) и В; в меньшей степени антигенная активность проявлялась к гриппу А(H3N2). В целом оценка иммунологической эффективности свидетельствует о том, что флюваксин обладает достаточной иммуногенной активностью. Причем сила иммунного ответа несколько выше у лиц с исходно низкими титрами антител.

Эпидемиологическая эффективность вакцинации. В структуре заболеваемости военнослужащих

Таблица 1

Сероконверсия и кратность нарастания титров антител среди вакцинированных добровольцев (независимо от исходного уровня антител)

Штамм	Число лиц, участвующих в исследовании	Из них с 4-кратным (и выше) приростом, абс. (%)	СГТ антител, \log_2		Кратность нарастания титров антител
			до вакцинации	после вакцинации	
A(H1N1)	50	25 (50±7,14)	4,8	6,3*	1,3
A(H3N2)	50	16 (32±9,77)	4,1	4,8*	1,2
B	50	22 (44±7,09)	3,3	4,4*	1,3

*Здесь и в табл. 2 достоверность различий показателей в сравнении с исходными титрами, $P < 0,05$.

Таблица 2

Сероконверсия и кратность нарастания титров антител у исходно «неиммунных» лиц

Штамм	Число лиц с исходным титром антител $\leq 1:20$	Из них с 4-кратным (и выше) приростом, абс. (%)	СГТ антител, \log_2		Кратность нарастания титров антител
			до вакцинации	после вакцинации	
A(H1N1)	27	16 (59,3±9,64)	3,4	5,6*	1,6
A(H3N2)	37	16 (43,2±8,26)	3,6	4,8*	1,3
B	44	21 (47,7±7,62)	2,9	4,3*	1,5

болезни органов дыхания ежегодно занимают от 29,5 до 46,5%, более 75% случаев приходится на ОРИ верхних дыхательных путей и грипп. Анализ показал, что в течение 5 лет заболеваемость гриппом по годам распределялась неравномерно: 769,9 случая на 1000 военнослужащих в 2005 г., 216,3 — в 2010 г. Наблюдается умеренная тенденция к снижению заболеваемости ОРИ и гриппом, темп снижения составил 9,1 ($P < 0,05$) (рис. 3).



Рис. 3. Многолетняя динамика заболеваемости острыми респираторными инфекциями среди военнослужащих и в целом среди населения Минска за период с 2005 по 2010 г.

Суммарная заболеваемость ОРИ и гриппом за анализируемый период времени среди военнослужащих ниже, чем в целом среди населения Минска. Это можно считать косвенным подтверждением эпидемиологической эффективности вакцинопрофилактики, так как достигаемый в настоящее время высокий уровень охвата иммунизацией против гриппа в воинских частях позволяет не только защитить каждого вакцинированного, но и создать коллективный иммунитет, при котором возможность инфицирования непривитых лиц резко снижается. К сожалению, вакцинировать ежегодно 70—80% населения города сегодня не представляется возможным.

Ретроспективный анализ заболеваемости ОРИ и гриппом показал, что в течение 6 мес после вакцинации случаи гриппа среди лиц, участвующих в исследовании, не регистрировали, симптомы ОРИ отмечали у 2 (4,4±3,1%) военнослужащих.

Таким образом, оценка заболеваемости военнослужащих ОРИ продемонстрировала хорошие показатели профилактической эффективности вакцины. Отсутствие случаев гриппа среди вакцинированных добровольцев и низкий уровень заболеваемости острыми респираторными инфекциями подтверждают, что иммунизация препаратом «Флюваксин» способствует повышению уровня специфического иммунитета и формированию иммунной прослойки, способной снизить интенсивность циркуляции вирусов гриппа.

Выводы

1. Вакцина «Флюваксин» обладает слабой реактогенностью, имеет высокий уровень безопасности и хорошо переносится привитыми (выраженных местных и общих реакций и поствакцинальных осложнений не наблюдалось).

2. Наибольшая иммуногенность вакцины отмечена в отношении вирусов гриппа А(Н1N1) и В, в меньшей степени — гриппа А(Н3N2). В целом результаты проведенных исследований указывают, что флюваксин обладает достаточной иммуногенной активностью. Сила иммунного ответа выше у лиц с исходно низкими титрами антител (уровень сероконверсий к вирусам гриппа А(Н1N1), А(Н3N2) и В составил 59,3%, 43,2% и 47,7% соответственно).

3. Отсутствие случаев гриппа среди вакцинированных добровольцев, а также низкий уровень заболеваемости острыми респираторными инфекциями свидетельствует о том, что в результате иммунизации препаратом «Флюваксин» существенно повышается уровень специфического протективного противогриппозного иммунитета.

Авторы выражают благодарность зав. лабораторией гриппа и гриппоподобных заболеваний РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Н. В. Грибковой за помощь в проведении исследований и научные консультации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сабанин Ю. В. Вакцинопрофилактика актуальных инфекций в системе противозидемических мероприятий во внутренних войсках МВД Российской Федерации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 2009.
2. Намазова Л. С., Таточенко В. К., Алексина С. Г. и др. // Педиатрич. фармакология.— 2006.— Т. 3, № 5.— С. 48—60.
3. Информационное письмо Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 10-27/20-1040 от 01.09.2010 г. об использовании противогриппозных вакцин.
4. Титов Л. П. Иммунология: терминологический словарь.— М., 2008.
5. Медуницын Н. В. Вакцинология.— М., 2004.
6. Некрасов А. В., Пучкова Н. Г. // Педиатрич. фармакология.— 2009.— Т. 6.— С. 25—29.
7. Заплатников А. Л., Коровина Н. А., Бурцева Е. И. и др. // Иммунология.— 2001.— № 6.— С. 46—49.
8. Титов Л. П., Карпов И. А. // Мед. журн.— 2007.— № 1.— С. 4—14.
9. Инструкция по применению «Комплексная лабораторная диагностика гриппа» Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 121-1210 от 18.01.2011 г.
10. Ольховикова Е. А. и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика.— 2003.— № 3.— С. 42—44.
11. Kunzel W. et al. Вакцинация против гриппа: кинетика гуморальной иммунной реакции на трехвалентную инактивированную расщепленную противогриппозную вакцину людей, ранее привитых и вакцинируемых впервые [Электронный ресурс].— 2011.— Режим доступа: http://www.rmj.ru/articles_1918.htm.— Дата доступа: 15.06.2011.
12. Титов Л. П. // Мед. журн.— 2008.— № 1.— С. 15—33.
13. The 2008—2009 WHO influenza reagent kit for identification of influenza isolates / WHO collaborating center for the surveillance, epidemiology and control of influenza.
14. Note for guidance on harmonization of requirements for influenza vaccines // CPMP/BWP/214/96.

VACCINE FLUVAXIN EFFICIENCY AND SAFETY IN MILITARY MEN IMMUNIZATION

A. M. Dashkevich, L. P. Titov, G. M. Ignatiyev, V. V. Franchuk

Objective. To assess the anti-influenza vaccine Fluvaxin reactogenicity, immunologic and epidemiologic efficiency in immunization of volunteers from the military population.

Materials and methods. Fifty military men aged 18 to 25 years participated in the study. Volunteers' blood (serum) samples taken before the vaccination and 28±7 days after the vaccination served the material for studying anti-influenza immunity. The vaccine reactogenicity was analyzed basing on the data of the analytical information registered. The anti-influenza antibodies production in response to the vaccine administration was assessed in the reaction of hemagglutination inhibition. The vaccine immunogenicity was determined in accordance with the European Committee requirements to official drugs for anti-influenza vaccines (CPMP/BWP/214/96). The ANOVA analysis of the results obtained was carried out applying the SPSS application program package.

Results. The Fluvaxin reactogenicity analysis showed that the local and general reactions registered in 16 (35.56%±7.14%) persons vaccinated should be assessed as mild, they resolved spontaneously within 2—4 days and did not affect markedly the military men general state. The Fluvaxin largest immunogenicity was stated for influenza viruses A(H1N1) and B, and the smaller one — for viruses A(H3N2). Generally, the

immunologic efficiency assessment evidences that the vaccine is immunogenically active enough the immune response being better in persons with the antibodies initially low titers. No influenza was registered among the volunteers for 6 months after the vaccination, symptoms of acute respiratory infection were observed in two military men.

Conclusion. Vaccine Fluvaxin for preventing influenza is characterized by a mild reactogenicity, has a high safety profile and is well tolerated by the vaccinated. The preparation has a sufficient immunogenic activity, the specific protective immunity level increases after vaccination.

Key words: influenza, vaccine, reactogenicity, immunogenicity, vaccination efficiency.

Адрес для корреспонденции:

Титов Леонид Петрович.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 267-69-98.

Е. С. НОСОВА, Л. П. ТИТОВ

ЭНТЕРОГЕМОМОРРАГИЧЕСКИЕ ШТАММЫ *ESCHERICHIA COLI*: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Значимость энтерогеморрагических кишечных палочек (ЭГКП) как этиологических агентов пищевых отравлений возросла в связи со сложившейся неблагоприятной обстановкой в странах Европы, связанной с распространением острой кишечной инфекции, вызванной Escherichia coli O104:H4. Дана подробная биологическая и эпидемиологическая характеристика ЭГКП. Описаны современные методы лабораторной диагностики и контроля качества пищевых продуктов, используемые в клинических микробиологических лабораториях и научно-исследовательских центрах Европы в качестве протоколов для диагностики инфекций, вызываемых ЭГКП. Приведены международные документы и стандарты выявления и идентификации ЭГКП при проведении микробиологического мониторинга выделенных микроорганизмов.

Ключевые слова: энтерогеморрагические штаммы *Escherichia coli*, гемолитико-уремический синдром, *Stx* токсин, методы индикации и идентификации.

Энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЭГКП) — патогенная бактерия, которая вызывает симптомы острого кишечного отравления (диарея или геморрагический колит), осложняющегося формированием гемолитико-уремического синдрома (ГУС). ГУС является причиной острой почечной недостаточности у детей раннего возраста с коэффициентом летальности 3 — 10%, у лиц пожилого возраста может достигать 50%. Интерес к продуцирующим шигатоксин кишечным палочкам возрос в связи с накоплением сведений о вспышках кишечных инфекций, связанных с употреблением в пищу сырых овощей, контаминированных ЭГКП, и мясо-молочной продукции [1—3]. Распространенность инфекций, вызываемых эшерии-

хиями, относительно невысокая. Согласно эпидемиологическим данным центра по профилактике и контролю заболеваний (ECDC), заболеваемость в США составляет 1,2 случая на 100 тыс. населения, в Дании — 3 [1, 4]. Однако высокая инфекционность и тяжесть клинической картины вызываемых заболеваний выделяет эту группу патогенов как наиболее важную в этиологии пищевых инфекций [3].

Характеристика возбудителя (биологические свойства). На основании О-антигена выделяют более 200 серогрупп ЭГКП. Следует отметить, что не все серотипы являются облигатно-патогенными. Около 100 серотипов *Escherichia coli* продуцируют шига-подобный токсин и вызывают кишечные поражения от легких случаев до тяжелых с формированием почечных осложнений [5]. Распространенным и значимым для здравоохранения серологическим вариантом ЭГКП является серовар O157:H7. С 1980 г. ЭГКП O157:H7 была признана в качестве основной причины гемолитико-уремического синдрома [1, 3]. В настоящее время все чаще в качестве этиологических агентов геморрагического колита и ГУС признаются ЭГКП следующих серогрупп: O26, O55, O91, O103, O104, O111, O113, O117, O118, O121, O128, O145, O146 (так называемые не-O157) [6—8]. Некоторые серогруппы патогена вызывают вспышки кишечных инфекций с формированием тяжело протекающих осложнений. В большинстве микробиологических лабораторий скрининг и полную идентификацию ЭГКП не проводят [3, 9].

Эпидемиология. Основным резервуаром ЭГКП является мелкий и крупный рогатый скот, который заражен бессимптомно [1, 10]. Носителями возбудителя также могут быть свиньи, лошади, олени, птицы, собаки и кошки [11]. Выделяя бактерии с фекалиями во внешнюю среду, животные являются основным источником контаминации различных объектов. Заражение людей ЭГКП может происходить при непосредственном контакте на фермах с животными-носителями, их фекалиями. Инфицирование чаще всего происходит при употреблении в пищу недостаточно термически обработанных изделий из говядины, коровьего

42 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

молока, сыра, майонезов, соусов; загрязненных почвой овощей, фруктов и других продуктов [3, 5, 7, 8, 10, 12—14]. Вместе с экскрементами животных *E. coli* могут попадать в почву и поверхностные источники воды, расположенные вблизи ферм, и загрязнять окружающую среду.

В странах Европы и США инфекции, вызываемые ЭГКП, находятся под эпидемиологическим надзором. В Европейском Союзе в 26 странах организованы 32 референс-лаборатории, объединенные в одну сеть расшифровки и изучения вспышек [3]. В 2009 г. в Европе было 3573 сообщения о случаях инфекции, из которых около половины вызваны ЭГКП O157:H7, из них 242 случая с формированием ГУС [3].

Одна из крупнейших в мире вспышек острой кишечной инфекции (ОКИ), вызванных ЭГКП серогруппы O104, произошла в Германии в конце апреля 2011 г. В официальном релизе немецкого Института Р. Коха было указано, что, по предварительным данным микробиологического исследования, резкий подъем заболеваемости ОКИ обусловлен употреблением сырых овощей (помидоров, огурцов или зеленого салата). Возникнув на севере Германии, вспышка быстро распространилась между странами. Кишечная инфекция, вызванная ЭГКП серогруппы O104, была зарегистрирована в Австрии, Дании, Франции, Нидерландах, Норвегии, Испании, Чехии, Греции, Польше, Люксембурге, Швеции, Великобритании и США. При этом большинство заболевших были в Германии или имели контакт с лицами, недавно посетившими ее северную часть. Характерной особенностью клинической картины заболевания явилось формирование тяжелого осложнения в виде ГУС и высокая смертность (таблица). В настоящее время в Германии ежедневно регистрируемое число новых случаев ГУС и инфекции, вызванной ЭГКП O104, стабильно снижается по сравнению с пиковыми значениями, отмеченными

в середине мая. Результаты предварительных исследований показали, что факторами передачи послужили сырые овощи, партии проростков бобовых и пажитника, импортируемые из Египта, источник инфекции активно выясняется.

Патогенность ЭГКП и механизмы патогенеза. Инфекционная доза ЭГКП очень низкая (от 10 до 100 клеток), что резко увеличивает риск возникновения заболевания [3]. Большинство экспертов сходятся во мнении, что патогенность конкретного штамма определяется обязательным наличием 2 специфических генетических мишеней — одного из двух генов *stx1* и *stx2*, ответственных за продукцию цитотоксина, и гена интимина *eae*, облегчающего адгезию на эпителиальных клетках кишечника (рис. 1). Гены, отвечающие за адгезию, локализованы в составе хромосомного острова патогенности (локус адгезии), на плазмиде или фаге. В состав локуса адгезии включены гены адгезии к интимину (*eae*), рецептора к интимину (*tir*), секреторной системы 3-го типа [3, 9, 15].

Главным фактором патогенности энтерогеморрагических эшерихий является цитотоксин, вызывающий цитопатический эффект и гибель *in vitro* перевиваемых культур клеток Vero и HeLa. Вызвать тяжелые кишечные инфекции с формированием осложнений способны штаммы ЭГКП с повышенной продукцией шигаподобных цитотоксинов. Из-за сходства токсина с токсином Шига *S. dysenteriae* его также называют шигаподобным (обозначают Stx, или SLT, или VT). У ЭГКП известны два шигаподобных цитотоксина (Stx1 и Stx2), отличающихся по иммунологическим свойствам. Штамм может продуцировать один (Stx1 или Stx2) или два токсина сразу. Штаммы характеризуются высоким, умеренным и низким уровнем продукции. Способность к токсинообразованию проявляют лизогенные штаммы ЭГКП, инфицированные бактериофагом, несущим ген *stx*, который кодирует продукцию токсина. Гены *stx* локализованы в хромосоме в области профага. Аминокислотная последовательность белков токсинов Stx1 и Stx2 гомологична примерно на 55% [16, 17].

Освобождаясь бактериальной клеткой, токсин связывается с ганглиозидными рецепторами (Gb3) на поверхности клеток кишечника, захватывается комплексом Гольджи, транспортируется в эндоплазматическую сеть. В клетке хозяина токсин Stx инактивирует 60S рРНК путем расщепления N-гликозидных связей. Мишенью для Stx токсина является аминокислота с тРНК, токсин ингибирует удлинение пептидной цепи, блокируя связь аминокислот-тРНК с акцепторному сайту на рРНК. Аналогичные рецепторы присутствуют на эндотелиальных клетках почек и кровеносных сосудов, гладкой мускулатуры, эритроцитах. Эндотоксин ЭГКП, высвобождающийся при лизисе бактериальной клетки, обладает сильным пирогенным эффектом, стимулирует синтез цитокинов, активируя нейтрофилы, эндотелиальные клетки, тромбоциты. Система секреции 3-го типа энтерогеморрагических эшерихий ответственна за транспортировку эффекторных молекул непосредственно из цитоплазмы

Количество микробиологически подтвержденных случаев заболеваний и смертельных исходов, связанных с инфекцией ЭГКП, в странах Европы по состоянию на июль 2011 г.*

Страна	Пациенты ЭГКП с формированием ГУС (смертельный исход)	Пациенты ЭГКП без ГУС (смертельный исход)
Австрия	1 (0)	4 (0)
Чехия	0 (0)	1 (0)
Дания	10 (0)	15 (0)
Франция	0 (0)	3 (0) 2 (0)
Германия	720 (26)	3075 (16)
Греция	0 (0)	1 (0)
Люксембург	1 (0)	1 (0)
Нидерланды	4 (0)	7 (0)
Норвегия	0 (0)	1 (0)
Польша	2 (0)	1 (0)
Испания	1 (0)	1 (0)
Швеция	18 (1)	35 (0)
Великобритания	3 (0)	4 (0)

*Данные Европейского центра по контролю и профилактике заболеваний.

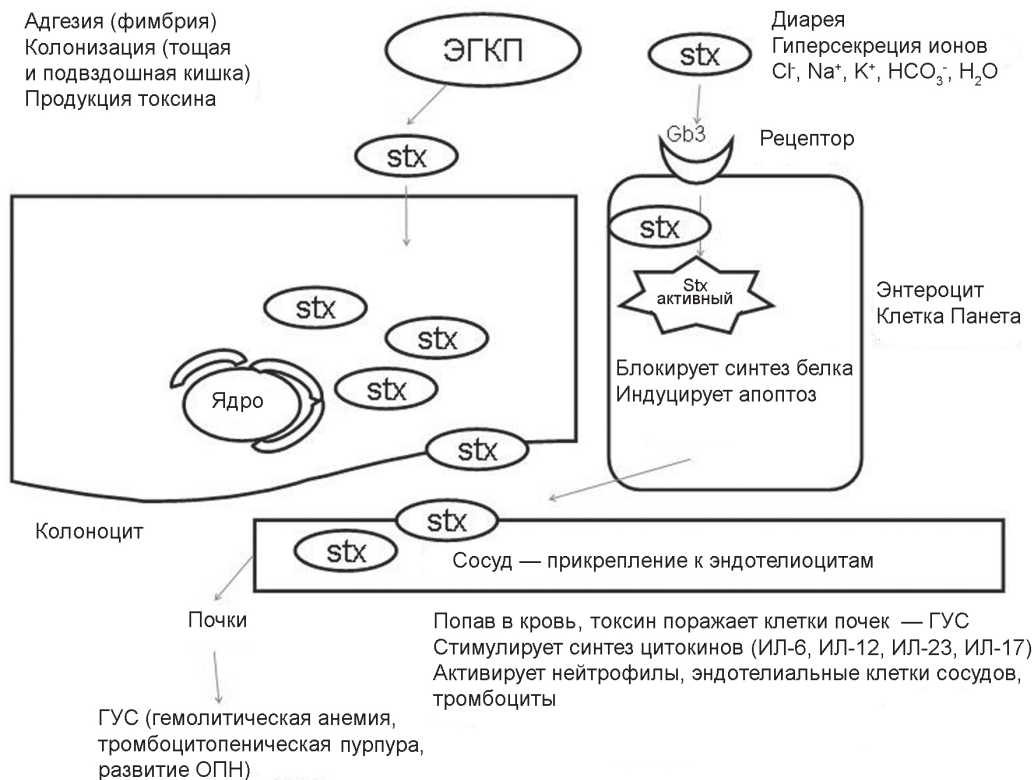


Рис. 1. Патогенез инфекции, вызванной ЭГКП

мы к клеточной поверхности, где они взаимодействуют с клетками макроорганизма и изменяют функционирование их белков таким образом, чтобы способствовать выживанию и репликации бактерии. Секретируемые ЭГКП эффекторные молекулы поражают различные цели, эти системные инфекции могут проявляться различными синдромами.

Высокая способность ЭГКП пенетрировать кишечные эпителиальные клетки позволяет Stx попадать в кровь и прикрепляться к восприимчивым к действию токсина клеткам почек через специфические рецепторы (СВ3), что приводит к формированию ГУС. Большую роль в патогенезе ГУС играют мутации в генах, кодирующих регуляторы системы комплемента — факторов H и I, или мембранного кофактора (MCP или CD46), которые выявляются у 30—50% пациентов [16, 17]. Дефекты в этих белках могут привести к неконтролируемой активации комплемента в результате нарушения регуляции расщепления компонента C3, что способствует генерированию цитоактивных молекул (C3a, C5a и C5b9), повреждающих паренхиму почек и эндотелиальные клетки, и приводит к местному образованию фибринового тромба. Тромбоцитопения и гемолиз возникают в том случае, если очаг микрососудистого тромба обширен. Непрерывающаяся активация комплемента может увеличить риск гнойных инфекций за счет истощения основных компонентов комплемента [16—18].

Клиническая картина. Инкубационный период инфекции, вызванной ЭГКП, колеблется от 3 до 8 дней. На первое место выступает клиника острого гастро-

энтерита. Главные симптомы — кровавый понос и абдоминальные спазмы, часто сопровождающиеся небольшим повышением температуры и рвотой. Понос умеренный, у большинства пациентов выздоровление наступает в течение 5—7 дней. У 15% детей с кишечной инфекцией, вызванной ЭГКП O157, может развиваться ГУС [5, 15]. Этот процент, как правило, значительно ниже среди взрослых пациентов. ГУС является серьезным, а иногда и смертельным осложнением. Для его клинической картины характерны гемолитическая анемия и тромбоцитопения, острая почечная недостаточность.

Тяжесть инфекции, вызванной ЭГКП, определяется несколькими факторами: серотипом *E. coli*, возрастом пациента и инфицирующей дозой [5, 14, 15]. У детей до 5 лет и пожилых людей риск развития ГУС высок.

Методы лабораторной диагностики заболеваний, вызванных ЭГКП, и контроля качества пищевых продуктов. Микробиологическая характеристика штаммов ЭГКП чрезвычайно ценна, так как это позволяет сравнивать изоляты, выделенные из разных источников (человек, животные и продукты питания), а также предоставляет сведения об изменении биологических и генетических свойств возбудителя во времени и на разных географически отдаленных территориях. Молекулярно-генетические методы типирования дают эпидемиологическую информацию для расшифровки передачи и поиска источника инфекции. Для диагностики применяют классические бактериологические, серологические, биохимические,

фаго- и молекулярно-генетические методы индикации, идентификации и типирования.

Биохимическая идентификация — ведущий бактериологический метод в диагностике ЭГКП. Фекалии высевают на селективные и дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий, которые первично морфологически позволяют дифференцировать колонии некоторых серотипов.

Биохимическую идентификацию чистых культур проводят с помощью стандартных наборов. ЭГКП O157:H7 выявить проще, чем другие серогруппы. В отличие от большинства штаммов *E. coli* серотип O157:H7 почти не ферментирует сорбит и отсутствует β-глюкоронидазная активность, поэтому его легко идентифицируют на селективной среде — сорбитоловый агар Мак-Конки, а также среде с добавлением 4-метилумбеллиферил-β-глюкоронида [19—21]. Для выявления ЭГКП серогруппы O26 используют хромогенный агар Мак-Конки с рамнозой. В состав сред для культивирования в качестве селективного агента рекомендуется добавлять теллурид калия и цефалоспорины 3-го поколения цефиксим [3].

Материал, выделенный от животных, образцы продуктов питания и внешней среды содержат небольшое количество ЭГКП, в связи с этим требуется дополнительный этап обогащения. Для этого применяют триптиказо-соевый бульон (для посева продуктов питания) и пептонную воду (фекалии). В состав бульона входят селективные агенты — новобиоцин, ванкомицин, цефсулодны, цефиксим, соли желчных кислот. В настоящее время не существует международной согласованности, в каком температурном режиме (37°C против 42°C) и в течение какого времени (6—8 ч или 18 ч) проводить этап обогащения. Количественный посев для диагностики ЭГКП не осуществляют [3].

Иммуномагнитную сепарацию (ИМС) проводят для повышения эффективности культурального метода и селективного выделения патогенных серогрупп ЭГКП. Применяют технику ИМС с использованием наночастиц, которая представляет собой физический метод селективного обогащения. Коммерчески производят наночастицы для быстрой селективной концентрации и выделения из образцов пищи, кормов и окружающей среды клинического материала *E. coli* эпидемиологически важных серотипов — O157, O145, O111, O103, O26 [7, 8]. Используют парамагнитные полистирольные частицы, с поверхностью которых ковалентно связаны очищенные антитела к различным серогруппам ЭГКП. В ходе инкубации образуется иммунный комплекс — антитела, нанесенные на частицы, специфически связываются с бактериями. Метод ИМС широко применяется в лабораториях всего мира для анализа образцов продовольствия и воды. Он рекомендован как официальный метод Министерством здравоохранения Японии и включен в 8-е Аналитическое бактериологическое руководство США и Канады. В Великобритании опубликована техника ИМС частицами *anti-E. coli* O157 для анализа воды. После ИМС накопленные из материала для исследования ЭГКП высевают на селективные хромогенные среды.

Серотипирование *E. coli* основано на серологических различиях бактерий по O-антигену, липополисахариду наружной мембраны (180 серотипов) и жгучиковому H-антигену (56 серотипов). Серотипирование штаммов *E. coli* осуществляют в реакции агглютинации со специфическими коммерческими антисыворотками, а также в реакции латекс-агглютинации со специфическими латексными диагностикумами. Необходимо признать, что некоторые серогруппы, например O111 и O128, являются разнородными и могут содержать признаки вирулентности, отличные от штаммов ЭГКП. У большинства эшерихий, вызывающих инфекции, существуют комбинации O- и H-антигенов или антигенная формула (например O157:H7, O104:H4, O26:H11, O91:H21).

Серогруппу можно также определить молекулярным серотипированием с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) по определению аллелей гена, кодирующего первичную структуру и синтез O-антигена, например O157, O26, O111, O113 и O145, или H-антигена по гену *fliC* [1, 6].

Оценка продукции цитотоксинов и факторов вирулентности. Для идентификации факторов патогенности ЭГКП используют биологические и иммунохимические методы выявления цитотоксина. Энтерогеморрагические варианты бактерий продуцируют цитотоксин, вызывающий гибель клеток Vero и HeLa *in vitro*. Для иммунохимического выявления продукции веротоксина 1 и 2 в клинических образцах применяют иммунологический метод ИФА. Метод латекс-агглютинации на основе сорбированных O- и H-антител на инертных носителях широко используется в лабораторной практике.

Молекулярно-генетические методы. Для экспресс-идентификации ЭГКП в клиническом материале и продуктах используют методы выявления цитотоксина при проведении гибридизации с олигонуклеотидными зондами для определения генов *stx*. При типировании и субтипировании по гену *stx* (*vtx*) используют ПЦР.

Международные стандарты выявления энтерогеморрагических штаммов *E. coli*. Скандинавский комитет по анализу продуктов (NMKL) и Международная организация по стандартизации (ISO) опубликовали методы, применяемые для микробиологического выделения и идентификации ЭГКП O157 во всех видах продуктов питания и кормах для животных (документы NMKL № 164, 1999 Method for detection of *Escherichia coli* O157 in food and feeding stuffs и ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157) [3]. Вышеуказанные методы используют в странах Европейского Союза в качестве протоколов для диагностики инфекций, вызываемых ЭГКП. Данные протоколы регламентируют использование в качестве среды обогащения триптиказо-соевый бульон с добавлением солей желчных кислот и новобиоцина, время инкубации 6—24 ч при 42°C. После этапа обогащения предписывается выполнять технику ИМС с последующим высевом на селективные среды для получения изолированных колоний. Дополнительно во Франции существует утвержденный Агентством по безопасности продуктов протокол.

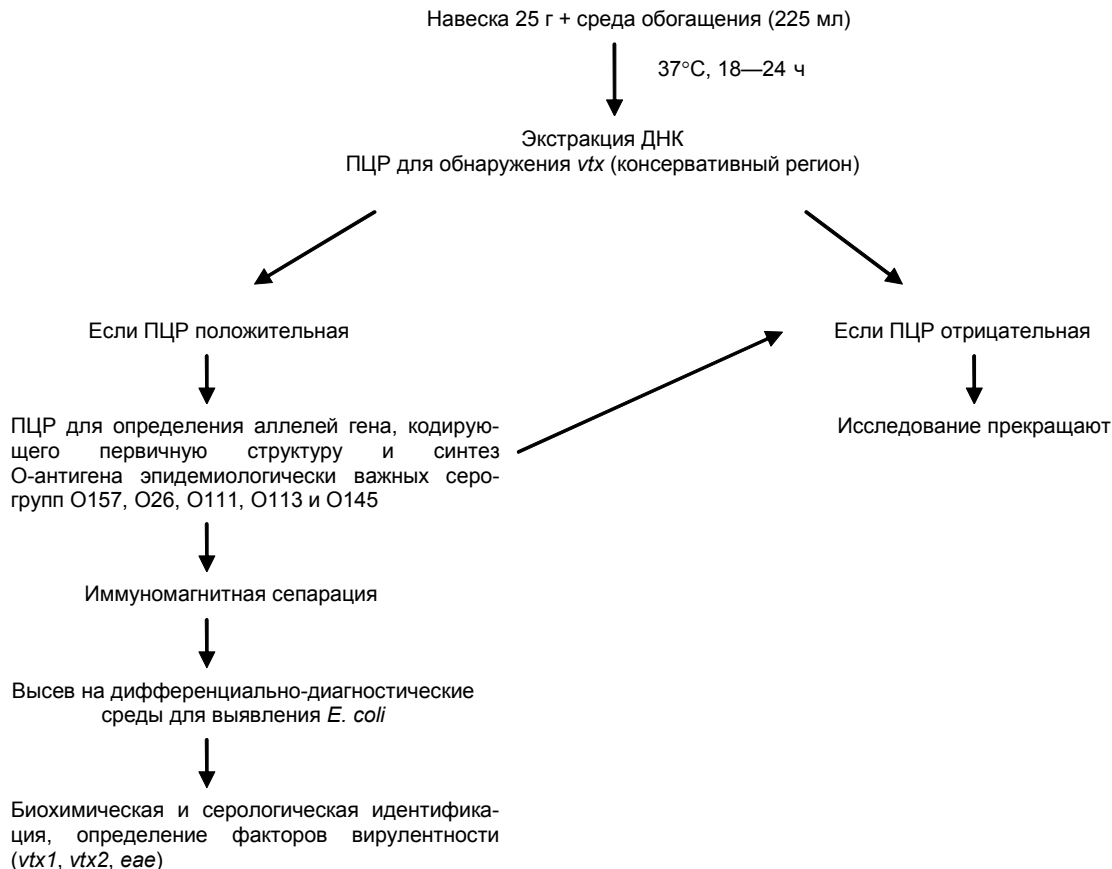


Рис. 2. Схема индикации и идентификации патогенных ЭГКП в продуктах питания

В настоящее время международного стандартного метода для обнаружения и изоляции ЭГКП серогрупп так называемых не-O157 не существует. Подготовлены стандартные рекомендации (CEN TC275/WG6 Microbiological analysis of food stuffs including rapid method) на основе метода ПЦР под руководством рабочей группы Европейского комитета стандартизации.

Немецкая организация по стандартизации (DIN) опубликовала документы по обнаружению ЭГКП в мясо-молочной продукции (документ DIN 10118:2004 Analysis of food stuffs — Detection of verotoxine-forming *Escherichia coli*-strains (VTEC) in food derived from animals) предписывает использование иммунохимического метода для обнаружения цитотоксина в среде обогащения с последующим выделением предполагаемых цитотоксинположительных культур посредством процедуры иммуноблоттинга, а затем идентификации положительных колоний.

Французское Агентство по безопасности продуктов питания (AFSSA) рекомендует использование ПЦР как основного метода для диагностики ЭГКП (рис. 2).

Скрининг штаммов проводится на основании проведения 2 раундов ПЦР. Первый позволяет обнаружить в материале для исследования ЭГКП по наличию гена *vtx*. Второй — на основании выявления генов, кодирующих липополисахарид (О-антиген) эпидемиологически важных или распространенных серотипов ЭГКП (O157, O26, O103, O111 и O145), вызывающих вспышки или тяжелые спорадические случаи.

Штаммы кишечной палочки, у которых присутствуют гены (*vtx1* и/или *vtx2* и *eae*), принадлежат к одному из следующих серотипов: O157, O26, O111, O103 или O145. Данная схема не является официальным стандартным методом, однако предписывает систему и порядок при выявлении ЭГКП в пищевых продуктах [3].

Международных признанных стандартных методов идентификации энтерогемморрагических эшерихий в пробах, взятых у животных, пока нет. Для обнаружения ЭГКП O157 в Европе используют протоколы NMKL № 164, 1999 и ISO 16654:2001.

Для обнаружения ЭГКП в питьевой, сточных и рекреационных водах применяют метод фильтрации с последующим обогащением и иммуномагнитной сепарацией [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Caprioli A., Morabito S., Brugere H., Oswald E. // *Vet. Res.*— 2005.— Vol. 36, № 3.— P. 289—311.
2. Martinez A., Bossio C., Durango A., Vanegas M. // *J. Food Prot.*— 2007.— Vol. 70.— P. 2843—2846.
3. Andreoletti O., Budka H., Buncic S., et al. // *EFSA J.*— 2007.— Vol. 579.— P. 1—61.
4. Croxson M. A., Finlay B. B. // *Nature Rev. Microbiol.*— 2010.— Vol. 8.— P. 26—38.
5. Ethelberg S., Olsen K., Scheutz F., et al. // *Emerg. Infect. Dis.*— 2004.— Vol. 10, № 5.— P. 842—847.
6. Johnson K., Thorpe C., Sears C. // *Clin. Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 43.— P. 1587—1595.
7. Karmali M., Mascarenhas M., Shen S. // *J. Clin. Microbiol.*— 2003.— Vol. 41, № 11.— P. 4930—4940.
8. Eblen D. R. // *J. Food Prot.*— 2007.— Vol. 69.— P. 2607—2614.

9. Denamur E. // *Mol. Biol. Evol.*— 2004.— Vol. 21.— P. 1085—1094.
 10. Hussein H., Bollinger L. // *J. Food Prot.*— 2005.— Vol. 68.— P. 2224—2241.
 11. Ahn C., Russo A., Howell K., et al. // *J. Pediatr.*— 2009.— Vol. 155.— P. 587—589.
 12. Wendel A., Johnson D., Sharapov U., et al. // *Clin. Infect. Dis.*— 2009.— Vol. 48.— P. 1079—1086.
 13. Werber D., Mason B., Evans M., Salmon R. // *Clin. Infect. Dis.*— 2008.— Vol. 46.— P. 1189—1196.
 14. Werber D., Behnke S., Fruth A., et al. // *Am. J. Epidemiol.*— 2007.— Vol. 165.— P. 425—434.
 15. Persson S., Olsen K., Ethelberg S., Scheutz F. // *J. Clin. Microbiol.*— 2007.— Vol. 45.— P. 2020—2024.
 16. H.-M. Tsai // *Kidney Intl.*— 2006.— Vol. 70.— P. 16—23.
 17. Fremeaux-Bacchi V., Kemp E. J., Goodship J., et al. // *J. Med. Genet.*— 2005.— Vol. 42.— P. 852—856.
 18. Dragon-Durey M. A., Loirat C., Cloarec S., et al. // *J. Am. Soc. Nephrol.*— 2005.— Vol. 16.— P. 555—563.
 19. Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. // *Appl. Environ. Microbiol.*— 2000.— Vol. 66.— P. 4555—4558.
 20. Gomez-Duarte O., Arzuza O., Urbina D., et al. // *Foodborne Pathog. Dis.*— 2010.— Vol. 7.— P. 199—206.
 21. Тутов Л. П., Газизумарова Л. Д., Ермакова Т. С., Паньшина Е. Ф. // *Здравоохранение.*— 2007.— № 11.— С. 22—24.

ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRHAGIC STRAINS: BIOLOGICAL FEATURES, EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS, METHODS FOR LABORATORY DIAGNOSIS

E. S. Nosova, L. P. Titov

Significance of enterohemorrhagic strains of *Escherichia coli* (ESEC) as etiologic agents causing food intoxications has increased due to the unfavorable situation observed in European countries associated with the acute intestinal infection caused by *E. coli* O104:H4 spread. The ESEC detailed biologic and epidemiologic characteristics are presented in the publication. Current methods of laboratory diagnosis and of the food quality control used in clinical microbiologic laboratories and European scientific research centers as protocols for diagnosing infections caused by ESEC are described. The international documents and standards of detecting and indentifying ESEC while performing microbiologic monitoring are presented.

Key words: enterohemorrhagic strains of *Escherichia coli*, hemolytic uremic syndrome, Stx toxin, methods of indication and identification.

Адрес для корреспонденции:

Носова Елена Станиславовна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сп. тел. (8-017) 267-95-33.

Медицинская литература России

Меньшиков В. В. **Критерии оценки методик и результатов клинических лабораторных исследований: Справ. пособие.**— М., 2011.

Методы клинических лабораторных исследований / Под ред. В. С. Камышниковой.— М., 2011.

Микробиология и иммунология для стоматологов / Под ред. Р. Дж. Ламонта, М. С. Лантц, Р. А. Берне и др.— М., 2010.

Митрофаненко В. П., Алабин И. В. **Основы патологии: Учебник.**— М., 2011.

Миш К. Е. **Ортопедическое лечение с опорой на дентальные импланты.**— М., 2010.

Молочные железы и гинекологические болезни / Под ред. В. Е. Радзинского.— М., 2010.

Москаленко В. Ф. **Концептуальные подходы к формированию современной профилактической стратегии в здравоохранении: От профилактики медицинской к профилактике социальной: Монография.**— М., 2011.

Назаренко Т. А., Мишиева Н. Г. **Бесплодие и возраст: пути решения проблемы.**— М., 2010.

Неврология: Справочник практикующего врача / Дж. Тиллер, Д. Биркетт, Р. Бернос и др.— М., 2011.

Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в норме и патологии / Г. Н. Крыжановский, И. Г. Акмаев, С. В. Магаева и др.— М., 2010.

Нефрология детского возраста / Под ред. Ю. Г. Мухиной, И. М. Османова, В. В. Длина и др.— М., 2010.

Николаев А. И., Цепов Л. М. **Практическая терапевтическая стоматология: Учеб. пособие.**— М., 2010.

Новосельцев С. В. **Введение в остеопатию: Частная краниальная остеопатия: Практик. руководство для врачей.**— СПб., 2010.

Опии Л. Х., Бернгард Дж. Герш. **Лекарства в практике кардиолога.**— М., 2010.

Оптическая когерентная томография в диагностике глазных болезней / Д. А. Аверьянов, С. А. Алпатов, С. И. Букова и др.; под ред. А. Г. Щуко, В. В. Латышева.— М., 2010.

Осипова В. Л. **Дезинфекция: Учеб. пособие.**— М., 2011.

Основы ультразвукового исследования в гинекологии: Практик. пособие для врачей / М. В. Медведев, Н. Г. Михеева, Г. Г. Рудько и др.— М., 2010.

Пайл К., Кеннеди Л. **Диагностика и лечение в ревматологии: Проблемный подход.**— М., 2011.

Патофизиология. Задачи и тестовые задания: Учеб.-метод. пособие / Под ред. П. Ф. Литвицкого.— М., 2011.

Пептидотерапия: клиническое применение. Руководство / Под ред. И. С. Ролика.— М., 2010.

Перельман М. И., Богадельникова И. В. **Фтизиатрия: Учебник для учреждений высш. проф. образования.**— М., 2010.

В. П. ШИМАНОВИЧ, Е. О. САМОЙЛОВИЧ

ВЛИЯНИЕ ИММУНИЗАЦИИ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЭПИДЕМИЧЕСКИМ ПАРОТИТОМ

Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь

До начала вакцинации в Республике Беларусь отмечалась очень высокая заболеваемость эпидемическим паротитом — средний многолетний годовой показатель заболеваемости составлял 269,5 случая на 100 тыс. населения. Введение однократной схемы вакцинации с 1980 г. и двукратной с 2000 г. позволило существенно снизить заболеваемость. Данный показатель за период 2006—2010 гг. был в 102,4 раза меньше в сравнении с таковым в довакцинальный период. Внедрение лабораторной диагностики способствует дифференциации истинных случаев эпидпаротита от других заболеваний слюнных желез. Проведенное в первой половине 2011 г. лабораторное обследование 101 больного с подозрением на эпидемический паротит подтвердило вирусную этиологию заболевания у 36 (35,6%) человек. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности регистрации лабораторно подтвержденных случаев эпидпаротита.

Ключевые слова: эпидемический паротит, заболеваемость, вакцинация, лабораторная диагностика

В допрививочный период эпидемический паротит (ЭП) являлся широко распространенной в мире детской инфекцией. Межэпидемические периоды составляли 4—5 лет, наибольший уровень заболеваемости отмечался среди детей 5—7 лет, базовый репродуктивный показатель составлял 4,4 (варьировал от 3,3 до 10,3). Проведенные в разных странах мира серологические исследования показали, что серопозитивными являются дети в возрасте 4—6 лет (50%) и 14—15 лет (90%), что свидетельствует о том, что почти все лица в невакцинированной популяции инфицируются вирусом паротита [5, 6]. Средний показатель заболеваемости ЭП в Европе в 1977—1985 гг. составлял 290 случаев на 100 тыс. населения. В умеренном климате ЭП имел строгую сезонность с пиком заболеваемости зимой и весной. Инфекцией в равной степени поражались лица обоих полов, у мальчиков чаще отмечались осложнения заболевания. В допрививочный период ЭП был одной из основных причин асептического менингита и важной причиной нейросенсорной тугоухости [7, 9].

Внедрение вакцинации способствовало снижению заболеваемости. В Российской Федерации применение паротитной вакцины в течение 12 лет снизило заболеваемость в 20,5 раза — с 480,0 в 1980 г. до 23,3 случая на 100 тыс. населения в 1992 г. В отдельных странах мира иммунизация привела к почти полному исчезновению заболевания. Так, в Финляндии после двенадцатилетнего применения вакцинации отмечалось не более 30 спорадических случаев ЭП в год. В США за период с 1968 по 1985 г. показатель заболеваемости снизился на 98%. Проведение при-

вивок дает возможность предотвратить тяжелые формы ЭП. Так, вакцинация в США позволила избежать около 2000 случаев менингита паротитной этиологии и 2800 случаев энцефалита в год, которые могли повлечь за собой 95 случаев стойкой глухоты и 40 летальных исходов [4].

Вместе с тем вспышки ЭП среди населения не являются исключительной редкостью и в вакцинальный период. В Великобритании эпидемия паротита началась в 2004 г. и достигла пика в 2005 г., когда было зарегистрировано около 56 000 случаев инфекции. Большинство инфицированных — молодые люди, посещающие колледжи и университеты и которые не были вакцинированы. В 2006 г. зарегистрирована вспышка в США, количество заболевших составило 5800 человек. В эпидемический процесс были вовлечены лица в возрасте 18—24 лет. Но в отличие от Великобритании большинство были привиты трехвалентной вакциной корь—паротит—краснуха [7]. В результате вспышки ЭП в Молдове, длившейся с октября 2007 г. по июль 2008 г., пострадали 31 142 человека, из которых 80% — лица в возрасте 15—24 лет. Среди заболевших, имеющих официальное подтверждение об иммунизации (66%), 92% были вакцинированы однократно, 4% — двукратно [10]. В период с января 2008 г. по июнь 2009 г. в бывшей Югославской Республике Македонии зарегистрировано 16 352 случая ЭП с наибольшим вовлечением в эпидемический процесс лиц в возрасте 15—19 лет (48,2%). Среди заболевших, относительно которых была получена информация о вакцинальном статусе (86,7%), 37% привиты однократно, 34,4% — двукратно, 19,5% — не вакцинированы, 0,6% — привиты в ходе кампании по дополнительной иммунизации и 8,5% — не имели записей о прививках [8].

В Беларуси вакцинация против паротита с использованием моновакцины введена в 1980 г. В 1996 г. с учетом накопленного в мире опыта в календарь прививок включена иммунизация детей против трех инфекций: кори, паротита, краснухи — с использованием одной трехкомпонентной вакцины. В 1996—1999 гг. ее применяли по однодозовой схеме — вводили однократно в возрасте 12 мес. В 2000 г. осуществлен переход на двухдозовую (двукратную) схему вакцинации трехкомпонентной вакциной — в 12 мес и 6 лет.

Цель работы — анализ заболеваемости ЭП в республике в допрививочный период (1954—1979) и во время применения однократной (1980—1999) и двукратной (с 2000 г. по настоящее время) схем иммунизации.

Материал и методы

Материалом для эпидемиологического анализа явились данные официальной регистрации заболеваний ЭП населения Беларуси за период с 1954 по 2010 г. Было зафиксировано 1 009 376 случаев заболеваний (учитывали клинико-эпидемиологические данные).

Уровень заболеваемости ЭП в целом в Беларуси и в отдельных группах населения оценивали по показателям, рассчитанным на 100 тыс. населения. Дей-

ствии случайных факторов исключали при расчете и замене «выскакивающих» показателей по критерию Шовене. Для оценки роли постоянно действующих факторов определяли многолетнюю эпидемическую тенденцию [1, 2] с помощью метода наименьших квадратов по параболе первого порядка по формуле:

$$I_T = a + bx,$$

где I_T — теоретически ожидаемые показатели заболеваемости за каждый год периода наблюдения; a , b — постоянные коэффициенты; x — условная нумерация периодов (интервал динамического ряда), которая указывает на равенство отрезков, определяющих показатели динамического ряда.

Многолетнюю эпидемическую тенденцию оценивали по ее направленности и скорости изменений показателей заболеваемости. Направление тенденции определялось знаком при коэффициенте b : «+» — тенденция к росту заболеваемости, «-» — тенденция к ее снижению. Скорость изменения ряда и выраженность тенденции определяли по среднему темпу прироста:

$$T_{пр} = \frac{b}{\bar{I}} \cdot 100\% \text{ (для нечетного ряда);}$$

$$T_{пр} = \frac{2b}{\bar{I}} \cdot 100\% \text{ (для четного ряда),}$$

где $T_{пр}$ — средний темп прироста, b — рассчитанный постоянный коэффициент; \bar{I} — средний многолетний показатель заболеваемости.

Эпидемическую тенденцию считали стабильной при $T_{пр}$ от 0 до $\pm 1\%$, умеренной — при $T_{пр}$ от $\pm 1\%$ до $\pm 5\%$, выраженной — при $T_{пр}$ от $\pm 5\%$ и больше.

При развитии процесса в геометрической прогрессии для определения линии тенденции использовали экспоненциальную кривую, описываемую уравнением:

$$I_T = ab^x.$$

Достоверность тенденции оценивали по t-критерию Стьюдента [3].

Годами эпидемического благополучия считали время, когда уровень заболеваемости не превышал теоретический показатель, описывающий многолетнюю эпидемическую тенденцию за год. Фазой эпидемического неблагополучия считали время, когда уровень заболеваемости был выше теоретического показателя. Влияние периодически действующих факторов оценивали при анализе многолетней периодичности, определяя отклонения фактических показателей заболеваемости от теоретических значений, полученных при расчете линии многолетней эпидемической тенденции. При этом определяли длительность и амплитуды периодов, фаз благополучия и неблагополучия [1, 2].

С декабря 2010 г. по 1 июля 2011 г. в республике выявлен и лабораторно обследован 101 больной с подозрением на ЭП.

Использовали следующие методы: выявление специфических сывороточных антител класса М в иммуноферментном анализе (тест-системы производства «Virion/Serion», Германия), обнаружение РНК

вируса паротита в клиническом материале (носоглоточный соскоб или моча) с использованием ПЦР, выделение вируса паротита из клинического материала в культуре клеток Vero. Диагноз считали лабораторно подтвержденным, если положительный результат получали при применении хотя бы одного из трех методов диагностики.

Статистические методы применяли для оценки интенсивных и экстенсивных показателей, средних величин, установления достоверности результатов исследования и их различий. Достоверность различий между показателями или средними величинами определяли по t-критерию Стьюдента. Для обработки материалов использовали статистический пакет компьютерной программы «Microsoft Excel».

Результаты и обсуждение

Период до начала массового применения живой паротитной вакцины характеризовался естественным развитием эпидемического процесса, при котором заболеваемость регулировалась естественно возникшей иммунной прослойкой населения. В этих условиях заболеваемость характеризовалась очень высокими показателями: от 108,0 в 1954 г. до 499,6 случая на 100 тыс. населения в 1979 г. (рис. 1). Средний многолетний годовой показатель заболеваемости в это время составил 269,5 случая на 100 тыс. населения.



Рис. 1. Многолетняя динамика и эпидемическая тенденция заболеваемости ЭП в допрививочный период

Допрививочный период характеризовался умеренной тенденцией заболеваемости к росту, средний темп прироста составил $+2,1\%$. Фаза эпидемического благополучия — 1954—1958, 1961—1964, 1966, 1969—1970, 1972, 1975, 1977—1979 гг., фаза эпидемического неблагополучия — 1959—1960, 1965, 1967—1968, 1971, 1973—1974, 1976 гг.

Заболеваемость ЭП в допрививочный период характеризовалась выраженной периодичностью: на протяжении 1954—1979 гг. можно выделить 6 полных периодов длительностью от 2,5 до 5,25 года (средняя продолжительность составила 3,5 года). Наибольшей продолжительностью характеризовался второй период (1962—1966 гг.) — 5,25 года, фазы эпидемического неблагополучия и благополучия длились 4 и 1,25 года соответственно. Наименьшей продолжительностью характеризовался пятый период (1972—

1975) — 2,5 года, фазы эпидемического благополучия и неблагополучия по длительности были одинаковы (по 1,25 года).

Введение в 1980 г. массовой вакцинации с использованием моновакцины российского производства на основе штамма Ленинград-3 привело к постепенному созданию иммунной прослойки детского населения и снижению заболеваемости. Однодозовое применение в период с 1996 по 1999 г. трехкомпонентной вакцины «Тримовакс» («Авентис-Пастер», Франция; штамм Урабэ) привело к дальнейшему ее снижению.

В целом средний многолетний годовой показатель заболеваемости ЭП за время применения однократной схемы иммунизации (1980—1999) был в 1,6 раза ниже, чем в допрививочный период, и составил 173,3 случая на 100 тыс. населения. Отмечалась выраженная тенденция к снижению заболеваемости ($P < 0,05$), средний темп прироста — 5,96% (рис. 2). Фаза эпидемического благополучия — 1981, 1984, 1987—1994 гг., эпидемического неблагополучия — 1980, 1982, 1983, 1985—1986, 1995—1999 гг.

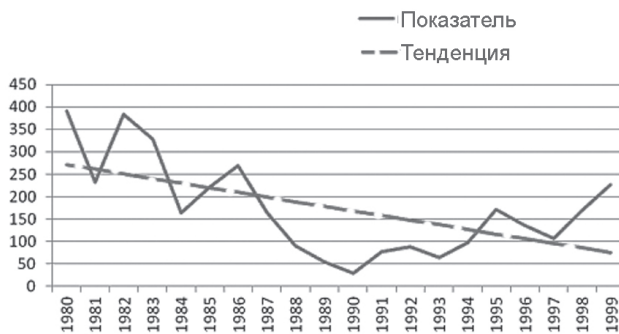


Рис. 2. Многолетняя динамика и эпидемическая тенденция заболеваемости ЭП в республике в период применения однократной схемы иммунизации

Во время применения схемы однократной иммунизации (1980—1999) наблюдалась выраженная периодичность. Первый период (1980—1983) характеризовался короткой фазой эпидемического благополучия (0,5 года) и более длительной фазой эпидемического неблагополучия (2,5 года). Вторым периодом (1983—1986) характеризовался одинаковыми по длительности фазами эпидемического благополучия и неблагополучия (по 1,5 года). Период однократной вакцинации заканчивается незавершенным циклом, в котором отмечается фаза эпидемического благополучия длительностью 7,5 лет (1986—1994) и незавершенная фаза эпидемического неблагополучия.

Несмотря на заметное снижение заболеваемости в сравнении с довакцинальным периодом, во время применения однократной схемы иммунизации достичь полного контроля за ЭП не удалось. Инфекция продолжала сохранять эпидемический характер, что выражалось периодическими подъемами заболеваемости. В последние годы применения однократной схемы вакцинации (1998—1999) заболеваемость ЭП все еще находилась на высоком уровне: ежегодно

выявляли от 17 000 до 23 000 заболевших. Требовался переход на двухдозовую схему.

Двухдозовая схема иммунизации вакциной корь—паротит—краснуха в республике используется с 2000 г. По 2004 г. для обеих возрастных групп (12 мес и 6 лет) применяли вакцину «Тримовакс» («Авентис-Пастер», Франция). В 2004 г. также использовали вакцину «Приорикс» («ГлаксоСмитКляйн», Бельгия, паротитный компонент представлен штаммом RIT 4385). С 2005 г. и по настоящее время применяется вакцина производства «Serum Institute» (Индия, штамм Ленинград—Загреб). Введение второй дозы вакцины в 6 лет позволило охватить тех, кто остался по какой-то причине не привит в 12 мес, сократить число серонегативных лиц из числа получивших прививку, а также стимулировать иммунитет у лиц с низкими титрами антител. В результате заболеваемость ЭП резко снизилась — с 155,69 в 2000 г. до 22,28 на 100 тыс. населения в 2003 г. Начиная с 2006 г. показатель заболеваемости не превышает 5 случаев на 100 тыс. населения, а в 2010 г. отмечался самый низкий уровень за всю историю регистрации ЭП в стране — 0,92 случая на 100 тыс. населения (88 случаев).

Средний многолетний показатель заболеваемости за время применения двукратной схемы вакцинации (2000—2010) составил 34,9 случая на 100 тыс. населения, то есть в этот период заболеваемость ЭП была в 5 раз ниже в сравнении с таковой в годы использования однократной схемы иммунизации и в 7,7 раз ниже в сравнении с уровнем в довакцинальный период (рис. 3). Наиболее низкие показатели отмечались в последние 5 лет (2006—2010). Средний многолетний показатель заболеваемости за эти годы (2,63 случая на 100 тыс. населения) свидетельствует о том, что 30-летнее применение вакцинации позволило снизить заболеваемость ЭП в 102,4 раза.

В отличие от довакцинального периода и первых лет применения вакцины, когда ЭП являлся типичной детской инфекцией с высоким уровнем очаговости и диагностика инфекции на основании клинико-эпидемиологических данных не представляла большой сложности, в последние годы наблюдаются спорадические



Рис. 3. Многолетняя динамика и эпидемическая тенденция заболеваемости ЭП в период применения двукратной схемы иммунизации

случаи заболевания, нет очагов с множественными случаями, частота встречаемости ЭП практически одинакова у взрослых и детей, зачастую отмечается стертая клиническая картина заболевания. В этой ситуации провести дифференциальную диагностику поражений слюнных желез, вызванных вирусом паротита и обусловленных другими причинами, и обеспечить регистрацию истинных случаев ЭП без данных лабораторной диагностики становится невозможным.

В соответствии с письмом Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 10-27/18-1630 от 16.12.2010 «О профилактике кори, краснухи и эпидемического паротита» заболевания, подозрительные на ЭП, требуют лабораторного подтверждения. Проведенное в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии обследование 101 больного с подозрением на ЭП позволило лабораторно подтвердить диагноз у 36 из них (во всех случаях обнаружены IgM к вирусу паротита в сыворотке крови, в 3 случаях удалось выявить РНК вируса ЭП с помощью ПЦР, в 2 случаях — выделить вирус в культуре клеток).

Первый опыт лабораторной диагностики ЭП в Беларуси подтвердил данные, полученные в других странах. Обнаружение IgM-антител в сыворотке крови является наиболее применимым методом диагностики, поскольку антитела удается выявить в течение нескольких недель (до 1 мес) с момента появления клинических симптомов. Выделить вирус или обнаружить его РНК с помощью ПЦР можно лишь в течение первых дней заболевания. Выявление вируса с последующим его молекулярно-генетическим изучением является чрезвычайно важным для определения его происхождения и разделения «местных» и «завозных» случаев ЭП, а также для дифференциации заболеваний, вызванных диким вирусом паротита, от вакциноассоциированных случаев.

В работе подтверждена целесообразность использования лабораторных методов исследований для постановки диагноза. Диагностика ЭП на основании только клинических данных увеличивает риск ошибок. Следует помнить, что заболевания, обусловленные вирусом паротита, могут проходить и под другими диагнозами (панкреатит, орхит, менингит и др.), что затрудняет своевременное проведение противоэпидемических мероприятий.

Таким образом, анализ данных официальной регистрации заболеваемости ЭП свидетельствует о том, что введение в 1980 г. вакцинации с использованием одной дозы моновакцины значительно снизило заболеваемость, но не позволило полностью контролировать инфекцию. Переход на двухдозовую схему иммунизации с использованием трехвалентной вакцины корь—паротит—краснуха в 2000 г. привел к дальнейшему снижению заболеваемости. Начиная

с 2006 г. в республике регистрируют менее 5 случаев на 100 тыс. населения. Низкий уровень заболеваемости позволяет обеспечить лабораторное обследование каждого подозрительного случая с целью дифференциации заболеваний, вызванных вирусом паротита, от других поражений слюнных желез. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности регистрации лабораторно подтвержденных случаев ЭП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамович М. М., Бандацкая М. И., Близнюк А. М. и др. Ретроспективный эпидемиологический анализ: Учеб.-метод. пособие // Под ред. Г. Н. Чистенко.— Минск, 2002.
2. Адамович М. М., Бандацкая М. И., Близнюк А. М. и др. Методы эпидемиологической диагностики: Учеб.-метод. пособие // Под ред. Г. Н. Чистенко — Минск, 2003.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика.— М., 1998.
4. Тимченко В. Н. Эпидемический паротит (эволюция, причина бесплодного брака, современная терапия и экстренная профилактика).— СПб., 2006.
5. Эпидемический паротит. Современные представления о возбудителе, клиника, диагностика, профилактика // Под ред. А. П. Агафонова — Новосибирск, 2007.
6. Carbone K. M. // *Fields Virology* / Ed. D. M. Knipe, P. M. Howley. — Lippincott Williams & Wilkins, 2007. — Ch. 43. — P. 1528—1551.
7. Hviid A., Rubin S., Muhlemann K. // *Lancet*.— 2008.— Vol. 371.— P. 932—944.
8. Kuzmanovska G., Polozhani A., Mikik V., et al. // *Eurosurveillance*.— 2010.— Vol. 15, Iss. 23 (<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19586>).
9. Rima B. K., Duprex W. P. // *Encyclopedia of Virology* / Ed. B. W. J. Mahy, M. H. V. Van Regenmortel.— Elsevier Ltd, 2008.— P. 356—363.
10. Schwarz N. G., Bernard H., Melnic A., et al. // *Pediatr. Infect. Dis. J.*— 2010.— Vol. 29.— P. 703—706.

IMMUNIZATION EFFECT ON EPIDEMIC PAROTITIS OCCURRENCE

V. P. Shimanovich, E. O. Samoilovich

A very high epidemic parotitis occurrence had been registered before vaccination started in the Republic of Belarus — the average annual value for many years was determined as 269.5 per 100 000. The scheme stipulating one vaccination introduced from 1980 and the scheme stipulating two vaccinations introduced from 2000 allowed reduce the morbidity rate markedly. That parameter was 102.4 times lower in 2006—2010 as compared with the same in the pre-vaccination period. The laboratory diagnosis introduction favored the epidemic parotitis genuine cases differentiation with other salivary glands diseases. The laboratory examination of 101 patients suspected for epidemic parotitis carried out in the first half of 2011 confirmed the disease viral etiology for 36 (35.6%) persons. The data obtained evidence about expediency of registering the epidemic parotitis cases confirmed by laboratory analysis.

Key words: epidemic parotitis, morbidity, vaccination, laboratory diagnosis.

Адрес для корреспонденции:

Шиманович Вероника Петровна.
Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья.
220099 г. Минск, ул. Казинца, 50; сл. тел. (8-017) 321-22-58.



Л. В. РУБАНИК, Н. Н. ПОЛЕЩУК, Н. Ф. СОРОКА,
И. А. ВАРОНЬКО, Д. А. ДЕЙКУН, А. Н. АСТАШОНОК,
С. А. КОСТЮК, О. С. ПОЛУЯН

ФЕНО- И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* К АНТИБИОТИКАМ У ПАЦИЕНТОВ С ХЛАМИДИОИНДУЦИРОВАННЫМИ АРТРОПАТИЯМИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава
Республики Беларусь, Белорусский государственный
медицинский университет, Белорусская медицинская
академия последипломного образования

Цель исследования. Провести анализ фено- и генотипической устойчивости штаммов *Chlamydia trachomatis*, выделенных от пациентов с хламидиоиндуцированными артропатиями, к антибиотикам тетрациклинового, фторхинолонового рядов и макролидам.

Материал и методы. Обследовано 57 пациентов с диагнозом хламидиоиндуцированной артропатии, которые ранее неоднократно проходили курсы противохламидийной терапии. Для определения устойчивости изолятов *C. trachomatis* к антибиотикам использовали комбинированный подход, включающий тестирование фенотипической и генотипической составляющих. Фенотипическую резистентность определяли на культуре клеток McCo, используя специальные диски, содержащие средние терапевтические концентрации химиопрепаратов. Генотипическую устойчивость, то есть выявление у штаммов *C. trachomatis* фрагментов *tet*- и *erm*-генов, осуществляли с помощью стандартных ПЦР-тест-систем.

Результаты. У всех пациентов хламидийная инфекция лабораторно подтверждена. Однако выделенные в 11 случаях изоляты *C. trachomatis* поддерживать в субпассажах не удалось из-за активного роста условно-патогенных микроорганизмов и вирусов семейства *Herpesviridae*.

При оценке фенотипической резистентности 46 выделенных изолятов *C. trachomatis* показано, что они обладают различной чувствительностью к терапевтическим концентрациям антибиотиков. При этом наиболее часто регистрировали фенотипическую устойчивость к доксициклину — 22 (47,83%) изолята, к тетрациклину — 14 (30,43%), к офлоксацину — 13 (28,26%). У 22 (47,8%) изолятов отмечена резистентность к нескольким антибиотикам одновременно. При параллельном изучении этих изолятов на наличие фрагментов генов, обуславливающих генотипическую устойчивость к тетрациклинам и макролидам, у 36 (78,26%) изолятов *C. trachomatis* выявлен *tet*-ген и у 19 (41,3%) — *erm*-ген. У 13 (28,26%) изолятов одновременно обнаружен как *tet*-, так и *erm*-ген. Сравнительный анализ показал, что в 33,7% случаев не выявлена корреляция между фено- и генотипической устойчивостью к антибиотикам у исследованных изолятов.

Заключение. В Республике Беларусь циркулируют изоляты *C. trachomatis*, резистентные к средним терапевтическим концентрациям различных противохламидийных препаратов (доксициклин, тетрациклин, офлоксацин и др.). У трудно поддающихся терапии пациентов с хламидиоиндуцированными артропатиями и частым рецидивированием заболевания целесообразно изолировать *C. trachomatis* и определять их фено- и генотипическую чувствительность к антибиотикам.

Ключевые слова: хламидиоиндуцированная артропатия, *Chlamydia trachomatis*, антибиотикорезистентность.

В практическом здравоохранении особую актуальность представляет лечение пациентов с хламидиоиндуцированными артропатиями, которое, несмотря на использование различных антибиотиков, не всегда эффективно [1—3]. Препаратами выбора для терапии таких форм патологии являются тетрациклины, макролиды и фторхинолоны, в то время как сульфаниламиды, аминогликозиды, пенициллины и цефалоспорины обладают низкой активностью и могут способствовать становлению персистентной формы инфекции [4, 5]. В последнее время появляется все больше сообщений об отсутствии терапевтического эффекта при антибактериальной терапии пациентов с хламидийной инфекцией [1—6]. Во многом это связано с возникновением штаммов *Chlamydia trachomatis*, циркулирующих среди населения, устойчивых к препаратам, рекомендованным для лечения урогенитальной хламидийной инфекции (УГХИ). В последнее десятилетие штаммы *C. trachomatis*, резистентные к разным антибиотикам, встречаются во многих странах [5—10].

Устойчивость микроорганизмов к лекарственным препаратам в целом является сложным явлением, включающим одновременно как генотипические, так и фенотипические компоненты. Ведущая роль каждого из них в общей проблеме антибиотикорезистентности не известна.

Существует метод определения фенотипической устойчивости *C. trachomatis* к химиопрепаратам в перевиваемой культуре клеток, при котором используют серийные разведения или стандартные диски с антибиотиками [9—11].

В настоящее время также разработан подход к определению генотипической резистентности хламидий к химиопрепаратам. Устойчивость *C. trachomatis* к препаратам группы тетрациклина связывают с наличием детерминант *tet-M* и *tet-O*, которые обнаруживаются при изменении конформации рибосом. При этом сродство антибиотика «к местам узнавания» резко снижается [5]. Второй механизм резистентности обусловлен тем, что микроорганизмы могут приобретать гены устойчивости к тетрациклинам от грамположительной флоры человека. Предполагают, что конъюгационный перенос детерминанты *tet-M* осуществляет транспозон *Th916*, обнаруженный у бактерий родов *Enterococcus*, *Streptococcus*, а перенос *tet-O*-гена происходит за счет конъюгационной плазмиды. Устойчивость хламидий к макролидам определяется генами, детерминирующими синтез метилтрансфераз (*erm*-гены), которые способны изменять сайты распознавания антибиотиков, — 23S рРНК [2, 5]. Кроме этих механизмов резистентность возбудителя к макролидам может быть обусловлена за счет транспозонов. Еще один механизм устойчивости к макролидам — мутации в гене 23S рРНК. Н. В. Николаева, Е. В. Шипицына, S. Dessus-Babus и соавт. у выделенных клинических изолятов *C. trachomatis* выявили в этом гене точечные мутации [5—7]. Однако ряд других исследователей не обнаружили связь между наличием данных мутаций и неэффективнос-

тью противохламидийного лечения [11—13]. Таким образом, в литературе обсуждается множество факторов, обуславливающих резистентность возбудителя к химиопрепаратам на генетическом уровне.

В настоящее время разработаны ПЦР-тест-системы для выявления *tet*- и *erm*-генов в ДНК *S. trachomatis*, позволяющие определять устойчивость возбудителя к тетрациклинам и макролидам. Однако выявление только *tet*- и *erm*-генов не всегда свидетельствует об истинной резистентности *S. trachomatis* к химиопрепаратам, поскольку возможна реверсия мутантного генотипа к дикому состоянию.

В данной работе избран оригинальный подход, заключающийся в одновременном определении как фенотипической, так и генотипической устойчивости изолятов *S. trachomatis*. Кроме того, для стандартизации результатов фенотипической устойчивости использованы специальные диски, содержащие средние терапевтические концентрации химиопрепаратов.

Цель настоящего исследования — провести анализ фено- и генотипической устойчивости штаммов *S. trachomatis*, выделенных от пациентов с хламидиоиндуцированными артропатиями к антибиотикам тетрациклинового, фторхинолонового рядов и макролидам.

Материал и методы

Обследовано 57 пациентов в возрасте от 15 до 58 (34±11) лет с диагнозом реактивной хламидиоиндуцированной артропатии. Соотношение мужчин и женщин было 1:1,4. Продолжительность суставного синдрома составила в среднем 1—10 лет. Из всех обследованных пациентов 44 (77,2%) прошли 2 курса противохламидийной терапии без стойкого клинического и микробиологического эффекта, 9 (15,8%) — 3 и 4 (7,0%) — 4 курса.

Выявление *S. trachomatis* в культуре клеток McCoу. Материалом, полученным из урогенитального тракта пациента, инфицировали 2-суточную культуру клеток McCoу, выращенную на покровных стеклах. Процедура выделения хламидий в данной культуре клеток включала следующие этапы: удаление среды роста из флаконов с культурой клеток McCoу, инокуляция соскобных образцов, центрифугирование флаконов при 3000 об./мин в течение 1 ч, инкубация в термостате при 37°C — 2 ч, удаление инокулята и внесение изолирующей среды с циклогексимидом, инкубация при 37°C в течение 72 ч, результаты окраски по Романовскому — Гимзе и/или обработка специфическими противохламидийными антителами для выявления антигенов *S. trachomatis* в реакции иммунофлюоресценции с помощью тест-системы «ХламиСкан» («ЛабДиагностика», Россия).

Определение фенотипической устойчивости изолятов *S. trachomatis*. Перед проведением опыта по определению фенотипической устойчивости хламидий к химиотерапевтическим препаратам для накопления возбудителя в достаточных количествах (4—6 Ig ТЦД₅₀/мл) проводили 2 слепых пассажа изолятов *S. trachomatis* в культуре клеток McCoу без антибиотиков. Затем культуру инфицировали 0,3 мл пробы (изолята) и проводили инкубацию 2 ч (37°C). После инкубации в каждый флакон вносили по 1 мл среды для изоляции хламидий (без добавления антибиотика). Состав

среды для изоляции хламидий: 100 мл среды Игла; 5% ЭТС; 1,25 мл 40% раствора глюкозы. Далее вносили диски, пропитанные антибиотиками, содержащие средние терапевтические концентрации: азитромицин (15 мкг), кларитромицин (15 мкг), рокситромицин (15 мкг), эритромицин (15 мкг), доксициклин (30 мкг), тетрациклин (30 мкг), ломефлоксацин (10 мкг), офлоксацин (5 мкг), пefлоксацин (10 мкг), ципрофлоксацин (5 мкг), левофлоксацин (5 мкг), рифампицин (5 мкг) (производство Научно-исследовательского центра фармакотерапии, Санкт-Петербург). На каждый антибиотик брали по 2 флакона. Все опыты сопровождалось положительным (внесение только изолята *S. trachomatis*) и отрицательным контролем (интактная культура McCoу).

Через 3 сут покровные стекла с культурой извлекали, промывали в физрастворе, высушивали, фиксировали 20 мин в 70% спирте и обрабатывали флюоресцирующими противохламидийными антителами «Хлами-флюороген» («ЭКОлаб», Россия). Учет результатов проводили путем микроскопирования по 4-крестной системе: + — единичные хламидийные тельца в поле зрения; ++ — 10—50 хламидийных телец; +++ — до 100 хламидийных телец; ++++ — более 100 хламидийных телец. При наличии свечения ++++ или +++ изолят считали устойчивым к тестируемому препарату, при свечении ++ или + — слабочувствительным. Отсутствие специфического свечения ЭТ и РТ *S. trachomatis* свидетельствовало о чувствительности изолята к тестируемому препарату.

ПЦР проводили с помощью диагностических наборов «АмплиСенс ПЦР-тест *Chlamydia trachomatis* 330/ВКО 630» (ЦНИИ эпидемиологии, Россия) согласно прилагаемой инструкции.

Определение генов устойчивости к тетрациклинам у изолятов *S. trachomatis* проводили с помощью ПЦР-набора «Тетропол» (НПФ «Литех», Россия), используя специфические праймеры, амплифицирующие последовательности генов устойчивости к *tet-M* и *tet-O* тетрациклинам: tet1-5'-AGT TCC ACC GAA TCC TTT CTG GGC TTC-3' (forward-праймер) и tet2-5'-TTC TTG AAT ACA CCG AGC AGG GAT TTC TCC-3' (reverse-праймер). Для обнаружения у изолятов *S. trachomatis* генов устойчивости к макролидам использовали ПЦР-набор «Эритропол» (НПФ «Литех», Россия) с праймерами к участкам ДНК, кодирующим последовательности *erm*-генов, детерминирующих синтез метилтрансфераз: erm1-5'- TGA AAG CCA TGC GTC TGA CATC-3' (forward-праймер) и erm2-5'-TTG GCG TGT TTC ATT GCT TGAT-3' (reverse-праймер).

Результаты и обсуждение

У всех обследованных пациентов выявлена *S. trachomatis*. Однако не во всех случаях удалось выделить и накопить штаммы *S. trachomatis*. Выделено только 46 изолятов *S. trachomatis*. Некоторые из них (от 4 пациентов) не пассировались. У 7 обследованных наряду с *S. trachomatis* в культуре отмечен рост кокковой флоры, грибов рода *Candida spp.*, которые интенсивно размножались, и вирусов герпеса, оказывающих сильное цитопатическое действие на культуру клеток.

Сильный рост сопутствующей микрофлоры является важной проблемой, поскольку затрудняет проведение теста на чувствительность к антибиотикам. В этих случаях необходимо использовать методический подход с добавлением в среду ацикловира, противогрибковых и других препаратов, действующих на условно-патогенные и сопутствующие микроорганизмы, но не влияющих на репродукцию *S. trachomatis*. Кроме того, в ряде случаев требуется предварительная санация пациентов от доминирующей сопутствующей микрофлоры. Только после таких мероприятий удавалось выделить в культуре клеток *S. trachomatis*.

Фенотипическая устойчивость. Результаты тестирования фенотипической устойчивости 46 изолятов *S. trachomatis* к 12 противохламидийным препаратам представлены на рисунке.

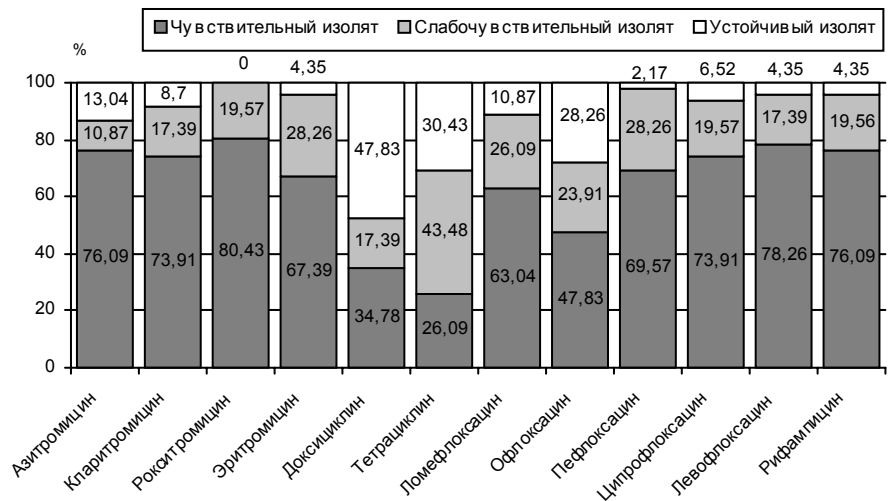
Показано, что протестированные изоляты *S. trachomatis* обладают различной чувствительностью к терапевтическим концентрациям антибиотиков. При этом наиболее часто регистрировали фенотипическую резистентность к доксициклину — 22 (47,83%) изолята, тетрациклину — 14 (30,43%), офлоксацину — 13 (28,26%) изолятов. У 22 из 46 (47,83%) изолятов отмечена резистентность к нескольким антибиотикам одновременно (таблица).

Генотипическая устойчивость. По результатам определения генотипической устойчивости к тетрациклинам у 36 (78,26%) из 46 изолятов *S. trachomatis* обнаружен *tet*-ген. При выявлении генотипической резистентности к макролидам у 19 (41,3%) изолятов обнаружен *erm*-ген. Следует

отметить, что у 13 (28,26%) изолятов одновременно выявлен как *tet*-ген, так и *erm*-ген, у 4 (8,7%) данные гены не обнаружены.

Фено- и генотипическая устойчивость к тетрациклинам отмечена в 32 (69,6%) из 46 случаев, к макролидам — в 29 (63,04%).

Наблюдалась ситуация, когда результаты теста фенотипической устойчивости были положительными, а результаты генотипической резистентности — отрицательными. Так, у 7 (15,2%) из 46 изолятов *S. trachomatis* выявлена фенотипическая устойчивость к препаратам тетрациклинового ряда (тетрациклину и/или доксициклину), однако при постановке ПЦР *tet*-ген не обнаружен. У 9 (19,6%) изолятов выявлена фенотипическая устойчивость к макролидам (азитромицину, и/или кларитромицину, и/или эритромицину), но *erm*-ген не обнаружен при постановке ПЦР. Эти расхождения могут быть связаны с тем, что, по мнению ряда авторов, существуют другие малоизучен-



Результаты определения фенотипической устойчивости изолятов *S. trachomatis*, выделенных от пациентов с хламидиоиндуцированной артропатией

Изоляты *S. trachomatis*, устойчивые к различным комбинациям противохламидийных препаратов

Комбинация антибиотиков	Количество и номер изолята
Два антибиотика: азитромицин+офлоксацин доксициклин+офлоксацин доксициклин+ломефлоксацин доксициклин+тетрациклин эритромицин+тетрациклин азитромицин+тетрациклин	11 изолятов № 288 № 32, № 448 № 6 № 8, № 12, № 48, № 104 № 248 № 304 и № 336
Три антибиотика: доксициклин+тетрациклин+рифампицин доксициклин+тетрациклин+офлоксацин доксициклин+тетрациклин+левофлоксацин доксициклин+офлоксацин+ломефлоксацин доксициклин+тетрациклин+кларитромицин доксициклин+офлоксацин+эритромицин азитромицин+ломефлоксацин+офлоксацин кларитромицин+доксициклин+ципрофлоксацин	8 изолятов № 16 № 80 № 129 № 219 № 232 № 163 № 360 № 440
Четыре антибиотика: азитромицин+тетрациклин+офлоксацин+левофлоксацин доксициклин+ломефлоксацин+офлоксацин+ципрофлоксацин	2 изолята № 524 № 147
Пять антибиотиков: доксициклин+ломефлоксацин+офлоксацин+пефлоксацин+ципрофлоксацин	1 изолят № 171

ные гены устойчивости, которые являются причиной развития резистентности у представителей семейства *Chlamydiaceae* [14—16].

В то же время отмечалась и противоположная ситуация, когда результаты теста фенотипической устойчивости были отрицательными, а результаты генотипической резистентности — положительными. В частности, у 7 (15,2%) из 46 изолятов *C. trachomatis* методом ПЦР выявлен *tef*-ген, однако фенотипическая устойчивость к препаратам тетрациклинового ряда (тетрациклину и/или доксициклину) не обнаружена. У 8 (17,4%) изолятов при постановке ПЦР выявлен *erm*-ген, однако фенотипическая резистентность к макролидам (азитромицину, и/или кларитромицину, и/или эритромицину) не выявлена. Это может быть обусловлено тем, что даже при наличии гена устойчивости он не экспрессируется на уровне РНК. Кроме того, резистентность к препарату может быть непосредственно не связана с этим геном, а обусловлена другим механизмом (образование «персистирующих телец», активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс) и др.).

Таким образом, определение только фенотипической или генотипической устойчивости хламидий к антибиотикам может привести к ложноположительным результатам и росту выявляемых резистентных изолятов *C. trachomatis*. В этой связи предпочтительней использовать сочетанный подход с определением как фенотипической, так и генотипической устойчивости к антибиотикам.

Известно, что лекарственная резистентность микроорганизмов — широко распространенное явление. Она развивается иногда очень быстро и имеет разные механизмы. Различают природную устойчивость микроорганизма к химиопрепаратам, которая возникла в результате мутаций или приобретения чужеродных генов и обусловлена отсутствием в указанной клетке мишени для химиопрепаратов или непроницаемостью оболочки микробной клетки. Она свойственна, как правило, всем представителям данного вида (иногда рода) бактерий в отношении конкретной группы химиопрепаратов. Примером может служить резистентность микоплазм к пенициллину из-за отсутствия у них клеточной стенки и ферментов ее синтеза — мишеней для пенициллина, а также устойчивость синегнойной палочки к эритромицину в связи с неспособностью последнего проникать через ее оболочку к мишеням-рибосомам.

Резистентность микроорганизмов к антибиотикам как результат мутаций или приобретения чужеродных генов представителями видов, исходно чувствительных к конкретным химиопрепаратам, получила распространение вследствие селективного отбора и выживания именно устойчивых форм бактерий. Так, частота обнаружения стрептомициноустойчивых стафилококков в некоторых регионах достигает 60—70%, шигелл, резистентных к ампициллину, — 90%, к тетрациклину и стрептомицину — более 50% и т. д.

Устойчивость микроорганизмов может быть связана с фазой роста возбудителей в очаге воспаления, когда их количество достигает 10^8 — 10^9 особей в 1 мл гомогенизированной пробы исследуемого ма-

териала. В этой фазе прекращается рост микробных клеток и возбудитель становится индифферентным или менее чувствительным к ингибирующему влиянию многих антимикробных препаратов. Развитие лекарственной резистентности может быть следствием несоблюдения врачебных рекомендаций по срокам приема лекарств, снижения доз и прерывания курса лечения. Известные затруднения в химиотерапии вызывают и L-формы бактерий, чувствительность которых отличается от таковой у исходных бактерий с нормальной клеточной стенкой. Возбудители могут быть устойчивыми к антимикробным препаратам и в случаях их ассоциаций с бактериями, инактивирующими эти препараты. На активность антибиотиков влияет также значение pH среды, степень анаэробнозиса, состояние факторов неспецифической резистентности и иммунитета, межлекарственный антагонизм и другие факторы.

Все вышеописанные механизмы лекарственной устойчивости свойственны и представителям семейства *Chlamydiaceae*.

Преодоление лекарственной резистентности микроорганизмов достигается различными путями: введением так называемых ударных доз антимикробных препаратов, способных подавлять рост относительно устойчивых к ним микроорганизмов; продолжением лечения с использованием достаточно высоких доз препаратов и соблюдением рекомендованной схемы. Кроме того, смена антибиотиков и комбинированная химиотерапия оказываются весьма действенными в борьбе с лекарственно-устойчивыми микроорганизмами.

Патогенетические подходы повышают эффективность терапии. Для лучшего проникновения антибиотиков в клетку используют ферментные препараты, например вобэнзим. Доказано, что при их включении в комплексное лечение эффект наступает быстрее. Это обусловлено тем, что они возвращают в норму проницаемость мембран в инфицированных клетках. В результате в нее проникают более высокие концентрации антибиотиков при меньших дозах.

Есть и другие этиопатогенетические подходы, которые в ряде случаев увеличивают эффективность действия антибиотиков: применение иммуномодулирующих препаратов и проведение местных физиотерапевтических процедур (инстилляций, ванночки, клизмы, ректальные и вагинальные свечи, тампоны, магнитотерапия, ультразвуковая терапия, квантовая терапия, токи переменной частоты, электрофорез и ионофорез лекарственных веществ и др.). Однако, по результатам клинических наблюдений, у пациентов с хламидиоиндуцированными артропатиями, как и при других иммуновоспалительных процессах в организме, назначение иммуностимуляторов (циклоферон, полиоксидоний и др.) приводит к обострению иммунопатологического процесса в суставах.

При обнаружении *C. trachomatis* в синовиальной жидкости рекомендуется предварительно определить чувствительность выделенного изолята к противохламидийным препаратам и затем осуществить внутрисуставное введение соответствующего антибиотика. При лечении пациентов с хламидиоиндуцированными

артропатиями можно также использовать антикоагулянт — гепарин. При его применении блокируются гепариновые рецепторы, имеющиеся у хламидий, и взаимодействие инфекционных элементарных телец возбудителя с чувствительной клеткой-мишенью ингибируется. Однако методика использования гепарина недостаточно разработана и широко не применяется.

Таким образом, на территории Республики Беларусь циркулируют изоляты *C. trachomatis*, резистентные к средним терапевтическим концентрациям различных противохламидийных препаратов (доксициклин, тетрациклин, офлоксацин, ломефлоксацин, азитромицин). Среди 12 протестированных антибиотиков разных фармакологических групп (макролиды, тетрациклины, фторхинолоны) наиболее эффективными в условиях *in vitro* оказались макролиды — рокситромицин, эритромицин, кларитромицин, а также препараты из группы фторхинолонов — пефлоксацин, левофлоксацин, цiproфлоксацин. При проведении исследования учитывались различия в действии антибиотиков *in situ* и *in vitro*. Тем не менее полученные результаты являются важной информацией и помогают врачам-ревматологам назначить соответствующую противохламидийную терапию. Подобный мониторинг фено- и генотипической устойчивости *C. trachomatis* к антибиотикам необходимо проводить каждые 2—3 года. Полученные сведения будут способствовать выбору оптимальных схем антибиотикотерапии, что в конечном счете повысит эффективность лечения хламидиоза и хламидиоиндуцированных патологических процессов.

Следует также подчеркнуть, что для определения резистентности *C. trachomatis* к антибиотикам целесообразно использовать сочетанный подход с определением как фено-, так и генотипической устойчивости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сорока Н. Ф. // *Здравоохранение*.— 2009.— № 1.— С. 4—9.
2. Сорока Н. Ф., Варонько И. А. // *Здравоохранение*.— 2007.— № 8.— С. 23—28.
3. Сорока Н. Ф., Варонько И. А., Долгова А. В., Полянская А. В. // *Здравоохранение*.— 2007.— № 12.— С. 9—13.
4. Васильев М. М. // *ИППП*.— 2003.— №1.— С. 24—27.
5. Николаева Н. В. *Резистентность к терапии урогенитального хламидиоза: механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам: Автореф. дис. ... канд. мед. наук*.— М., 2004.
6. Шпицына Е. В., Савичева А. М., Хуснутдинова Т. А. и др. // *Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия*.— 2004.— № 1.— С. 54—64.
7. Dessus-Babus S., Vebear C. M., Charron A., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.*— 1998.— Vol. 42.— P. 2474—2481.
8. Lefevre J. C., Lepargneur J. P. // *Sex. Transm. Dis.*— 1998.— Vol. 25.— P. 350—352.
9. Somani J. // *J. Infect. Dis.*— 2000.— Vol. 181.— P. 1421—1427.
10. Samra Z., Rosenberg S., Soffer Y., Dan M. // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*— 2001.— Vol. 39.— P. 177—179.
11. Шкарупета М. М., Лазарев В. Н., Аколиан Т. А. и др. // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*.— 2007.— № 6.— С. 655—659.
12. Binet R., Maurelli A. T. // *Antimicrob. Agents Chemother.*— 2005.— Vol. 49.— P. 2865—2873.
13. Suchland R. J., Geisler W. M., Stamm W. E. // *Antimicrob. Agents Chemother.*— 2003.— Vol. 47.— P. 636—642.
14. Слободенюк В. В., Караулов А. В., Алешкин В. А. и др. // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*.— 2009.— № 4.— С. 74—81.
15. Hummel A. S., Hertel C., Holzapfel W. H., Franz C. M. // *Appl. Environ. Microbiol.*— 2007.— Vol. 73.— P. 730—739.
16. Гречишников О. Г., Слободенюк В. В., Алешкин В. А., Лапин Б. А. и др. // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*.— 2009.— № 3.— С. 44—53.

Поступила 29.11.10.

PHENO- AND GENOTYPIC RESISTANCE OF CHLAMYDIA TRACHOMATIS TO ANTIBIOTICS IN PATIENTS WITH CHLAMYDIA INDUCED ARTHROPATHIES

L. V. Rubanik, N. N. Poleshchuk, N. F. Soroka, I. A. Varonko, D. A. Deikun, A. N. Astashonok, S. A. Kostyuk, O. S. Poluyan

Objective. To carry out an analysis of the pheno- and genotypic resistance of *Chlamydia trachomatis* strains to antibiotics of the tetracycline, fluoroquinolone groups and macrolides isolated from patients with *Chlamydia* induced arthropathies.

Materials and methods. Fifty seven patients having been diagnosed *Chlamydia* induced arthropathy and having been treated for *Chlamydia* induced arthropathy were examined. For determining the *C. trachomatis* isolates resistance to antibiotics a combined approach including testing of both the phenotypic and the genotypic components was used. The phenotypic resistance was determined in the McCoy cell culture using special discs containing average therapeutic concentrations of chemopreparations. The genotypic stability, i.e. the tet- u erm-genes fragments of *C. trachomatis* strains, was performed applying the standard PCR test systems.

Results. Presence of chlamydial infection was confirmed by the laboratory assays in every patient. However in eleven cases the *C. trachomatis* isolates were not supported in the sub-passages due to an active growth of the conditionally pathogenic microorganisms and viruses from the Herpesviridae family. The results of 46 *C. trachomatis* isolates phenotypic resistance assessment showed that they had different sensitivities to the antibiotics therapeutic concentrations. Phenotypic resistance to doxycycline — in 22 (47.83%) isolates, to tetracycline — in 14 (30.43%), to ofloxacin — in 13 (28.26%) isolates was registered most often. Twenty two (47.8%) isolates demonstrated resistance to several antibiotics at a time. While studying those isolates parallel for presence of gene fragments providing the genotypic to tetracycline and macrolides tet-gene was determined in 36 (78.26%) of the *C. trachomatis* isolates, the erm-gene was found in 19 (41.3%) of isolates. Both genes — tet- and erm-genes — were determined in 13 (28.26%) isolates at a time. The comparative analysis performed showed that in 33.7% of cases no correlation between the pheno- and genotypic resistances to antibiotics existed among the isolates studied.

Conclusion. *C. trachomatis* isolates resistant to the average therapeutic concentrations of anti-*Chlamydia* preparations (doxycycline, tetracycline, ofloxacin, etc.) are circulating in the Republic of Belarus. It is expedient to isolate *C. trachomatis* from patients with *Chlamydia* induced arthropathies and the disease frequent relapses resistant to therapy and to determine their phenol- and genotypic sensitivity to antibiotics.

Key words: *Chlamydia* induced arthropathy, *Chlamydia trachomatis*, resistance to antibiotics.

Адрес для корреспонденции:

Рубаник Людмила Владимировна.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 267-95-92.



Л. М. БЕЛЯЕВА, С. М. КОРОЛЬ, Н. В. МИКУЛЬЧИК,
О. Н. НЕСТЕРУК

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ТЕНОТЕН» В ПЕДИАТРИИ

Белорусская медицинская академия
последипломного образования

Проанализированы результаты лечения в течение 1 мес препаратом «Тенотен детский» у 30 детей в возрасте от 11 до 17 лет, имеющих различные симптомы вегетативной дисфункции. Клинико-психологическое обследование проведено до начала терапии и непосредственно после окончания курса приема препарата. Для оценки основных свойств типа личности и эмоциональной устойчивости использован тест Айзенка. Эффективность лечения тенотеном сравнивали с результатами лечения детей контрольной группы, где проводили необходимую терапию в соответствии с имеющимся соматическим заболеванием и стандартами терапии. Установлено, что тенотен детский устраняет проявления астении, стабилизирует психоэмоциональное состояние детей: улучшает настроение, успокаивает, способствует снижению раздражительности и капризности, нормализует сон.

Ключевые слова: дети, вегетативная дисфункция, тенотен детский.

В формировании психосоматических расстройств важная роль отводится неадекватному ответу организма на воздействие стрессогенов. Одним из вариантов дезадаптивных влияний вегетативной нервной системы (ВНС) является вегетососудистая дистония (ВСД). Ее удельный вес среди детского населения чрезвычайно высок: до 50—75% пациентов с неинфекционной патологией [1, 3—5]. Это обусловлено многими факторами: патологическим течением перинатального периода, высокой распространенностью хронических соматических и рецидивирующих респираторных заболеваний, антропогенными влияниями (экологические проблемы, нерациональные стереотипы питания и образа жизни), мощными психотравмирующими агентами (поступление в дошкольно-школьное учреждение, переход к предметному обучению, выбор дальнейшего образования) [3, 5, 8, 11, 14].

Вегетативная дистония — состояние, определяемое нарушением вегетативной регуляции сердца, сосудов, внутренних органов, желез внутренней секреции, связанное с отклонениями в структуре и функции центральной и периферической нервных систем. Термин *vegetativus* означает «оживляю, возбуждаю, расту», соответствует физиологическому значению ВНС в регуляции функций всех органов и систем [3].

Среди пациентов есть лица с преобладанием тонуса как парасимпатического, так и симпатического отделов ВНС. Повышенная симпатическая активность ассоциирована с наличием мигрени, артериальной гипертензии, болей в левой половине грудной клетки, пароксизмальной наджелудочковой тахикардии, па-

расимпатическая — с синкопальными состояниями, экстрасистолией.

Доказана высокая частота психопатологических расстройств у лиц с вегетативной дистонией в анамнезе. По мнению многих авторов, именно психопатологические расстройства у лиц с вегетативной дисфункцией являются первичными. Косвенно в пользу данной теории свидетельствует эффект от лечения бета-блокаторами, применение которых позволяет ликвидировать объективные признаки гиперсимпатикотонии (например, удается снизить частоту сердечных сокращений), однако другие проявления дистонии сохраняются [2, 9, 12, 13]. Лечение противотревожными препаратами приводит не только к коррекции психопатологических расстройств, значительному улучшению самочувствия пациентов, но и к исчезновению проявлений гиперсимпатикотонии (снижение частоты сердечных сокращений, нормализация уровня артериального давления, уменьшение количества или исчезновение суправентрикулярных экстрасистол, пароксизм наджелудочковой тахикардии) [1, 4, 14].

В настоящее время доказана высокая частота разнообразных моторных расстройств органов пищеварения на фоне вегетативной дистонии. Преобладание активности парасимпатического отдела сопровождается гипермоторными и гиперкинетическими, симпатического — гипотоническими, гипокинетическими нарушениями. Расстройства ВНС представлены также разнообразными метаболическими, секреторными, гемодинамическими нарушениями. Усиление кислотообразования и протеолитической активности желудочного сока, снижение гликопротеинов в желудочной слизи наблюдаются при ваготонии. У лиц с поверхностными и очаговыми атрофическими изменениями слизистой оболочки желудка или кишечника преобладает ваготония и недостаточное вегетативное обеспечение деятельности. Преобладание тонуса симпатического отдела ВНС сопровождается недостаточностью функции сфинктерного аппарата с развитием разнообразных рефлюксов. В настоящее время доказана роль ВНС в возникновении гастродуоденальных эрозий и язв [3, 5, 10]. Механизмы ulcerогенеза при вегетативной дисфункции различны: активация парасимпатической нервной системы сопровождается гиперсекрецией соляной кислоты и пепсина, повышение активности симпатической нервной системы — выбросом в кровь катехоламинов с последующим спазмом сосудов и нарушением трофики тканей [10].

С истощением функциональных возможностей органов и систем в результате перенесенного заболевания, особенно нервной системы при ее перенапряжении, а также вследствие аутоинтоксикации или экзогенного токсикоза возникает астенический синдром. Это наиболее частое клиническое проявление периода реконвалесценции после инфекционных заболеваний [11]. Утомление в течение длительного времени,

которое не компенсируется полным восстановлением, вызывает синдром перегрузки, вслед за которым развивается состояние истощения. Субъективно ощущаемое чувство утомления — прежде всего сигнал о перегрузке центральных регуляторных систем, неудовлетворительном состоянии энергетических ресурсов организма и аутоинтоксикации продуктами метаболизма. Длительное утомление, приводящее к истощению, является результатом стрессорного воздействия, вызывающего нарушение функций регуляторных систем — вегетативной, эндокринной и иммунной. Если стрессорные факторы действуют в течение длительного времени, может развиться реакция организма, при которой возможны функциональные изменения в виде вегетативной дисфункции. Синдром вегетативной дисфункции (СВД) включает в себя проявление всех форм нарушения вегетативной регуляции [2, 7, 8, 12]. Наряду с соматическими проявлениями: головокружением, головными болями, сердцебиением, одышкой, жаждой, булимией, рвотой после еды, непереносимостью отдельных видов пищи, субфебрилитетом неясного происхождения, кожными высыпаниями — у пациентов с СВД отмечены эмоциональные расстройства разной степени выраженности в виде тревожности, нарушения сна, беспричинного плача, а также нарушения поведения в виде импульсивности, повышенной двигательной активности и возбудимости, дефицита внимания, что клинически определяется как астеновегетативный или психовегетативный синдром.

Интерес и сложность проблемы астеновегетативного синдрома заключаются в том, что она является комплексной: медицинской, психологической и педагогической. Однако все специалисты сходятся во мнении, что такое состояние существует, его необходимо диагностировать и правильно корректировать [1, 3, 6, 12, 14]. Для коррекции вегетативных нарушений наиболее эффективным является комплексный подход, который включает медикаментозные и немедикаментозные методы терапии. Немедикаментозная терапия вегетативной дисфункции включает:

- правильную организацию труда и отдыха;
- соблюдение распорядка дня;
- занятия физической культурой;
- рациональное питание;
- психотерапию;
- водолечение;
- физиотерапию;
- иглорефлексотерапию (по показаниям).

Предлагаемые схемы ведения детей с вегетативной дисфункцией помимо немедикаментозной (в первую очередь, психологическая коррекция, которая не всегда доступна) включают большое количество лекарственных препаратов, преимущественно однонаправленного действия. При комплексном подходе, учитывая общее состояние организма «одно во всем, все в одном», это приводит к полипрагмазии. Кроме того, наличие побочных эффектов, строгие возрастные ограничения, аллергические реакции делают задачу терапии вегетативной дистонии трудновыполнимой, что повышает интерес к новым вариантам медикаментозного лечения.

Одним из препаратов комплексного действия, необходимого для коррекции вегетативной дисфункции у детей старше 3 лет, является «Тенотен детский», относящийся к группам анксиолитиков, ноотропов. Он содержит сверхмалые дозы аффинноочищенных антител к мозгоспецифическому белку S-100, отвечающему за сопряжение синаптических и метаболических процессов. Оказывая ГАМК-миметическое и нейротрофическое действие, тенотен повышает активность стресслимитирующих систем, нормализует нарушенные процессы активации и торможения в ЦНС, улучшает память и внимание. Не вызывает седативного, миорелаксантного, холинолитического действия. Высокий профиль безопасности препарата, отмеченный в ряде исследований, позволяет использовать его в течение длительного времени (до 6 мес), что особенно актуально при лечении ВСД у детей.

Трехмесячный курс терапии препаратом «Тенотен детский» позволяет добиться благоприятного течения общего адаптационного синдрома за счет адекватного и своевременного включения в работу стресслимитирующих систем, формирования резистентности к повреждающему фактору, обеспечивая адаптацию подавляющему числу детей, принимавших препарат, вне зависимости от возраста. Об этом свидетельствуют полученные результаты достоверно позитивной динамики исходного вегетативного тонуса, вегетативной реактивности, вегетативного обеспечения, вегетативных влияний на ЭКГ у исследуемых, лечившихся тенотеном детским, в сравнении с детьми, плацебоконтролируемыми [8].

Возможность длительного применения данного препарата при разнонаправленности его патогенетических воздействий и отсутствии побочных явлений позволяет рекомендовать его широкому кругу детей, находящихся под влиянием стрессогенных факторов и страдающих вегетативной дисфункцией.

Применение препарата «Тенотен детский» после перенесенных инфекционных заболеваний в дозе 1 таблетка 3 раза/день приводит к нормализации показателей вегетативного тонуса и обеспечения, уменьшает частоту соматоневрологических проявлений вегетативной дисфункции, что способствует более быстрому восстановлению [11].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о высокой эффективности тенотена детского в лечении и профилактике невротических и неврозоподобных состояний, психосоматических заболеваний, стрессорных расстройств с повышенной нервной напряженностью, раздражительностью, тревогой и вегетативными реакциями [2, 6, 8, 9, 11].

Проведено изучение клинической эффективности и переносимости препарата «Тенотен» в таблетках при лечении детей с различными проявлениями вегетативной дисфункции.

Материал и методы

Настоящее исследование выполнено на базе ревматологического и гастроэнтерологического отделений 4-й городской детской клинической больницы Минска.

Проведен анализ результатов лечения тенотеном у 30 детей в возрасте от 11 до 17 лет (средний возраст — $14,7 \pm 0,61$). В основную группу вошли 18 (60%) девочек и 12 (40%) мальчиков с различными симптомами вегетативной дисфункции.

Среди пациентов основной группы у 24 (80%) диагностирована вегетативная дисфункция, у 6 (20%) — астенический синдром. У 18 детей отмечали заболевания ЖКТ: хронический гастродуоденит — 12 (46,2%) случаев, синдром раздраженного кишечника (СРК) — 4 (15,4%), дискинезия желчевыводящих путей (ДЖВП) — 4 (15,4%), язва луковицы двенадцатиперстной кишки — 1 (3,8%) случай. В анамнезе у детей отмечались частые (более 4 раз в год) острые респираторные заболевания (19 (73,1%) детей), патология ЛОР-органов: аденоиды, синуситы (7, или 26,9%, детей).

Проведено клинико-лабораторное и психологическое обследование больных, которое включало:

- клиническую оценку состояния ребенка (головные боли и головокружение, обмороки, утомляемость, снижение успеваемости, слабость, сонливость, раздражительность, нарушение сна, повышенная потливость, боли и неприятные ощущения в области сердца, частый пульс);

- биохимические показатели;

- показатели общего анализа периферической крови и мочи;

- профиль артериального давления;

- тест Айзенка для оценки основных свойств типа личности и эмоциональной устойчивости.

Клинико-психологическое обследование проведено до начала терапии тенотеном и непосредственно после окончания курса приема препарата. Тенотен назначали в возрастных дозировках по стандартной схеме: 1 таблетка 3 раза/день в течение 1 мес. Таблетку больные рассасывали не менее чем за 1 ч до приема пищи. Все пациенты хорошо переносили препарат, побочных и аллергических реакций не наблюдалось.

Эффективность терапии тенотеном сравнивали с результатами лечения в контрольной группе, которую составили 20 пациентов (14 — с вегетативной дисфункцией, 6 — с астеническим синдромом), получавших необходимую лекарственную терапию в соответствии с имеющимся соматическим заболеванием и стандартами лечения. Средний возраст детей в данной группе — $14,3 \pm 1,24$ года.

Результаты и обсуждение

Установлена положительная динамика общих симптомов в основной группе при лечении тенотеном, а также в контрольной группе, где применяли стандартную терапию (табл. 1).

На фоне лечения с применением тенотена в течение 1 мес все дети отмечали субъективное улучшение самочувствия. Частота встречаемости головной боли снизилась с 93,3 до 40% ($\chi^2=15,26$; $P=0,0001$), пациенты отмечали уменьшение ее интенсивности, исчезла плаксивость, раздражительность, тревога, улучшился сон, снизилась частота встречаемости болей в животе с 42,3 до 15,4% ($\chi^2=4,59$; $P=0,0321$). Субъективно после лечения обследуемые отмечали стабилизацию АД в течение суток, хотя достоверного снижения показателей не выявлено (табл. 2).

При оценке типа личности тест Айзенка показал уменьшение числа экстравертов с 65,4 до 50% ($\chi^2=8,38$; $P=0,0038$) на фоне приема тенотена, а также повышение уровня эмоциональной устойчивости у детей с 3,8 до 43,6% ($\chi^2=6,07$; $P=0,0138$) (рисунок).

Таким образом, при приеме препарата «Тенотен» в течение 1 мес была выявлена положительная динамика в отношении астеновегетативных нарушений у детей.

Тенотен детский устраняет проявления астении, стабилизирует психоэмоциональное состояние детей: улучшает настроение, успокаивает, способствует снижению раздражительности и капризности, нормализует сон. Он безопасен для пациентов школьного возраста. Побочных эффектов во время применения тенотена не отмечено.

Таблица 1

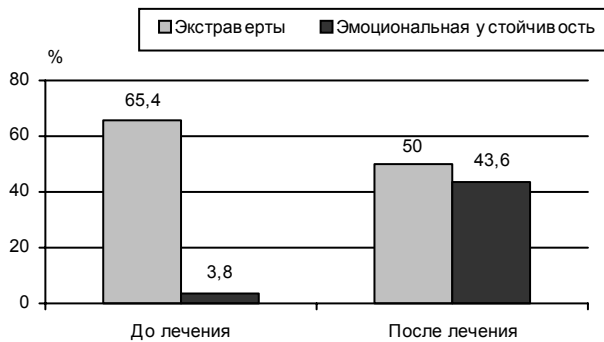
Динамика общих симптомов у детей с различными проявлениями вегетативной дисфункции

Показатель	Основная группа		Контрольная группа	
	до лечения абс. (%)	после лечения абс. (%)	до лечения абс. (%)	после лечения абс. (%)
Головные боли и головокружение	28 (93,3)	12 (40)	19 (95)	9 (45)
Раздражительность	12 (40)	3 (10)	11 (55)	8 (40)
Утомляемость, снижение успеваемости	16 (53,3)	5 (16,7)	10 (50)	5 (25)
Обмороки	2 (7)	—	3 (15)	—
Слабость, сонливость	8 (26,7)	—	10 (50)	3 (15)
Нарушение сна	15 (50)	—	15 (75)	6 (30)
Повышенная потливость	7 (23,3)	2 (7)	4 (20)	3 (15)
Боли и неприятные ощущения в области сердца	9 (30)	2 (7)	7 (35)	1 (5)
Учащенный пульс	4 (13,3)	—	4 (20)	—

Таблица 2

Показатели САД и ДАД на фоне лечения тенотеном

Показатель	n	До лечения Ме [25;75]	После лечения Ме [25; 75]	Тест Вилкоксона	
				Z	P
САД, мм рт. ст.	30	110 [105;130]	110 [110; 120]	1,23	0,2180
ДАД, мм рт. ст.	30	70 [70; 80]	70 [70; 80]	1,18	0,2393



Динамика психоэмоционального статуса на фоне приема тенотена

Препарат «Тенотен» может быть рекомендован для применения в комплексной терапии вегетативной дисфункции, артериальной гипертензии, заболеваний ЖКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аведисова А. С. Психические расстройства в общемедицинской практике и их лечение / Под ред. Ю. А. Александровского.— М., 2004.— С. 66—73.
2. Бархатов М. В., Бархатова С. Ю., Носырев А. В. и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 2009.— Вып. 8 (прил.).— С. 85—87.
3. Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение / Под ред. А. М. Вейна — М., 2000.
4. Захаров А. И. Происхождение и психотерапия детских неврозов.— СПб., 2006.
5. Козлова Л. В. Вегетативная дисфункция у детей и подростков.— М., 2008.
6. Кондюрина Е. Г., Зеленская В. В., Елкина Т. Н., Гулевская Н. Г. // Леч. врач.— 2010.— № 6.— С. 83—85.

7. Коровина Н. А., Захарова И. Н., Гаврюшова П. П. и др. Вегетативная дистония у детей.— М., 2007.

8. Литвиненко Н. В. Социально-психологическая адаптация школьников в критические периоды развития (индивидуально-типологический подход).— М., 2007.

9. Лобов М. А., Борисова М. Н., Осипова О. В. и др. // Педиатрия.— 2008.— Т. 87, № 5.— С. 107—109.

10. Миронычев Г. Н., Логинов А. Ф., Калинин А. В. // Врач.— 1997.— № 6.— С. 13—15.

11. Михайлова Е. В., Ильичева Т. А. // Леч. врач.— 2009.— № 8.— С. 68—71.

12. Неудахин Е. В. // Практика педиатра.— 2008.— Вып. 3.— С. 5—8.

13. Сергеева С. А. // Поликлиника.— 2006.— № 2.— С. 88—89.

14. Царегородцева Л. В. // Леч. врач.— 2007.— № 9.— С. 28—31.

Поступила 24.10.11.

EXPERIENCE OF TENOTEN ADMINISTRATION IN PEDIATRICS

L. M. Belyaeva, S. V. Korol, N. V. Mikulchik, O. N. Nesteruk

The outcomes of treating thirty children aged 11 to 17 years with various symptoms of vegetative dysfunction for one month administering Tenoten for children were analyzed. The clinic-psychological examinations had been performed before the therapy and immediately after the course of the drug administration had been completed. For assessing the main personal characteristics and emotional stability Aizenek's test was applied. The Tenoten therapy efficiency was compared with the results of treating children from the control group managed as it was necessary in accordance with the somatic disease present and the therapeutic standards. Tenoten for children was determined to eliminate the asthenia manifestation, to stabilize children's psycho-emotional state: it improved mood, tranquilized, favored the irritability and capriciousness reduction, normalized sleep.

Key words: children, vegetative dysfunction, Tenoten for children.

Адрес для корреспонденции:

Беляева Людмила Михайловна.

Белорусская медицинская академия последипломного образования.

220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3; сл. тел. (8-017) 292-25-83.

Медицинская литература России

Системные синдромы в акушерско-гинекологической клинике: Руководство для врачей / Под ред. А. Д. Макацария.— М., 2010.

Скоромец А. А., Скоромец А. П., Скоромец Т. А. **Нервные болезни: Учеб. пособие.**— М., 2010.

Справочник врача скорой и неотложной медицинской помощи / Авт.-сост. А. Н. Инькова, Е. Г. Кадиева, А. Л. Исян и др. — М., 2011.

Сыркин А. Л., Новикова Н. А., Терехин С. А. **Острый коронарный синдром.**— М., 2010.

Табеева Г. Р., Яхно Н. Н. **Мигрень.**— М., 2011.

Татарников М. А. **Сборник должностных инструкций работников учреждений здравоохранения.**— М., 2010.

Терапевтическая стоматология: Учебник для вузов / Под ред. Е. В. Боровского.— М., 2011.

Тихонова Т. К., Гайворонских Д. И., Абашин В. Г. **Иллюстрированные конспекты лекций по акушерству: Учеб. пособие для вузов.**— СПб., 2011.

Тополянский А. В., Талибов О. Б. **Неотложная кардиология: Справочник /** Под общ. ред. А. Л. Верткина.— М., 2011.



Т. С. ДИВАКОВА, Е. А. МИЦКЕВИЧ, М. П. ФОМИНА

УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ПРОЛАПСА ГЕНИТАЛИЙ И НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ У ЖЕНЩИН

Витебский государственный медицинский университет

Диагностические мероприятия при патологии тазового дна направлены на определение вида и степени выраженности опущения половых органов, типа недержания мочи, выявление возможных причин заболевания для адекватного обоснования метода лечения. Целью настоящего исследования явилось установление роли двух- и трехмерного ультразвукового исследования органов малого таза в диагностике пролапса гениталий и недержания мочи у женщин для проведения симультанного хирургического лечения с использованием синтетических сетчатых материалов.

Ключевые слова: пролапс половых органов, стрессовое недержание мочи, дисфункция тазового дна, сонография, синтетические имплантаты, симультанная операция.

Пролапс внутренних половых органов и недержание мочи у женщин являются чрезвычайно актуальной проблемой в гинекологии. Существует множество оперативных вмешательств для коррекции нарушенной функции тазового дна и органов малого таза, что говорит о недостаточной их эффективности и необходимости индивидуального подбора лечения в зависимости от формы и степени тяжести патологии [3, 5].

В настоящее время выявлены общие патогенетические основы возникновения пролапса гениталий и стрессового недержания мочи, что позволяет в ходе симультанных операций с использованием синтетических и биологических сетчатых материалов корректировать сочетанную патологию [2, 3, 6]. Опущение стенок влагалища необходимо рассматривать как результат дефектов лобково-шеечной и прямокишечно-влагалищной фасций, отрыв их от стенок таза. Большое значение в механизме удержания мочи имеют особенности топографии мочевого пузыря и уретры, обусловленные также состоятельностью тазовых фасций. Опущение и выпадение половых органов ввиду близкого анатомического расположения затрагивают функции мочевого пузыря и уретры, способствуя увеличению их подвижности. Чрезмерная подвижность уретры и шейки мочевого пузыря при напряжении (чаще у пациенток с пролапсом внутренних половых органов) или недостаточность сфинктера не обеспечивают адекватного удержания мочи при подъеме внутрибрюшного давления [2, 7, 8]. Недержание мочи вследствие напряжения разделяется на два вида: 1-й — связан с дислокацией и ослаблением связочного аппарата при неизменном мочеиспускательном канале и уретровезикальном сегменте, что относится к анатомическому недержанию мочи;

2-й — связан с изменениями в самом мочеиспускательном канале и сфинктерной системе, приводящими к нарушению функции замыкательного аппарата.

Рецидив недержания мочи и пролапса гениталий после хирургического лечения может быть обусловлен недостаточной информативностью обследования, которое обычно включает анализ жалоб, гинекологический осмотр с выполнением функциональных проб, анализ опросников и дневников мочеиспускания [1, 3, 5]. Целью диагностических мероприятий при патологии тазового дна является определение вида и степени выраженности опущения половых органов, установление типа недержания мочи, выявление возможных причин заболевания для адекватного обоснования метода лечения [4, 7]. В настоящее время отсутствует единый алгоритм обследования для корректного выбора метода лечения пролапса гениталий и стрессового недержания мочи у женщин.

Целью настоящего исследования явилось установление роли двух- и трехмерного ультразвукового исследования органов малого таза в диагностике вида, степени пролапса гениталий и типа недержания мочи у женщин для проведения симультанного хирургического лечения с использованием синтетических сетчатых материалов.

Материал и методы

В исследование включены 52 женщины с сочетанием пролапса гениталий и недержанием мочи (основная группа), которые составили 61% от всех госпитализированных с несостоятельностью мышц тазового дна во Вторую областную клиническую больницу Витебска в 2006—2010 гг. Степень и вид пролапса гениталий определяли по международной классификации POP-Q (Pelvic Organ Prolapse Qualification, 1996), вид недержания мочи — согласно классификации ICS (The International Society of Continence, 1988), степень инконтиненции — по Т. А. Stamey (1975). В контрольную группу вошли 20 здоровых женщин. Женщины, принимавшие участие в исследовании, были сопоставимы по возрасту, соматическому статусу, акушерско-гинекологическому анамнезу. Средний возраст в основной группе составил $50,7 \pm 6,5$ года, в контрольной — $51,6 \pm 7,3$ года.

Первоначальное обследование начинали с тщательного сбора анамнеза и гинекологического осмотра. При оценке жалоб обращали внимание на время начала заболевания, особенности течения болезни, влияние образа жизни, вредных привычек, условий труда, связь с менопаузой, семейный анамнез, прием лекарственных препаратов. Учитывали сопутствующую гинекологическую и нефрологическую патологию, паритет родов, перенесенные оперативные вмешательства.

Каждая из пациенток вела дневник мочеиспускания в течение 3—5 сут, отмечая количество мочи, выделенной за одно мочеиспускание, частоту мочеиспускания за сутки, эпизоды недержания мочи, число

используемых прокладок и физическую активность. Дневник позволял оценить мочеиспускание в привычной для больной обстановке, а также после лечения через 1, 2, 3 мес и в последующем — через 0,5 года.

Обследование начинали с осмотра наружных половых органов и преддверия влагалища. При оценке слизистой оболочки вульвы и влагалища обращали внимание на наличие атрофических изменений, которые указывают на эстрогенную недостаточность. При вагинальном исследовании оценивали размер влагалища, состояние слизистой оболочки и характер выделений, наличие рубцовой деформации влагалища и уретры, положение уретры и шейки мочевого пузыря, наличие и форму цистоцеле и уретроцеле, наличие и степень ректоцеле, положение шейки и тела матки, расположение и подвижность шейки мочевого пузыря по отношению к симфизу. Осмотр наружных половых органов дополняли тестом элевации шейки мочевого пузыря (тест Бонни). Выполняли «кашлевую пробу» для диагностики стрессового недержания мочи и опущения половых органов.

Целью проведенных лабораторных исследований (общий анализ крови, общий анализ мочи, анализ мочи по Нечипоренко, посев мочи на микрофлору) было исключение инфекции нижних мочевых путей.

Ультразвуковое исследование выполняли на аппаратах «Siemens Sonoline Adara» и «Voluson 730 Expert». Сонографическое исследование в 2D- и 3D-режиме проводили для выработки ультразвуковых критериев, характеризующих нормальную топографию органов малого таза у здоровых женщин и отражающих особенности их взаимоположения у пациенток с пролапсом гениталий и недержанием мочи. Оценивали взаимосвязь между данными объективного обследования и результатами ультразвукового исследования органов малого таза. При помощи трансабдоминального исследования определяли взаимоположение мочевого пузыря, уретры и тела матки, выявляли пролабирование задней стенки мочевого пузыря (цистоцеле), изучали смещение органов малого таза при выполнении пробы Вальсальвы.

При помощи технологии трехмерной реконструкции определяли диаметр проксимального отдела уретры и соотношение с площадью его просвета, толщину внутреннего сфинктера уретры, состояние мышц тазового дна и тонус детрузора. Цистоскопию выполняли у 8 пациенток основной группы для исключения воспалительных и неопластических поражений мочевого пузыря.

В основной группе для лечения больных использовали 3-этапную методику лечения недержания мочи и пролапса гениталий. На I этапе с целью улучшения трофики тканей нижней части мочевого тракта, снижения сократительной активности детрузора и увеличения функциональной емкости мочевого пузыря назначали курантил, эстриол и везикар (по показаниям). На II этапе при сочетанной патологии тазового дна отдавали предпочтение симультанному оперативному лечению пролапса гениталий и недержания мочи. Для коррекции стрессового компонента использовали методикуTVT-O в собственной модификации [3]. Для хирургического лечения опущения и выпадения поло-

вых органов применяли как традиционные методики, так и современные методы лечения с использованием сетчатых имплантов. На III этапе медикаментозную терапию везикаром, курантилом и эстриолом дополняли поведенческой терапией. Результаты оценивали через 1—4 года после хирургического лечения.

Анализ данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

Основными жалобами пациенток с сочетанием пролапса гениталий и недержанием мочи были: боли в низу живота, ощущение дискомфорта, «инородного тела» в области промежности, неконтролируемое выделение мочи при физической нагрузке, частые позывы к мочеиспусканию.

На появление симптомов дисфункции тазового дна в перименопаузе указали 73,1% больных, длительность формирования пролапса гениталий составила $5,3 \pm 2,7$ года, недержания мочи — $3,7 \pm 2,6$ года.

Среди причин заболевания пациентки называли: физический труд — 40,4%, травмы в родах — 23,1%, отягощенную наследственность — 16,4%. Более 2 родов имели 7,7% женщин основной группы и 5,0% — контрольной.

Из сопутствующей гинекологической патологии преобладали: климактерический синдром — у 59,6%, гиперпластические процессы гениталий — у 55,8%, хронические воспалительные заболевания гениталий — у 28,9% женщин. Нефрологическая патология была у 5 (9,6%) пациенток в виде хронического пиелонефрита, хронического цистита, нефроптоза. В контрольной группе заболевания мочевыделительной системы выявлены у 3 (15,05%) женщин.

По поводу пролапса гениталий ранее были прооперированы 3 пациентки с использованием традиционных методов: кольпоперинеорафия и леваторопластика.

В результате клинического обследования женщин основной группы выявлено, что пролапс гениталий I степени имел место у 8 пациенток (15,4%), II степени — у 13 (25,0%), III степени — у 27 (51,9%), IV степени — у 4 (7,7%). Стрессовое недержание мочи отмечено у 14 (26,9%) обследованных, смешанное недержание — у 38 (73,1%). Степень выраженности стрессового компонента недержания мочи была легкой у 14 (26,9%) пациенток, средней — у 31 (59,6%), тяжелой — у 7 (13,5%).

Ультразвуковые критерии, свидетельствующие о патологическом или нормальном взаимоотношении органов малого таза, включали: угол инклинации уретры; задний уретровезикальный угол; отношение нижнего полюса дна мочевого пузыря к лонному сочленению; объем мочи при первом позыве к мочеиспусканию; остаточный объем мочи. Параметры исследовали в покое и при напряжении (проба Вальсальвы).

Так, угол инклинации уретры в основной группе был больше и составил $65,6 \pm 7,5^\circ$ ($P < 0,05$) в сравнении с контролем, где он имел значение $42,7 \pm 2,7^\circ$. При натуживании отмечено также увеличение угла: в основной группе — $75,4 \pm 3,6^\circ$ ($P < 0,05$), в контроле —

24,3±5,7°. Проба Вальсальвы или увеличивала соответствующие значения, или не изменяла их.

Задний уретровезикальный угол в основной группе составил 126,9±9,4°, при натуживании — 109,7±6,3° ($P<0,05$). В случае наличия цистоцеле он уменьшался, при отсутствии — увеличивался. Показатель заднего уретровезикального угла в контрольной группе в покое был меньше и составил 99±9,2° ($P<0,05$), при натуживании, наоборот, был больше — 127,2±7,2°; $P<0,05$ (рис. 1).

В основной группе в 43 (82,7%) случаях имела место деформация и смещение задней стенки мочевого пузыря ниже лонного сочленения. В контрольной группе не наблюдали деформацию и пролабирование задней стенки мочевого пузыря в покое и при пробе Вальсальвы.

В основной группе объем мочи при первом позыве к мочеиспусканию был меньше и составил 109,7±39,3 мл, в контрольной — 180,2±20,7 мл ($P<0,05$). Остаточный объем мочи был больше — 23,2±3,1 мл и 15,5±4,1 мл соответственно ($P<0,05$).

По данным трехмерной сонографии, в основной группе диаметр проксимального отдела уретры больше и составил 1,71±0,42 см; в контрольной — 1,13±0,11 см ($P<0,05$). Толщина внутреннего сфинктера уретры в основной группе меньше в сравнении с контрольной группой — 0,29±0,07 см, 0,49±0,09 см соответственно ($P<0,05$). Таким образом, недостаточность внутреннего сфинктера уретры имела место в 28,8% случаев.

При сонографической визуализации структур тазового дна выявлено истончение мышц шейки мочевого пузыря у обследованных основной группы по сравнению со здоровыми женщинами. Гипотония детрузора диагностирована у 5 (9,6%) пациенток с пролапсом гениталий и недержанием мочи.

На основании данных клинко-инструментального обследования больных проводили индивидуальный подбор метода симультанной коррекции патологии тазового дна. Так, при сочетании симптомов стрессового и смешанного недержания мочи и признаков гипермобильности уретры отдавали предпочтение slingу уретры по методике TVT-O в собственной модификации (рис. 2).

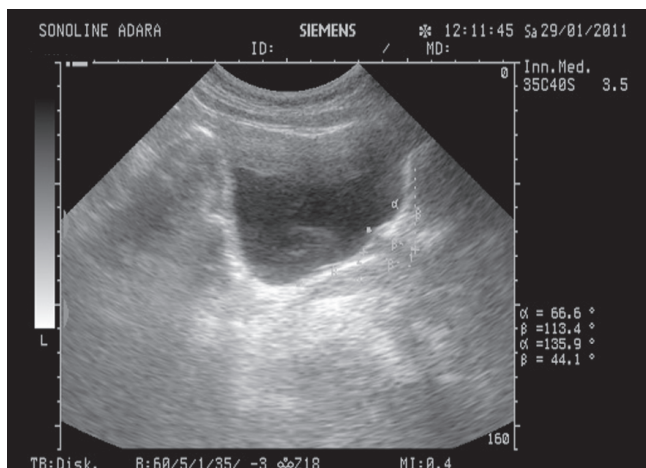


Рис. 1. Угол инклинации уретры и задний уретровезикальный угол

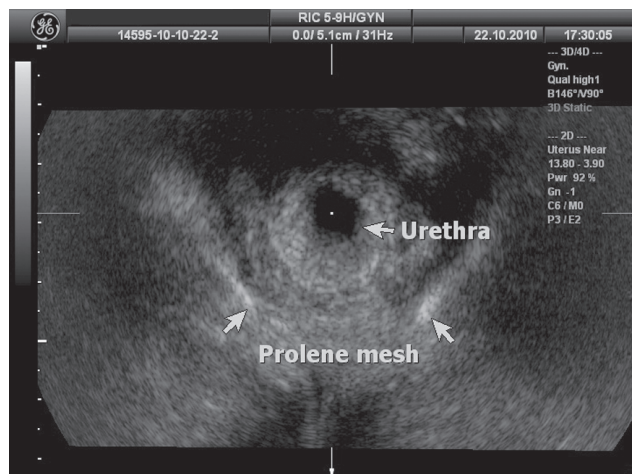


Рис. 2. Расположение сетчатого импланта после операции TVT-O в собственной модификации

Для хирургического лечения опущения и выпадения внутренних половых органов применяли традиционные методики с использованием собственных тканей и замещение дефектов тазового дна сетчатыми имплантами. При выборе метода лечения учитывали вид и степень пролапса, возраст пациентки, сексуальную активность, влияние заболевания на функции смежных органов. Передний пелвикс в сочетании со slingом уретры TVT-O сеткой полипропилен фирмы «Линтекс» использовали у 28 (53,8%) женщин; перинеолеваторопластику в сочетании со slingом уретры TVT-O сеткой полипропилен фирмы «Линтекс» — у 12 (23,1%); пластику передней стенки влагалища, перинеолеваторопластику в сочетании со slingом уретры TVT-O — у 4 (7,7%); лапароскопическое укорочение круглых связок в сочетании со slingом уретры TVT-O — у 3 (5,8%); манчестерскую операцию в сочетании со slingом уретры TVT-O — у 3 (5,8%) пациенток; влагалищную гистерэктомию, перинеолеваторопластику в сочетании со slingом уретры TVT-O — у 2 (3,8%).

Спустя 0,5—4 года после хирургического вмешательства эффективность комбинированной терапии при сочетанной патологии тазового дна составила 86,5%, частичная эффективность — 13,5%. Случаи отсутствия или отрицательного результата лечения либо рецидив пролапса гениталий не выявлены. Частичная эффективность обусловлена, как правило, только наличием симптомов недержания мочи. При анализе жалоб и дневников мочеиспускания у 7 женщин с остаточными явлениями инконтиненции после комбинированного лечения установлен ургентный компонент недержания мочи в 42,9% и смешанный — в 57,1% случаев.

По результатам ультразвукового исследования пациенток после хирургического лечения угол инклинации уретры стал меньше и составил в покое 48,6±6,4° ($P<0,05$), при натуживании — 38,7±5,8° ($P<0,05$); задний уретровезикальный угол в покое после операции — 106,9±3,2° ($P<0,05$), при натуживании — 123,7±7,6°; $P<0,05$ (рис. 3).

В 11 (21,2%) случаях отмечена деформация и смещение задней стенки мочевого пузыря ниже лонного сочленения. На основании данных трехмерной соно-

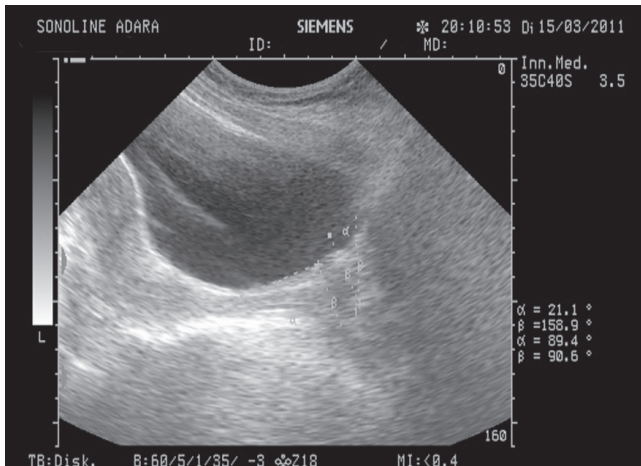


Рис. 3. Угол инклинации уретры и задний уретровезикальный угол после хирургического лечения

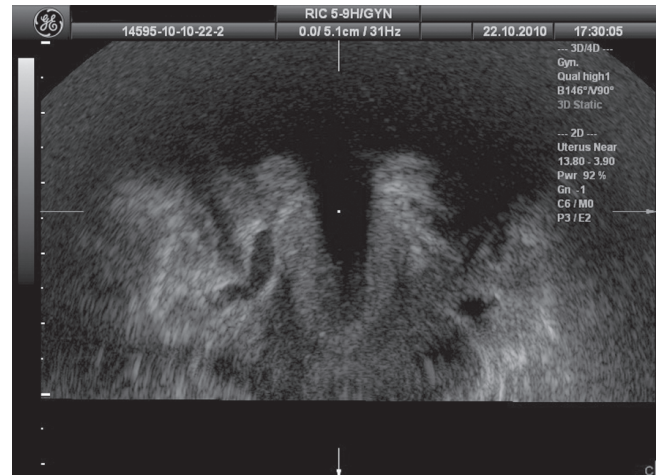


Рис. 4. Недостаточность внутреннего сфинктера уретры

графии в 28,8% случаев сохранялись признаки недостаточности внутреннего сфинктера уретры (рис. 4), в 9,6% — атонии детрузора (рис. 5), что соответствовало частичной эффективности лечения. Ни в одном случае не отмечено недержание мочи *de novo*.

Выводы

1. У женщин с пролапсом гениталий и недержанием мочи в 73,1% случаев имело место смешанное недержание мочи на фоне III степени пролапса гениталий, стрессовое недержание мочи со средней степенью инконтиненции отмечено у 26,9% пациенток.

2. Ультразвуковая трехмерная реконструкция уретровезикального сегмента позволяет измерить диаметр мочеиспускательного канала, оценить состояние мышц тазового дна, выбрать вид и объем хирургического лечения.

3. Нормализация взаимоотношения уретровезикального сегмента (уменьшение угла инклинации уретры в покое и при натуживании, увеличение заднего уретровезикального сегмента при выполнении пробы Вальсальвы, отсутствие деформации задней стенки мочевого пузыря), по данным сонографии, соответствовала полной эффективности simultaneous хирургического лечения больных с пролапсом гениталий и стрессовым недержанием мочи. Выявление недостаточности внутреннего сфинктера уретры в 28,8% случаев, слабости и атонии детрузора в 9,6%, деформации и смещения задней стенки мочевого пузыря ниже лонного сочленения в 21,2% свидетельствовало о частичной эффективности лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дивакова Т. С., Мастыков А. Н., Кононова Е. А. // Материалы 63-й науч. сессии университета (ВГМУ).— Витебск, 2008.— С. 237—239.
2. Дивакова Т. С., Мицкевич Е. А. // Репродуктивное здоровье в Беларуси.— 2009.— № 5.— С. 21—37.
3. Долгих Т. А. Эффективность хирургического лечения пролапса тазовых органов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 2008.
4. Краснопольский В. И., Титченко Л. И., Чечнева М. А. и др. // Рос. вестн. акушера-гинеколога.— 2003.— № 3.— С. 31—35.
5. Araki I., Haneda Y., Mikami Y., et al. // *Urogynecol.*— DOI 10.1007/s00192-009-0954-2.

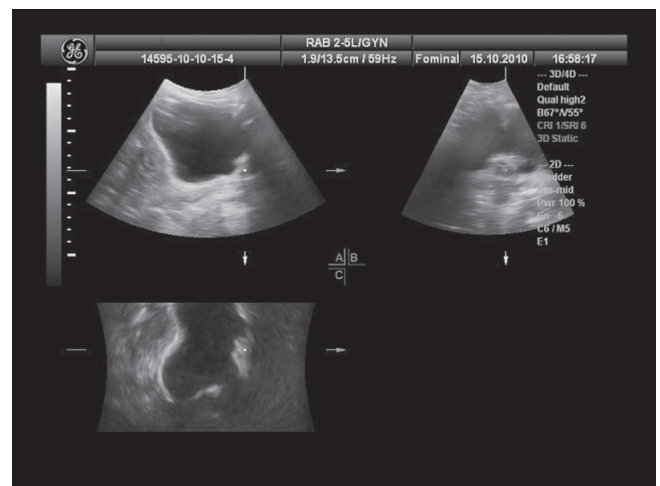


Рис. 5. Атония детрузора

6. Chene G., Cotte B., Tardieu A.-S., et al. // *Urogynecol.*— 2008.— Vol. 19.— P. 1125—1131.

7. Denman M. F., Gregory T., Boyles S. H., et al. // *Obstet. Gynecol.*— 2008.— Vol. 198, № 1.— P. 555—556.

8. Jeon M.-J., Jung H.-J., Chung S.-M., et al. // *Obstet. Gynecol.*— 2008.— Vol. 199, № 1.— P. 76—77.

Поступила 13.10.11.

SONOGRAPHIC EXAMINATION IN DIAGNOSIS OF FEMALE GENITALIA PROLAPSED AND URINARY INCONTINENCE

T. S. Divakova, E. A. Mitskevich, M. P. Fomina

The diagnostic actions in case of the pelvic floor pathology are aimed at determining the kind and the degree of the genital organs falling, the urinary incontinence type, at revealing the pathology possible causes so that to substantiate the choice of an adequate method of management. In the present study the role of the two- and three-dimensional regimes of sonographic examination of the small pelvic organs for diagnosis of female genitalia prolapsed and urinary incontinence was to be determined for the further simultaneous surgical management applying synthetic gauze materials.

Key words: genital organs prolapsed, stress urinary incontinence, pelvic floor dysfunction, sonography, synthetic implants, simultaneous operation.

Адрес для корреспонденции:

Дивакова Татьяна Семеновна.

Витебский государственный медицинский университет.

210602, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27; сл. тел. (8-0212) 24-49-73.

Л. Ф. МОЖЕЙКО, Е. В. НОВИКОВА

ПРОФИЛАКТИКА ПОСЛЕАБОРТНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Белорусский государственный медицинский университет

Представлены показатели, характеризующие состояние иммунного и прооксидантно-антиоксидантного статусов, частота и виды возникновения послеабортных осложнений у молодых нерожавших женщин в возрасте 18—35 лет, а также результаты применения различных методов профилактики осложнений искусственного прерывания беременности.

Ключевые слова: искусственный аборт, послеабортные осложнения, орнизол.

Искусственное прерывание беременности, несмотря на разнообразие и доступность существующих методов контрацепции, остается одним из наиболее распространенных способов регуляции рождаемости. Ежегодно в мире беременеет более 200 млн женщин фертильного возраста, из которых около 46 млн прибегают к искусственному прерыванию беременности [5, 9]. В Республике Беларусь в последнее время отмечается тенденция к снижению количества искусственных абортов. Так, если в 1997 г. их было 260,8 тыс., то к 2009 г. этот показатель снизился в 7 раз и составил 36 тыс. [13]. Согласно данным А. В. Котельникова и соавт., послеабортные осложнения возникают у 46% женщин, причем в структуре осложнений следует особо отметить воспалительные процессы — эндометрит и аднексит, частота которых составляет 4,2—15,4% и 3,2—18% соответственно, кроме того, до 50% прерывавших беременность отмечают нарушения менструального цикла [5, 8, 9]. По данным ВОЗ, в структуре причин материнской летальности прерывание беременности составляет 13—50% [7]. Следует также отметить, что в литературе имеются сведения о значительных изменениях в иммунной системе после прерывания беременности, которые характеризуются депрессией клеточного и гуморального звеньев иммунитета и активацией аутоиммунных реакций [2, 3, 10]. Кроме того, послеабортный период характеризуется активацией процессов липопероксидации, что сопровождается повышением уровня малонового диальдегида (МДА) и снижением антиоксидантной защиты организма [3].

Материал и методы

Обследована 81 женщина в возрасте 18—35 лет, которым проводилось искусственное прерывание беременности в сроке гестации до 12 нед методом медицинского аборта. В ходе выполнения работы на каждую пациентку заполняли индивидуальную карту, в которой отмечали паспортные данные, возраст, показатели общего и гинекологического анамнезов, социальный статус, наличие и/или отсутствие осложнений после прерывания беременности, результаты клинико-лабораторных и специальных методов обследования. Иммунный статус оценивали путем определения содержания IgA, IgM и IgG в сыворотке крови и иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+), прооксидантно-антиоксидантный статус — по уровню наработки конечного продукта перекисного окисления липидов — МДА, и активности антиоксидантного фермента — супероксиддисмутазы (СОД). Пациенток в зависимости от применяемой схемы антибактериальной терапии разделили на 2 груп-

пы. Основная группа включала 41 женщину, которым с целью профилактики послеабортных осложнений назначали дорамидин 3 млн МЕ 2 раза в сутки в сочетании с орнизолом (500 мг 2 раза в сутки перорально в течение 5 дней). Орнизол (корпорация «Артериум», Украина) — противопаразитарный препарат с антимикробной активностью в отношении трихомонад, гарднерелл, а также облигатных анаэробных возбудителей (бактероиды, фузобактерии и др.) и некоторых грамположительных бактерий (кlostридии, пептострептококки и др.). В отличие от метронидазола орнизол не вызывает антабусную реакцию, обладает высокой бактерицидной активностью, меньшей выраженностью побочных эффектов, к нему реже формируется резистентность у трихомонад и в крови намного дольше сохраняется эффективная противотрихомонадная концентрация.

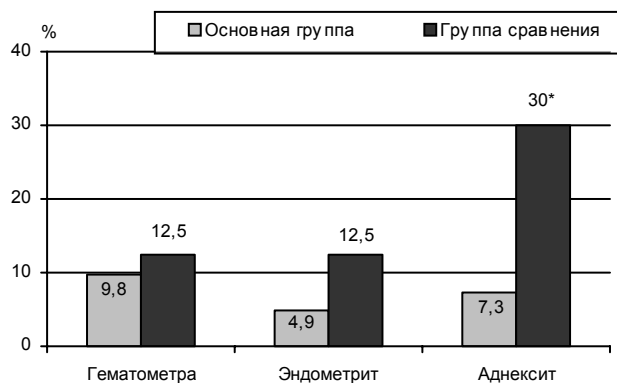
Группу сравнения составили 40 пациенток, получавших ципрофлоксацин 500 мг 2 раза в сутки и метронидазол 250 мг 3 раза в сутки перорально 5 дней.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

Проанализирована частота возникновения осложнений после искусственного прерывания беременности. Выявлено, что в группе сравнения послеабортные осложнения возникали в 55% случаев, что в 2 раза чаще, чем в основной группе, где они отмечались лишь у 21,9% женщин ($\chi^2=8,01$, $P<0,005$). На рисунке представлена структура выявленных осложнений в обследованных группах пациенток.

Из рисунка следует, что подострый аднексит после медицинского аборта достоверно чаще возникал у пациенток группы сравнения, а также отмечалась тенденция и к более высокой частоте встречаемости гематометры и эндометрита в сравнении с женщинами, получавшими дорамидин в сочетании с орнизолом. Продолжительность кровянистых выделений у пациенток основной группы была меньше и составляла $8\pm 0,6$ дня, в группе сравнения они наблюдались в среднем $10,5\pm 0,7$ дня ($P<0,05$). Следует также отметить, что у пациенток основной группы не выявлялась гипертермическая реакция, в то время как каждая четвертая женщина из группы сравнения указала на повышение температуры до $37,5—38^\circ\text{C}$. При этом субъективно пациентки основной группы не жаловались на антабусную реакцию, изменение вкусовых ощущений или потерю аппетита, что отмечалось у большинства женщин, получавших метронидазол.



Частота возникновения осложнений после искусственного прерывания беременности. * $P<0,05$

Таблица 1

Содержание IgA, IgM и IgG в сыворотке крови у пациенток с прерыванием беременности

Показатель	Основная группа		Группа сравнения	
	до медицинского аборта	на 5-е сутки наблюдения	до медицинского аборта	на 5-е сутки наблюдения
IgA, мг/мл	1,15±0,17	1,84±0,09*	1,33±0,21	1,29±0,22
IgM, мг/мл	1,48±0,19	1,98±0,21	1,65±0,12	1,64±0,14
IgG, мг/мл	9,38±2,08	15,68±1,46*	6,98±1,48	7,48±0,69

*Здесь и в табл. 2 достоверность различий показателей по сравнению с таковыми в группе сравнения, P<0,05.

Таблица 2

Состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса обследованных пациенток

Показатель	Основная группа		Группа сравнения	
	до медицинского аборта	на 5-е сутки наблюдения	до медицинского аборта	на 5-е сутки наблюдения
СОД, ед/мг Hb	6,32±0,72	7,01±0,82	6,74±0,38	6,65±0,53
МДА, мкмоль/мл	12,37±0,66	6,86±0,51*	11,23±0,85	12,92±0,31

До искусственного прерывания беременности достоверных различий в иммунологических показателях у пациенток обеих групп не выявлено (табл. 1).

Из полученных данных видно, что на 5-е сутки после аборта у пациенток основной группы содержание IgA и IgG в сыворотке крови было достоверно выше, чем в группе сравнения. Значения иммунорегуляторного индекса в этот период у женщин основной группы также достоверно превышали аналогичный показатель у пациенток группы сравнения (1,61 [1,25; 1,91] и 1,15 [1,10; 1,18] соответственно; P<0,05).

При анализе интенсивности процессов перекисного окисления липидов отмечено более низкое (P<0,05) содержание МДА в гемолизате венозной крови у обследованных женщин, получавших орнизол, в сравнении с пациентками, принимавшими метронидазол. При этом не выявлено статистически значимых различий в активности СОД (табл. 2).

Выводы

1. У пациенток, получавших дорамидин (3 млн МЕ 2 раза в сутки) в сочетании с орнизолом (500 мг 2 раза в сутки перорально), отмечалась лучшая переносимость терапии, а продолжительность кровянистых выделений после аборта была меньше в сравнении с женщинами, которым назначали ципрофлоксацин с метронидазолом.

2. У пациенток основной группы отмечались более высокое содержание иммуноглобулинов группы А и G в сыворотке крови и показателей иммунорегуляторного индекса после медицинского аборта. Это сопровождалось снижением интенсивности процессов липопероксидации, что может свидетельствовать о лучшем восстановлении иммунологической реактивности и прооксидантно-антиоксидантного баланса в послеабортный период.

3. Применение после медицинского аборта комплексной терапии, включающей дорамидин с орнизолом способствует снижению частоты возникновения воспалительных осложнений и сохранению репродуктивного здоровья молодых женщин.

ЛИТЕРАТУРА

- Нестеров И. М., Тотолян А. А. Иммунокорректирующая терапия инфекционно-воспалительных заболеваний женской половой сферы.— СПб., 2007.
- Камбарашвили А. О. Профилактика гнойно-воспалительных послеабортных заболеваний с применением Т-активина: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1990.
- Князева В. О. Состояние гуморального иммунитета и перекисного окисления липидов у женщин после прерывания

беременности в поздние сроки в условиях КВЧ-терапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Новосибирск, 2007.

- Протасова И. Н., Цхай В. Б., Перьянова О. В., Макаренко Т. А. // *Вестн. Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина.*— 2007.— Т. 5, № 1.— С. 10—14.
- Котельников А. В., Сторожук А. П., Зубко А. А. // *Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и педиатрии.*— 1999.— № 1.— С. 44—50.
- Коросан Е. И., Фролов М. В. // *Системный анализ и управление в биомедицинских системах.*— 2008.— Т. 7, № 2.— С. 382—385.
- Кузмин А. А. // *Гинекология.*— 2008.— Т. 10, № 4.— С. 39—44.
- Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии / Под ред. В. И. Кулакова, В. Н. Серова.— М., 2005.
- Руководство по гинекологии детей и подростков / Под ред. В. И. Кулакова, Е. А. Богдановой.— М., 2005.
- Серова О. Ф., Мельник Т. Н. // *Рус. мед. журн.*— 2007.— Т. 15, № 17.— С. 1266—1269.
- Смирнова И. В., Бресский А. Г., Рандаренко И. Г. // *Охрана материнства и детства.*— 2007.— № 2.— С. 26—31.
- Горин В. С., Сагинор М. Е., Мальтинская Н. А. и др. // *Вестн. Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина.*— 2008.— Т. 6, № 1.— С. 73—83.
- Статистический ежегодник 2010 г. Министерство статистики и анализа Республики Беларусь.— Минск, 2010.
- Сухих Г. Т., Ванько Л. В. // *Акушерство и гинекология.*— 2006.— Прил.— С. 17—24.
- Фролов М. В., Халим Х. // *Системный анализ и управление в биомедицинских системах.*— 2006.— Т. 5, № 4.— С. 833—837.
- Шапран М. В. // *Гинекология.*— 2005.— Т. 7, № 1.— С. 37—38.
- AbouZahr C., Vaughan J. P. // *Bull. WHO.*— 2000.— Vol. 78, № 5.— P. 655—666.
- Asacawa T., Matsushita S. // *Lipids.*— 1980.— Vol. 15, № 1.— P. 137—140.
- Ridgway G. // *Abstr. of Proceed. of the 4th Meeting of European Society for Chlamydia Research.*— Helsinki, 2000.
- World Health Organization. *Guidelines for the Management of Sexually Transmitted Infections.*— Geneva, 2003.

Поступила 10.10.11.

PREVENTION OF POST-ABORTION COMPLICATIONS

L. F. Mozheiko, E. V. Novikova

The data on the immune and prooxidant — antioxidant statuses, the prevalence and types of post-abortion complications developing in young nulliparas aged 18—35 years as well as the outcomes of applying various methods targeted at preventing complications after induced abortions are presented in the article.

Key words: induced abortion, post-abortion complications, Ornisol.

Адрес для корреспонденции:

Можейко Людмила Федоровна.
Белорусский государственный медицинский университет.
220013, г. Минск, пр. Независимости, 64; сп. тел. (8-017) 331-69-26.

Л. В. СЕРИПОВА

СОРБИЦИОННЫЙ МЕТОД ОБНАРУЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Создана принципиально новая технология лабораторной диагностики одновременно нескольких групп гельминтов на основе метода адсорбции в копро материале. Учтены факторы, способствующие сокрытию яиц гельминтов и цист простейших в копро материале, подобран состав смеси реагентов, рассчитано необходимое количество исследуемого материала и реагента для анализа.

Проведено сравнение метода адсорбции с ИФА и соляно-эфирным методом. Рекомендуемый метод позволяет одновременно обнаруживать яйца трематод, нематод, цестод и цист, ооцист простейших в короткие сроки и с минимальными затратами.

Ключевые слова: копро материал, кишечные гельминтозы, протозойные заболевания, сорбционные метод.

В Европейских странах и США используются методы обнаружения возбудителей кишечных паразитарных заболеваний, обладающие высокой эффективностью. Широкое использование их в лабораториях нашего государства из-за дорогостоящих реактивов, оборудования и тест-систем экономически затратно. Стоимость анализа одной таксономической группы возбудителей составляет 2,5 доллара.

В связи со сложившейся ситуацией в лабораторной диагностике кишечных паразитарных заболеваний возникла необходимость разработать эффективную, импортозамещающую новую технологию одновременного обнаружения нескольких таксономических групп яиц гельминтов и цист простейших на основе адсорбции и создать диагностический набор.

Большую популярность в мире приобретают методы адсорбции [4, 5], поэтому была поставлена задача — разработать сорбционный метод обнаружения возбудителей кишечных паразитарных болезней в копро материале.

При разработке технологии подготовки проб были учтены входящие в состав копро материала физические элементы, которые способствуют сокрытию яиц гельминтов и цист простейших, и на основе этого подобраны коагулянты и сорбент с учетом многих факторов, присущих исследуемому материалу [1—3]. Работу проводили с использованием культуры яиц аскарид и цист лямблий.

Изучив консистенцию копро материала и воздействие сорбирующей смеси на его среду, было рассчитано их количественное соотношение в нейтральной воде (рН 7,6) для отделения яиц гельминтов и цист простейших, соответствующих удельному весу основных возбудителей.

Экспериментально установлено, что коагулянты в количестве 0,2 г в отдельности флотируют до

84—86% цист лямблий и яиц аскарид с плотностью от 1,0 до 1,14 соответственно. В дальнейшем, для усиления адсорбции, в смесь коагулянтов был введен сорбент. При смешении коагулянтов и предложенного сорбента увеличилось улавливание яиц аскарид и цист лямблий до 96%.

Проведен поиск оптимальных объемов объектов исследования. За основу взяты искусственно обсемененный яйцами аскарид и цистами лямблий копро материал в количестве 5, 10, 20 г и дистиллированная вода — 100, 200, 500 мл соответственно. Готовили суспензию, доводя до гомогенной массы. Для выделения патогенов в суспензию вносили 1 г сорбирующей смеси. Исследования показали, что количество используемой воды и смеси реагентов во всех трех случаях, независимо от объема исследуемого материала, адсорбировала от 88 до 94% экземпляров возбудителей.

Высокая эффективность обнаружения возбудителей определяется при условии, когда в состав суспензии будет входить: 20 г копро материала, 100 мл воды и 1 г смеси реагентов. Показано, что объем материала и предложенное количество химических реагентов оказывает существенное влияние на отделение возбудителей.

В результате проведенных экспериментальных исследований с использованием химических реагентов и культуры возбудителей была отработана технология пробоподготовки копро материала для отделения яиц гельминтов и цист простейших от детрита с учетом таких факторов, как консистенция, рН, содержание жиров, кислот, ферментов, слизи, мышечных волокон, растительной клетчатки, эпителиальных клеток. Проведен подбор химических реагентов для подготовки копро материала к взаимодействию и задержки возбудителей группы кишечных паразитарных заболеваний.

На основе современной технологии пробоподготовки копро материала к исследованию с использованием сорбентов разработан метод одновременного обнаружения яиц трематод, нематод, цестод и цист, ооцист простейших и создан диагностический набор.

Разработанный метод позволяет получать качественные результаты обследования населения на кишечные гельминтозы и протозойные заболевания в короткие сроки (до 10 мин), с минимальными затратами, на имеющемся в лабораториях оборудовании. Стоимость одновременного обнаружения нескольких (до 8) видов возбудителей в 12 раз ниже импортного — 0,2 доллара США.

Таким образом, экспериментально отработанная технология позволила разработать эффективный метод обнаружения яиц гельминтов и цист простейших в копро материале (до 96%).

Проведена апробация разработанного метода обнаружения возбудителей кишечных паразитарных болезней на основе адсорбции и сравнение его с методами ИФА и соляно-эфирным.

Данные в табл. 1 показывают, что антитела к антигенам лямблий выявлялись у 35 из 68 пациентов. Ме-

Таблица 1

Сравнительная эффективность обнаружения инвазированных методами ИФА и соляно-эфирным

Диагноз	Количество проб	ИФА			Соляно-эфирный метод	
		цисты лямблий		<i>Entameba colli</i>		цисты лямблий
		абс. (%)		абс. (%)		
ОКИ	32	15 (46,9±6,1)		4 (26,6±4,8)		9 (60,0±7,4)
Гепатит	28	12 (42,8±4,8)		3 (25,0±4,1)		6 (50,0±6,8)
ОРВИ	8	8 (57,1±6,8)		2 (25,0±4,2)		5 (62,5±7,6)

Таблица 2

Сравнительная эффективность обнаружения инвазированных методами ИФА и сорбции у больных с инфекционной патологией

Диагноз	Количество проб	ИФА		Сорбционный метод	
		цисты лямблий		<i>Entameba colli</i>	
		абс. (%)		абс. (%)	
ОКИ	21	15 (46,9±6,1)		21 (42,6±4,1)	
Гепатит	12	12 (42,8±4,8)		5 (23,5±3,1)	
ОРВИ	8	8 (57,1±6,8)		2 (10,2±1,1)	

тодом осаждения обследованы 35 человек с выявленными антителами, из которых только у 9 обнаружены цисты лямблий с высокой и средней интенсивностью инвазии. У 26,6% пациентов были найдены простейшие *Entameba colli* высокой интенсивности.

Сорбционным методом в 52 пробах из 68 обнаружены цисты лямблий, при использовании ИФА положительный титр установлен в 35 образцах, что на 24,9% меньше, чем в пробах разработанного метода.

В табл. 2 показано преимущество метода сорбции. Эффективность обнаружения цист лямблий сорбционным методом достигала 80%. Из 35 положительных проб с наличием антител возбудителей лямблиоза, определенных ИФА, сорбционным методом обнаружены цисты в 28 (80%) случаях, в 4 (11,4%) — выявлены простейшие *Entameba colli*.

В результате показано, что при исследовании 173 проб метод ИФА в отношении лямблий мало чувствителен, а сорбционный метод оказался более эффективным.

Таким образом, сорбционный метод для обнаружения возбудителей кишечных паразитарных болезней в копроматериале оказался эффективным, быстрым, малозатратным и удобным в исполнении. Разработанный диагностический набор может быть с успехом использован в лабораториях клинических ЛПУ и паразитологических ЦГЭ, а также для скрининговых обследований населения на инвазированность возбудителями кишечных паразитарных болезней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Журавлева Т. В., Долгушин И. И., Гаерин Т. В. // *Мед. иммунология.*— 2001.— Т. 3, № 2.— С. 220.
2. Куимова И. В., Ткаченко Т. Н. // *Материалы конгресса «Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей».*— М., 2002.— С. 91—92.
3. Скрипова Л. В., Романенко Н. А. // *Лаб. дело.*— 1989.— № 12.— С. 47—49.
4. Granel B., Disdier P., Schleinitz N., et al. // *Med. Trop.*— 1998.— Vol. 4.— P. 508—511.
5. Shant J. et al. // *Exp. Parasitology.*— 2002.— Vol. 102 (Iss. 3—4).— P. 176—186.

Поступила 05.01.11.

SORPTION METHOD FOR DETECTING AGENTS CAUSING INTESTINAL PARASITIC DISEASES

L. V. Skripova

An absolutely new technology was developed for detecting several groups of helminths simultaneously basing on the adsorption in copromaterial. The factors favoring helminth ova and protozoa cysts hide in copromaterial were considered, the reagents combination composition was selected, necessary quantities of the material for studying and of the reagent for assaying were calculated. The absorption method was compared with IFA and method based on hydrochloric acid and ether usage. The method recommended allows detect trematoda, nematode, cestode ova and protozoa cysts simultaneously in shorter terms with minimal costs.

Key words: copromaterial, intestinal helminthosis, protozoa caused diseases, sorption method.

Адрес для корреспонденции:

Скрипова Лариса Викторовна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 268-02-56.



И. И. ХВОСТОВА, А. И. СТАРЦЕВ, Т. Ф. ГЕМЗА

ПРАВОСОЗНАНИЕ В ПСИХИАТРИИ

Белорусская медицинская академия
последипломного образования, Минский городской
психоневрологический диспансер

Обсуждается правовая сторона отношений врача и пациента. Рассмотрены особенности правосознания врачей-психиатров-наркологов и психотерапевтов. Приведены результаты анонимного анкетирования, в котором приняли участие 61 врач и 44 пациента. Для специалистов, оказывающих психиатрическую помощь, характерен небольшой интерес к законодательству, регулирующему их сферу деятельности. Чуть меньше половины опрошенных специалистов готовы нарушать нормы закона, руководствуясь в первую очередь благом пациента.

Ключевые слова: врач-психиатр-нарколог, психотерапевт, правосознание, закон, профессиональная группа.

Поводом к появлению настоящей статьи послужило обращение главного редактора журнала «Здравоохранение» (№ 6, 2011) к коллегам. На своей странице он затронул крайне актуальную тему: взаимоотношения врач—пациент, их патерналистский характер и правовая сторона, рост числа судебных преследований в отношении врачей.

Действительно, сегодня врач, принимая многие решения, оказывается между двух огней. С одной стороны — это желание действовать во благо пациента (в соответствии с личным представлением о том, что же для пациента есть благо), с другой — требования законодательства. К сожалению, опыт руководящей и преподавательской работы показывает, что большинство врачей не очень хорошо владеют знаниями в области права, регулирующей их профессиональную сферу. Возможно, одна из причин роста числа судебных преследований заключается в неуверенности врачей в правовой области, небольшом интересе к законодательству, регулирующему их деятельность.

Авторы статьи являются врачами-психиатрами, поэтому попытаются разобраться в этой проблеме с позиции психического здоровья.

В настоящее время специалисты психиатрических служб Беларуси широко обсуждают подготовку проекта закона «О психиатрической помощи». Замечено, что врачи совершенно по-разному отнеслись к возможности появления нового закона. Одни считали, что новая редакция закона не нужна, другие — что необходима. Были и такие, кто думал, что новый закон чудесным образом разрешит проблему извечного конфликта вследствие столкновения интересов: будут защищены специалисты, оказывающие психиатрическую помощь; довольны те, кто получает ее; удовлетворены родственники пациентов и чиновники. Тем, кто верил в эту идиллию, противоречили нигилистически настроенные коллеги, считавшие,

что новый закон еще более затруднит их работу, с грустью вспоминали времена, когда его вообще не существовало.

Словом, ситуация, сложившаяся в достаточно узком профессиональном кругу, отражает общество в целом, где параллельно существуют тотальный правовой нигилизм и наивный правовой идеализм. В первом случае законы откровенно игнорируются и не исполняются, их не уважают; во втором, напротив, им придается значение некой чудодейственной силы, способной одним махом разрешить все проблемы. Так проявляет себя правосознание — совокупность представлений и чувств, выражающих отношение людей, социальных общностей к действующему или желаемому праву.

Казалось бы, правосознание — тема, представляющая интерес исключительно для юристов, но никак не для врачей. Это не так. Существует ряд социальных и профессиональных групп, чье правосознание может иметь свои особенности. Именно к таким группам относится сообщество врачей-психиатров-наркологов и психотерапевтов.

Специфика работы данной группы специалистов имеет 2 особенности. Во-первых, она регламентируется не только законом «О здравоохранении», но и законом «О психиатрической помощи и гарантиях прав граждан при ее оказании» [1] (далее — Закон). Во-вторых, повседневная работа этих людей связана с возможностью ограничения прав и свобод граждан (освидетельствование, решение вопросов профессиональной пригодности, недобровольная госпитализация и т. д.). Почему особенности правосознания этой группы специалистов представляют интерес? Ответ прост: именно в связи с возможными переменами в законодательстве, регулирующем данную сферу. Истории известно немало случаев, когда особенности правосознания отдельных социальных групп приводили к тому, что вновь появившиеся законы не работали, а существовали лишь на бумаге.

Согласно юридической литературе, правосознание — это не только знание о праве, оценка действующего права, но еще и мысли, идеи о желаемых изменениях в нем [2], то есть правосознание — не только результат отражения объекта, но и средство воздействия на объект, на всю правовую систему отрасли или государства.

Правосознание в своей структуре содержит правовую идеологию и правовую психологию [3].

Правовая психология охватывает совокупность чувств, ценностных отношений, настроений, желаний или переживаний, характерных для всего общества в целом или конкретной социальной группы. Она отражает непосредственный опыт участия людей в правовых отношениях, в правовой сфере жизни общества. Радость или огорчение по поводу принятия нового или отмены старого закона, чувство удовлетворения или недовольства практикой применения юридических норм, действий правоохранительных орга-

нов, нетерпимое или равнодушное отношение к нарушениям юридических запретов — все это правовые чувства, образующие сферу правовой психологии. Кроме них, правовую психологию также интересуют привычное правовое поведение и умение критически его оценить с точки зрения соответствия нормам права.

Именно она обуславливает подчас такие типы индивидуальных и массовых реакций на право и законодательство, которые способны кардинально определить успех или неудачу законодательных программ.

Другая составляющая правосознания — *правовая идеология*. Это систематизированное научное выражение правовых взглядов, принципов, требований общества, классов, различных групп и слоев населения. На первый взгляд может показаться, что она не имеет никакого отношения к сфере здравоохранения, однако если обратиться к основным идеям современной правовой идеологии, то окажется, что они неразрывно связаны с оказанием любой медицинской помощи, в особенности психиатрической.

Одна из основных правовых идей — *законность и недопустимость злоупотребления правом* — предполагает регулирование общественных отношений законами государства, строгое соблюдение законов всеми субъектами права, ответственность за их нарушение. Резюмируется, что закон справедлив, обладает высшей юридической силой. Он может быть суровым, но его необходимо соблюдать. Эта идея реализуется при оказании медицинской помощи благодаря существованию законов «О здравоохранении», «О психиатрической помощи и гарантиях прав граждан при ее оказании» и т. д.

Другая идея — *права человека* — не менее актуальна для специалистов службы психического здоровья. Истории психиатрии известно немало случаев, когда именно нарушение прав человека ставилось в вину врачам-психиатрам (исключение сообщества психиатров и невропатологов СССР из Всемирной психиатрической ассоциации в 1983 г.) [4].

Конечно, такой принцип правовой идеологии, как *презумпция невиновности* не имеет отношения к оказанию психиатрической помощи. Но именно его влияние обусловило появление в ряде законов (в том числе и в проекте нового закона «О психиатрической помощи») статей, закрепляющих презумпцию отсутствия психического расстройства.

Следующая важная правовая идея, также имеющая прямое отношение к здравоохранению, — *судебная защита нарушенных прав*. Обращение в суд за защитой нарушенного права не является сутяжничеством, а предстает в развитом правосознании общества и личности как справедливое правовое действие. Беда лишь в том, что сегодня за защитой нарушенного права чаще обращаются в суд пациенты и крайне редко — врачи (хотя их права зачастую нарушаются пациентами).

Авторы статьи не обнаружили исследований, посвященных правосознанию врачебных сообществ. Для получения представления о правосознании вра-

чей-психиатров-наркологов и психотерапевтов проведено анонимное анкетирование врачей Минского городского психоневрологического диспансера и врачей, проходивших повышение квалификации на кафедре психиатрии и наркологии Белорусской медицинской академии последипломного образования. Анкеты состояли из 12 вопросов, к каждому из которых предлагалось несколько вариантов ответа. Из 63 анкет 2 возвращены незаполненными, остальные заполнены по всем пунктам.

Параллельно проводился анонимный письменный опрос 44 пациентов, находившихся на стационарном лечении в Минском городском психоневрологическом диспансере. В настоящей статье приводятся некоторые данные опроса.

Показано, что около одной трети специалистов обращались к Закону в течение последнего месяца, около четверти — на днях (табл. 1). Число тех, кто обращался к нему в течение последних 2—3, 4—6 и более 6 мес, а также более 1 года назад, было примерно одинаковым.

Менее половины врачей (см. табл. 1) знали близко к тексту 3—4 статьи Закона, около одной трети — 1—2 статьи, хотя были и такие, кто указал, что не помнит ни одной статьи.

Более половины врачей, участвовавших в анкетировании, никогда не нарушали норм Закона. Остальные указали, что в их практике были такие случаи.

Среди специалистов, которые нарушали нормы Закона, большинство принимало такие решения исходя из того, что это было в интересах больного. Хотя некоторые врачи отметили, что делали это под давлением вышестоящих должностных лиц, родственников больного и людей из его окружения. По данным анкетирования, врачи чаще нарушали нормы, касающиеся госпитализации в психиатрический стационар и прав пациента, реже — которые имели отношение к проведению психиатрического освидетельствования и соблюдению профессиональной тайны.

Надо отметить, что эти данные не дают представления об истинной частоте случаев неисполнения норм Закона (получить такую информацию невозможно), скорее, они показывают субъективное отношение к нему, их готовность исполнять его нормы. Разговаривая с практикующими врачами, авторы статьи не раз сталкивались с тем, что специалисты считали, что не нарушают Закон, нарушая его, и наоборот — думали, что нарушали какую-то из его норм, просто не совсем понимая ее смысл. Это было обусловлено, опять же, невысоким уровнем знаний статей Закона.

Тем не менее, полученные данные было интересно сопоставить с результатами параллельно проведенного анкетирования пациентов (табл. 2). Многие опрошенные (45,5%) указали, что их права никогда не нарушались при оказании психиатрической помощи. Столько же больных считали, что их права нарушались. Среди последних чаще указывалось на нарушения при госпитализации в психиатрический стационар и сохранении врачебной тайны.

Особый интерес представляли анкеты по оценке врачами действующего Закона. Подавляющее боль-

Результаты анкетирования врачей

Вопрос, ответ	Число врачей	% от всей выборки (n=61)
Когда в последний раз Вы обращались к тексту Закона? на днях	14	22,9
в течение последнего месяца	21	34,4
около 2—3 мес назад	6	9,8
4—6 мес назад	6	9,8
более 6 мес назад	8	13,1
более года назад	6	9,8
Есть ли в Законе статьи, которые Вы знаете настолько хорошо, что Вам не надо обращаться к первоисточнику? да, таких статей 1—2	21	34,4
да, таких статей 3—4	29	47,6
нет, я не помню близко к тексту ни одной статьи Закона	11	18,0
Были ли в Вашей практике случаи, когда Вы не исполняли нормы Закона? да, 1—2 раза	11	18,0
да, 3—4 раза	8	13,1
да, такие ситуации происходят часто	7	11,5
нет	35	57,4
Когда Вы не выполняли нормы Закона, это происходило под давлением вышестоящих должностных лиц	9	14,8
под давлением родственников больного или лиц из его окружения	4	6,6
решение принималось Вами самостоятельно, исходя из того, что это было в интересах пациента	13	21,4
Когда Вы не выполняли нормы Закона, это касалось соблюдения профессиональной тайны	4	6,6
психиатрического освидетельствования	5	8,2
госпитализации в психиатрический стационар	8	13,1
прав пациента	7	11,5
другое	2	3,3
Считаете ли Вы, что сфере оказания психиатрической помощи действительно необходим отдельный Закон? да	58	95
нет, вполне хватило бы норм других законов	3	5
Как, Вы считаете, функционирует Закон? плохо	15	24,6
хорошо	6	9,8
удовлетворительно	37	60,6
не знаю	3	5
Как Вы думаете, Закон в первую очередь отвечает интересам врачей, оказывающих психиатрическую помощь	4	6,6
пациентов	36	59,0
родственников пациентов	2	3,2
должностных лиц	4	6,6
соблюдает баланс интересов всех заинтересованных лиц	15	24,6
Кто, Вы считаете, в свете Закона оказывается в наиболее уязвимом положении врачи, оказывающие психиатрическую помощь	43	70,5
пациенты	4	6,6
родственники и окружающие пациентов	4	6,6
должностные лица	0	0
никто	3	4,9
не знаю	7	11,4

шинство считало, что сфере оказания психиатрической помощи действительно необходим отдельный закон. Более 60% специалистов оценили функционирование действующего Закона удовлетворительно, что не совпадало с впечатлением, сложившимся у авторов статьи во время бесед с ними. В то же время большинство указало, что действующий Закон отвечает в первую очередь интересам пациентов, и именно врач, оказывающий психиатрическую помощь, находится в наиболее уязвимом положении. О подготовке проекта закона «О психиатрической помощи» знают 70,5% анкетированных и считают, что изменение существующего законодательства в сфере оказания психиатрической помощи необходимо (82%).

Однако, парадоксально, только 47,5% специалистов предполагают, что изменение законодательства улучшит работу психиатрических служб, 23% ожидают усложнения работы, а 29,5% — отсутствия каких-либо изменений.

Конечно, на основании данных этого исследования нельзя получить полное представление о сфере правосознания врачей, оказывающих психиатрическую помощь. Однако некоторые выводы можно сделать. Похоже, для большинства специалистов этой группы характерен низкий интерес к законодательству, регулирующему сферу их деятельности (они редко обращаются к первоисточнику, мало норм знают близко к тексту). Чуть меньше половины специа-

Таблица 2

Некоторые результаты анкетирования пациентов

Вопрос, ответ	Число пациентов	% от всей выборки (n=44)
Как Вы считаете, врачи или иные медицинские работники нарушали когда-либо Ваши права при оказании психиатрической помощи?		
нет, никогда	20	45,5
иногда у меня возникали сомнения по этому поводу	4	9,0
да, вполне вероятно, мои права нарушались	20	45,5
Если у Вас складывалось впечатление, что Ваши права нарушались, то это касалось		
сохранения врачебной тайны	8	18,2
госпитализации в психиатрический стационар	9	20,4
решения вопросов, связанных с трудоустройством	1	2,3
психиатрического освидетельствования	1	2,3
согласия на лечение	2	4,6
другое	3	6,9
мои права не нарушались	20	45,5

листов готовы нарушать нормы закона, причем большинство из них — именно из патерналистских соображений (руководствуясь благом пациента). И, конечно, именно этими мотивами можно объяснить и те правовые институты, нормы которых в первую очередь были готовы нарушить врачи: госпитализация в психиатрический стационар и права пациента.

Большинство специалистов, оказывающих психиатрическую помощь, воспринимают существование закона, регулирующего оказание психиатрической помощи, как должное. Однако данный закон не дает им чувства защищенности, многие из них считают, что он защищает в первую очередь пациентов. Возможно, одной из причин такого дискомфорта является патерналистская модель отношений, которую врачи нередко трактуют примерно так: «Пусть лучше закон будет на моей стороне, а я сам разберусь, что будет на пользу моему больному». Наши пациенты тем временем занимают двойственную позицию. С одной стороны, 79,5% опрошенных больных никогда не интересовались содержанием Закона (в Республике Беларусь его текст вывешен во всех учреждениях, оказывающих психиатрическую помощь). С другой — у более чем половины из них возникали убеждения или сомнения в том, что их права нарушались врачами. Патерналистская модель отношений уходит в прошлое психиатрии, на смену ей приходят партнерские отношения, а они должны основываться на знании и уважении правовых норм, которые их регулируют. Способы культивирования знания, уважения и готовности соблюдать правовые нормы, регулирующие оказание психиатрической помощи, известны: обязательный учет правовых знаний врачей при аттестации, особое отношение к преподаванию законодательства при повышении квалифика-

ции. Законодательство в сфере оказания психиатрической помощи требует появления постатейных комментариев, которые облегчат понимание норм закона, помогут избежать их неправильного толкования специалистами и чиновниками.

В заключение авторы статьи хотели бы поблагодарить коллег, принявших участие в анкетировании, за смелость и откровенность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Закон Республики Беларусь № 274-З от 01.07.1999 (в ред. № 51-З от 09.11.2009) «О психиатрической помощи и гарантиях прав граждан при ее оказании».
2. Лазарев В. В. *Общая теория государства и права*.— М., 2001.
3. Марченко М. Н. *Общая теория государства и права*.— М., 2011.
4. Коротенко А., Аликина Н. *Советская психиатрия: заблуждения и умысел*.— Киев, 2002.

Поступила 26.08.11.

LEGAL CONSCIENCE IN PSYCHIATRY

I. I. Khvostova, A. I. Startsev, T. F. Gemza

The legal aspects of relations between the physician and the patient are being discussed. The specific features conscience of psychiatrists in the sphere of drug abuse and psychotherapists are considered. The outcomes of an anonymous questionnaire polling 61 physicians and 44 patients having participated in are presented. Specialists rendering psychiatric assistance are characterized by a low interest to the legislation regulating the sphere of their activities. A bit less than half of the specialists questioned are ready to violate the legal norms governing by the patient's well-being first of all.

Key words: psychiatrist in the sphere of drug abuse, psychotherapist, legal conscience, law, professional group.

Адрес для корреспонденции:

Хвостова Ирина Игоревна.
Белорусская государственная медицинская академия последипломного образования.
220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3; сл. тел. (8-017) 292-24-85.

О. А. ХОДОС, Л. Г. ГИДРАНОВИЧ, М. М. САЧЕК

ВЛИЯНИЕ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА ПРОТЕОЛИЗ В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

Витебский государственный медицинский университет,
РНПЦ медицинских технологий, информатизации,
управления и экономики здравоохранения

Цель исследования. Изучить влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на интенсивность протеолиза в больших полушариях головного мозга, мозжечке и сыворотке крови крыс в условиях отмены этанола после хронической алкогольной интоксикации.

Материал и методы. В эксперименте использовали экстракты ткани больших полушарий головного мозга, мозжечка и сыворотку крови самцов крыс линии Wistar. Активность протеиназ и их эндогенных ингибиторов в больших полушариях головного мозга и мозжечке животных изучали спектрофотометрическим методом. В качестве субстрата использовали *N*- α -бензоил-D,L-аргинин-пара-нитроанилид.

Результаты. Применение этилметилгидроксипиридина сукцината нормализует активность трипсиноподобных протеиназ и их эндогенных ингибиторов в ткани больших полушарий головного мозга и мозжечка крыс до уровня контрольных значений во все изученные сроки отмены этанола и приводит к стабилизации активности цистеиновых протеиназ больших полушарий головного мозга к 7-м суткам. Использование этилметилгидроксипиридина сукцината способствует нормализации протеиназоингибиторного баланса сыворотки крови к 7-м суткам после отмены этанола.

Заключение. Данные результаты свидетельствуют о том, что после отмены этанола этилметилгидроксипиридина сукцинат нормализует активность протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов в ткани больших полушарий головного мозга, мозжечке и сыворотке крови крыс.

Ключевые слова: этанол, протеиназы, ингибиторы, этилметилгидроксипиридина сукцинат, головной мозг.

Хроническая интоксикация этанолом приводит к увеличению интенсивности протеолиза в ткани головного мозга: отмечается активация цистеиновой протеиназы каспазы-3, прокаспазы-9 и -3 [1, 2]. Оксидативный стресс, обусловленный влиянием этанола, активирует матриксные металлопротеиназы (ММП-1, -2 и -9) и снижает уровень тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМП-1 и -2), что вызывает повреждение гематоэнцефалического барьера и приводит к нарушению его функций [3]. Согласно исследованиям протеиназоингибиторный баланс в ткани головного мозга крыс не восстанавливается даже на 7-е сутки после прекращения доступа животных к раствору этанола [4]. Нарушение протеолиза может выступать в качестве одного из механизмов повреждения ткани, в том числе головного мозга при указанном состоянии [5]. Данные процессы поддаются коррекции с помощью лекарственных средств, поэтому для регуляции активности протеиназ и их эндогенных ингибиторов целесообразна фармакологическая коррекция [6, 7]. Регуляция интенсивности протеолиза

может осуществляться с помощью реализации прямого, а также опосредованного эффектов через улучшение микроциркуляции, метаболизма головного мозга, реологических свойств крови, благодаря антиоксидантному действию [6, 7]. В последние годы активно изучается этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидел, мексидол), представляющий собой по химической структуре 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат, который ингибирует свободнорадикальные процессы окисления липидов, оказывает модулирующее влияние на активность мембраносвязанных ферментов и ионных каналов [8—11].

Целью работы являлось изучение влияния этилметилгидроксипиридина сукцината на интенсивность протеолиза в больших полушариях головного мозга, мозжечке и сыворотке крови крыс в условиях отмены этанола после хронической алкогольной интоксикации.

Материал и методы

Исследования проводили на половозрелых самцах крыс линии Wistar, средняя масса которых составляла 360 г. Животные содержались в стандартных условиях специализированного вивария ЦНИЛ Витебского государственного медицинского университета. В ходе эксперимента крыс разделили по степени мотивации потребления растворов этанола. Отбор животных, предрасположенных к добровольному потреблению алкоголя, осуществляли с помощью теста «этанолового наркоза» путем однократного внутрибрюшинного введения 25% раствора этанола [12]. Хроническую алкогольную интоксикацию моделировали путем предоставления животным опытных групп 15% раствора этанола *ad libitum* в качестве единственного источника питья [12, 13]. Ступенчато увеличивали концентрацию растворов этанола в течение первых 3 нед (5% — 1-я неделя, 10% — 2-я неделя, 15% — 3-я неделя) [14]. В контрольных группах в качестве источника питья предоставляли водопроводную воду. Длительность потребления животными раствора этанола составляла 29 нед, после чего прекращали доступ к этиловому спирту и заменяли его на водопроводную воду. Крыс выводили из эксперимента декапитацией через 1, 3 и 7 сут после прекращения доступа к раствору этанола [15, 16]. В результате были сформированы следующие экспериментальные группы: I — контрольная группа (интактные животные); II — животные, потреблявшие раствор этанола в течение 29 нед, забой которых осуществлялся через 1 (II-1), 3 (II-3) и 7 (II-7) сут после отмены этанола; III — животные, потреблявшие раствор этанола 29 нед, которым внутривенно вводили этилметилгидроксипиридина сукцинат в течение 1 (III-1), 3 (III-3) и 7 (III-7) сут; IV — животные, не подвергавшиеся алкоголизации, которым вводили этилметилгидроксипиридина сукцинат в течение 1 (IV-1), 3 (IV-3) и 7 (IV-7) сут соответственно. Данное лекарственное средство вводили в хвостовую вену крыс в дозе 10 мг/кг массы тела. Животным контрольной группы внутривенно вводили эквивалентное количество физиологического раствора. После декапитации крыс головной мозг быстро извлекали, помещали на стоящую во льду чашку Петри и разделяли его на отделы. Использовали острые инструменты, чтобы не допускать сдавливание материала. Образцы ткани гомогенизировали

в дистиллированной воде в соотношении 1:9. Экстракцию проводили в присутствии 4 ммоль цистеина в течение 24 ч на холоде. Гомогенаты центрифугировали в течение 30 мин при 3000 об./мин. Для изучения активности протеиназ и их эндогенных ингибиторов в больших полушариях головного мозга и мозжечке крыс использовали низкомолекулярный хромогенный субстрат N- α -бензоил-D,L-аргинин-пара-нитроанилид (БАПНА). Активность эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ экстрактов головного мозга определяли по сопоставлению степени гидролиза субстрата БАПНА равными количествами трипсина, активность ингибиторов цистеиновых протеиназ — равными количествами папаина в пробах с добавлением и при отсутствии исследуемого биологического материала. В качестве базовых методик для определения активности трипсиноподобных протеиназ и их эндогенных ингибиторов использовали методы, описанные В. Erlanger и соавт., а также методики, предложенные Т. А. Хватовым и И. Ю. Карягиной и соавт. [17—19]. При изучении активности цистеиновых протеиназ и их эндогенных ингибиторов применяли метод J. F. Lenney [20]. Данные методики были разработаны для исследования протеолиза в сыворотке крови и модифицированы для изучения активности трипсиноподобных и цистеиновых протеиназ и их эндогенных ингибиторов в экстрактах ткани головного мозга крыс. Измерение оптической плотности контрольных и опытных проб осуществляли против дистиллированной воды на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 410 нм.

Для статистической обработки результатов использовали непараметрические методы (тесты Манна—Уитни и Краскела—Уоллиса, применяли поправку Бонферрони) [21, 22].

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что активность трипсиноподобных протеиназ в экстракте ткани больших полушарий головного мозга и мозжечка изменялась однонаправленно. Через 1 сут после прекращения доступа животных к раствору этилового спирта данный показатель в экстракте ткани больших полушарий головного мозга увеличился по сравнению с таковым в группе контроля на 94,59% ($P=0,0042$), тогда как в мозжечке его рост составил 88,01% ($P=0,0066$) (рис. 1, 2). Через 3 и 7 сут активность трипсиноподобных протеиназ в экстракте ткани больших полушарий головного мозга ($P=0,4750$, $P=0,1985$ соответственно) и мозжечка ($P=0,5677$ и $P=0,1160$ соответственно) не отличалась от контрольных значений (табл. 1; здесь и в табл. 2 изучаемые показатели представлены в виде медианы и 95% доверительного интервала).

Активность эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ через 1 сут после отмены этанола в экстрактах больших полушарий головного мозга крыс по сравнению с таковой в контроле уменьшалась на 20,55% ($P=0,0027$), мозжечка — на 9,41% ($P=0,0027$). Через 3 сут в больших полушариях головного мозга данный показатель был снижен по отношению к контролю на 23,32% ($P=0,0042$), тогда как

Таблица 1

Активность протеиназ и их эндогенных ингибиторов в экстракте ткани больших полушарий головного мозга и мозжечке крыс

Протеиназы и ингибиторы	Группа животных						
	I	II-1	III-1	II-3	III-3	II-7	III-7
Большие полушария головного мозга							
Трипсиноподобные протеиназы, ммоль/ч·мг белка	50,60 (42,01—68,24)	98,47* (77,79—128,23)	71,83 (50,42—85,35)	56,93 (40,36—87,34)	55,59 (35,21—86,92)	44,25 (38,61—55,84)	40,95 (27,84—56,91)
Эндогенные ингибиторы трипсиноподобных протеиназ, ммоль/с·мг белка	0,49 (0,43—0,51)	0,39* (0,35—0,40)	0,43 (0,38—0,46)	0,37* (0,35—0,40)	0,39 (0,35—0,44)	0,36* (0,34—0,39)	0,44 (0,37—0,49)
Цистеиновые протеиназы, ммоль/ч·мг белка	18,74 (14,84—21,82)	31,40 (21,48—38,95)	37,09* (23,89—58,54)	32,29* (22,97—46,03)	32,09* (26,14—49,38)	22,77 (6,24—57,18)	22,75 (9,67—43,00)
Эндогенные ингибиторы цистеиновых протеиназ, ммоль/ч·мг белка	20,74 (15,55—29,11)	19,39 (9,29—45,07)	31,82 (28,77—34,59)	15,56 (7,59—28,18)	26,99 (17,21—36,78)	24,34 (17,80—31,66)	25,43 (16,02—37,08)
Мозжечок							
Трипсиноподобные протеиназы, ммоль/ч·мг белка	35,05 (25,08—49,42)	65,91* (52,10—87,90)	33,54 (22,93—48,33)	34,71 (27,32—54,25)	29,98 (20,46—39,62)	28,37 (24,40—33,96)	34,04 (20,47—44,98)
Эндогенные ингибиторы трипсиноподобных протеиназ, ммоль/с·мг белка	0,49 (0,48—0,55)	0,45* (0,42—0,47)	0,45 (0,41—0,49)	0,44 (0,42—0,49)	0,42 (0,38—0,48)	0,48 (0,43—0,51)	0,49 (0,46—0,54)
Цистеиновые протеиназы, ммоль/ч·мг белка	28,24 (22,91—35,90)	37,78 (28,66—50,07)	30,03 (25,55—32,83)	32,49 (25,55—39,44)	26,07 (18,36—36,11)	27,92 (23,33—34,50)	25,90 (19,67—33,42)
Эндогенные ингибиторы цистеиновых протеиназ, ммоль/ч·мг белка	26,96 (19,73—31,07)	21,10 (9,84—25,32)	24,16 (18,51—29,73)	24,32 (20,37—30,34)	29,66 (22,51—37,14)	22,83 (13,94—27,05)	30,91 (21,39—37,19)

*Здесь и в табл. 2 достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в контрольной группе, $P \leq 0,05$.

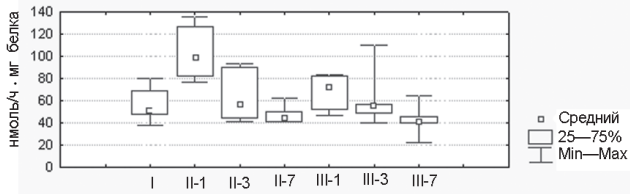


Рис. 1. Активность трипсиноподобных протеиназ в экстрактах ткани больших полушарий головного мозга при хронической алкогольной интоксикации с последующей фармакологической коррекцией

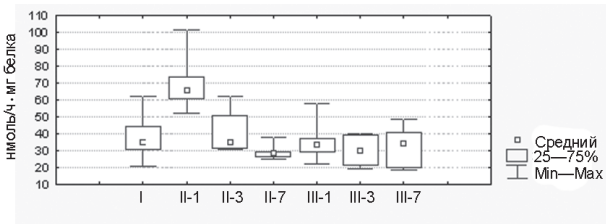


Рис. 2. Активность трипсиноподобных протеиназ в ткани мозжечка при хронической алкогольной интоксикации с последующей фармакологической коррекцией

через 7 сут — на 25,69% ($P=0,0027$) (рис. 3). При этом активность эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ в экстракте ткани мозжечка через 3 и 7 сут не отличалась от таковой в контроле ($P=0,0222$ и $P=0,1160$ соответственно).

Активность кислых лизосомальных цистеиновых протеиназ не изменилась по сравнению с таковой в контроле через 1 сут после отмены этанола ($P=0,0222$, с учетом поправки Бонферрони P должно быть не менее 0,0083), через 3 сут увеличивалась на 72,34% ($P=0,0042$), тогда как к 7-м суткам вновь устанавливалась на уровне контрольных значений ($P=0,2530$) (рис. 4). Изменения активности цистеиновых протеиназ в экстракте мозжечка после хронической интоксикации этанолом не были статистически значимыми ($P=0,1480$).

Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в ткани больших полушарий головного мозга ($P=0,2546$) и мозжечке ($P=0,1436$) не менялась при отмене этанола.

В сыворотке крови общая протеолитическая активность после хронической интоксикации этанолом не

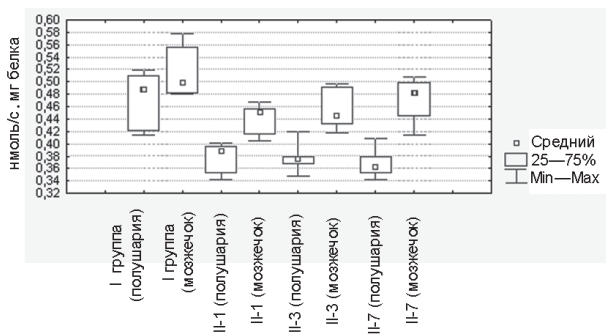


Рис. 3. Активность эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ в экстракте ткани больших полушарий головного мозга и мозжечке крыс при хронической алкогольной интоксикации без применения фармакологической коррекции

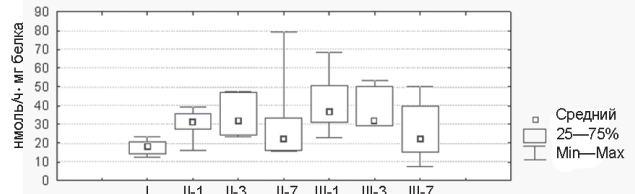


Рис. 4. Активность цистеиновых протеиназ в экстрактах ткани больших полушарий головного мозга при хронической интоксикации этанолом с последующей фармакологической коррекцией

подвергалась изменениям (табл. 2). Активность α_1 -протеиназного ингибитора сыворотки крови через 1 сут после отмены этанола не изменялась по сравнению с контролем ($P=0,1043$), тогда как через 3 сут снижалась на 11,44% ($P=0,0027$), а через 7 сут — на 9,49% ($P=0,0027$) (рис. 5).

Активность α_2 -макроглобулина сыворотки крови уменьшалась по сравнению с таковой в контроле через 1 сут после отмены этанола на 52,63% ($P=0,0044$), через 3 сут — на 42,98% ($P=0,0027$), 7 сут — на 48,24% ($P=0,0027$) (рис. 6). При этом отмена этанола после хронической алкогольной интоксикации не повлияла на активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в сыворотке крови ($P=0,4762$).

Таким образом, как в ткани больших полушарий головного мозга, мозжечке, так и в сыворотке крови отмечается нарушение протеиназоингибиторного баланса, который не восстанавливается до уровня контроля даже через 7 сут после отмены этанола, что не исключает возможность повреждающего действия и может служить основанием для применения фармакологической коррекции.

На фоне применения этилметилгидроксипиридина сукцината после отмены этанола активность трипсиноподобных протеиназ в экстрактах ткани больших полушарий головного мозга и мозжечка достигла контрольных значений, различия между показателями в контрольной и опытных группах не были статистическими.

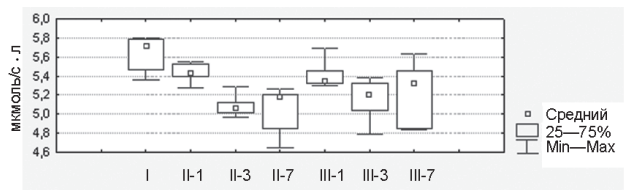


Рис. 5. Активность α_1 -протеиназного ингибитора сыворотки крови при хронической алкогольной интоксикации с последующей фармакологической коррекцией

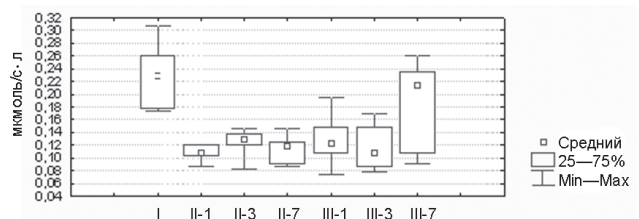


Рис. 6. Активность α_2 -макроглобулина сыворотки крови при хронической алкогольной интоксикации с последующей фармакологической коррекцией

Таблица 2

Активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в сыворотке крови

Показатель	Группа животных						
	I	II-1	III-1	II-3	III-3	II-7	III-7
Общая протеолитическая активность сыворотки крови, нмоль/с·л	23,37 (19,93—33,65)	37,39 (30,63—45,41)	34,80 (15,72—60,46)	23,63 (14,25—41,50)	21,56 (14,85—37,78)	20,78 (11,83—40,28)	31,17 (18,08—45,98)
Активность α_1 -протеиназного ингибитора сыворотки крови, мкмоль/с·л	5,72 (5,47—5,80)	5,43 (5,31—5,57)	5,35 (5,26—5,57)	5,07* (4,97—5,20)	5,21* (4,93—5,39)	5,18* (4,79—5,31)	5,33 (4,89—5,59)
Активность α_2 -макроглобулина, мкмоль/с·л	0,23 (0,18—0,27)	0,11* (0,09—0,12)	0,12* (0,09—0,17)	0,13* (0,10—0,15)	0,11* (0,08—0,16)	0,12* (0,09—0,14)	0,21 (0,11—0,26)
Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ, отн. ед.	4030,73 (3791,39—168,76)	4089,83 (3884,31—4423,02)	3894,79 (3642,99—4122,97)	4036,64 (3843,40—4206,24)	3770,69 (3512,04—4163,29)	4143,03 (3576,209—4477,39)	3766,23 (3672,88—3850,93)

ки значимыми ни через 1, ни через 3 и 7 сут, что свидетельствует о нормализации показателей.

Использование данного лекарственного средства стабилизирует активность эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ на уровне контрольных значений как в больших полушариях головного мозга ($P=0,0864$; $P=0,0101$; $P=0,1531$ соответственно), так и мозжечке ($P=0,0101$; $P=0,0222$; $P=0,3913$ соответственно) в изучаемые сроки отмены этанола.

С применением этилметилгидроксипиридина сукцината активность цистеиновых протеиназ в больших полушариях головного мозга увеличивалась по отношению к таковой в контроле через 1 сут после отмены этанола на 97,96% ($P=0,0023$), через 3 сут — на 71,24% ($P=0,0011$), в то время как через 7 сут отличий не наблюдалось ($P=0,4452$). Активность цистеиновых протеиназ в мозжечке после фармакологической коррекции не отличалась от таковой в контроле ($P=0,4694$).

Введение лекарственного средства не повлияло на активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в ткани больших полушарий головного мозга ($P=0,2546$) и мозжечке ($P=0,1436$).

Исследования показали, что этилметилгидроксипиридина сукцинат нормализует активность трипсиноподобных протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов в ткани больших полушарий головного мозга и мозжечке крыс уже спустя 1 сут после отмены этанола, тогда как активность цистеиновых протеиназ восстанавливается до уровня контроля только через 7 сут.

Введение лекарственного средства не оказало влияния на общую протеолитическую активность сыворотки крови, она соответствовала уровню контроля как с применением фармакологической коррекции, так и без нее. После использования этилметилгидроксипиридина сукцината активность α_1 -протеиназного ингибитора сыворотки крови снижалась на 8,94% ($P=0,0042$) через 3 сут после прекращения доступа к раствору этанола, тогда как через 1 и 7 сут не отличалась от таковой в контроле ($P=0,0184$ и $P=0,0222$ соответственно), а без введения препарата оставалась сниженной на 3-и и 7-е сутки.

При осуществлении фармакологической коррекции через 1 сут после отмены этанола активность α_2 -

макроглобулина была на 46,49% ниже по отношению к таковой в контроле ($P=0,0066$), через 3 сут — на 53,07% ($P=0,0027$), а спустя 7 сут восстанавливалась до контрольных значений ($P=0,5203$).

Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в сыворотке крови не отличалась от таковой в контроле ни при использовании этилметилгидроксипиридина сукцината, ни без его применения ($P=0,4762$).

Исследуемое лекарственное средство позволяет полностью стабилизировать все изучаемые показатели в сыворотке крови через 7 сут после отмены этанола.

Таким образом, применение этилметилгидроксипиридина сукцината способствовало восстановлению физиологического протеиназоингибиторного баланса в ткани больших полушарий головного мозга и мозжечке крыс при отмене этанола после хронической алкогольной интоксикации. Так, под воздействием данного лекарственного препарата активность трипсиноподобных протеиназ и их эндогенных ингибиторов в больших полушариях головного мозга и мозжечке животных после хронической интоксикации этанолом достигла контрольных значений. При использовании фармакологической коррекции активность цистеиновых протеиназ в больших полушариях головного мозга в первые 3 сут после отмены этанола оставалась повышенной, однако к 7-м суткам стабилизировалась и достигла уровня контроля, тогда как в мозжечке данный показатель не менялся по сравнению с таковым в контроле. Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в ткани больших полушарий головного мозга и мозжечке не изменялась ни после отмены этанола без применения фармакологической коррекции, ни после использования этилметилгидроксипиридина сукцината. В сыворотке крови общая протеолитическая активность не отличалась от таковой в контроле после хронической интоксикации этанолом. Активность α_1 -протеиназного ингибитора после применения фармакологической коррекции оставалась сниженной только через 3 сут после прекращения доступа к раствору этанола, тогда как без использования препарата данный показатель был снижен на 3-и и 7-е сутки. Активность α_2 -макроглобулина сыворотки крови под воздействием этилметилгидроксипиридина сукцината нормализовалась через 7 сут

после отмены этанола, в то время как без фармакологической коррекции стабилизации до контрольного уровня не наблюдалось. Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в сыворотке крови крыс не изменялась ни в один из сроков после отмены этанола.

Нормализующее действие этилметилгидроксипиридина сукцината на активность протеиназ и их эндогенных ингибиторов может быть обусловлено тем, что данный препарат ингибирует свободнорадикальные процессы, связывая перекисные радикалы липидов. Известно, что этанол и его метаболит ацетальдегид интенсифицируют процессы перекисного окисления липидов, что способствует повреждению мембран лизосом и высвобождению протеолитических ферментов [3, 23]. Активные формы кислорода также могут участвовать в инициации нейроапоптоза, развивающегося как каскадный процесс и сопровождающегося активацией специфических про- или антиапоптотических белков, а также протеолитических ферментов, в частности каспаз [24]. Способность этилметилгидроксипиридина сукцината снижать интенсивность свободнорадикальных процессов объясняет его регулирующее действие на протеолиз.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после отмены этанола этилметилгидроксипиридина сукцинат способен нормализовать активность протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов в ткани больших полушарий головного мозга, мозжечке и сыворотке крови крыс.

Выводы

1. При хронической алкогольной интоксикации в условиях отмены этанола установлено нарушение баланса активности протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов как в ткани головного мозга, так и в сыворотке крови крыс.

2. Этилметилгидроксипиридина сукцинат нормализует активность трипсиноподобных протеиназ и их эндогенных ингибиторов в ткани больших полушарий головного мозга и мозжечке крыс до уровня контрольных значений во все изученные сроки после отмены этанола, при этом стабилизирует активность цистеиновых протеиназ больших полушарий головного мозга только к 7-м суткам.

3. Этилметилгидроксипиридина сукцинат способствует нормализации протеиназоингибиторного баланса в сыворотке крови через 7 сут после отмены этанола.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Han J. Y. et al. // *Mol. Cells.*— 2005.— Vol. 20.— P. 189—195.
- Самуилов В. Д., Олескин А. В., Лагунова Е. М. // *Биохимия.*— 2000.— Т. 65.— С. 1029—1046.
- Haorah J. et al. // *J. Neurochem.*— 2007.— Vol. 101.— P. 566—576.
- Ходос О. А., Гидранович Л. Г., Сачек М. М. // *Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: Материалы 66-й науч. сессии согр. университета.*— Витебск, 2011.— С. 161—162.
- Rajgopal Y. et al. // *Neurosci. Lett.*— 2002.— Vol. 321.— P. 187—191.
- Wang J., Maldonado M. A. // *Cell. Mol. Immunol.*— 2006.— Vol. 3.— P. 255—261.
- Nakashima K., Ishida A., Yamazaki M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 2005.— Vol. 336.— P. 660—667.
- Яковлев В. А. *Мексидол в комплексной терапии алкогольной зависимости.*— М., 2005.
- Воронина Т. А. *Отечественный препарат нового поколения «Мексидол»: основные эффекты, механизм действия, применение.*— М., 2004.
- Андреева Н. Н., Мухина И. В. // *Эксперим. и клинич. фармакология.*— 2005.— Т. 68, № 3.— С. 37—41.
- Павлов И. С., Медведева Л. А. *Мексидол в клинике пограничной терапии.*— М., 2005.
- Буров Ю. В., Ведерникова Н. Н. *Нейрохимия и фармакология алкоголизма.*— М., 1985.
- Serova O. N. et al. // *Bull. Experim. Biol. Med.*— 2007.— Vol. 144.— P. 650—652.
- Paula-Barbosa M. M. et al. // *J. Neurocytol.*— 2001.— № 30.— P. 195—207.
- Ieraci A., Herrera D. G. // *PLoS Med.*— 2006.— №3.— P. 101.
- Пархоменко Ю. М., Донченко Г. В., Пилипчук С. Ю. // *Укр. біохім. журн.*— 2007.— Т. 79, № 3.— С. 61—69.
- Erlanger B. F., Kokowsky N., Cohen M. // *Arch. Biochem. Biophys.*— 1961.— Vol. 95.— P. 271—278.
- Хватов В. Б., Белова Т. А. *Ускоренный метод определения основных ингибиторов протеиназ в плазме крови человека.*— М., 1981.
- Карягина И. Ю., Зарембский Р. А., Балябина М. Д. // *Лаб. дело.*— 1990.— №2.— С. 10—13.
- Lenney J. F. et al. // *Eur. J. Biochem.*— 1979.— Vol. 101.— P. 153—161.
- Реброва О. Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.*— М., 2003.
- Фадеев В. В. // *Проблемы эндокринологии.*— 2002.— Т. 48, № 3.— С. 47—48.
- Перфилова В. Н. // *Эксперим. и клинич. фармакология.*— 2006.— № 4.— С. 23—27.
- Беленичев И. Ф. // *Международ. неврол. журн.*— 2009.— № 1.— С. 166—180.

Поступила 19.09.11.

EFFECT OF ETHYLMETHYLHYDROXYPIRIDINE SUCCINATE ON RAT'S BRAIN TISSUE PROTEOLYSIS AFTER CHRONIC INTOXICATION BY ETHANOL

O. A. Khodos, L. G. Gidranovich, M. M. Sacek

Objective. To study effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate on the intensity of proteolysis in male rat's cerebral hemispheres, cerebellum, and serum after ethanol withdrawal in chronic alcoholic intoxication.

Materials and methods. Extracts of Wistar male rat's cerebral hemispheres, cerebellum, and serum tissues were used in the experiment. The proteinases and their endogenous inhibitors activity in the animal's cerebral hemispheres and cerebellum were studied spectrophotometrically. *N*- α -benzoyl-D,L-arginine-pair-nitroanilide was used as a substrate.

Results. Application of ethylmethylhydroxypyridine succinate was shown to normalize the trypsin-like proteinases and their endogenous inhibitors activity in the rat's cerebral hemispheres and cerebellum to the control values in every term after the ethanol withdrawal and to stabilize the cerebral hemisphere cystein proteinases by day 7. Application of ethylmethylhydroxypyridine succinate was shown to normalize the proteinase inhibiting balance in serum by day 7 after the ethanol withdrawal.

Conclusion. The findings evidence that ethylmethylhydroxypyridine succinate application after the ethanol withdrawal favors normalization of the proteolytic enzymes and their endogenous inhibitors activity in rat's cerebral hemispheres, cerebellum, and serum.

Key words: ethanol, proteinase, inhibitors, ethylmethylhydroxypyridine succinate, brain.

Адрес для корреспонденции:

Ходос Ольга Александровна.
Витебский государственный медицинский университет.
210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27; сп. тел. (8-0212) 37-08-28.

С. Д. КУЛЕШ, С. А. ЛИХАЧЕВ, А. В. АСТАПЕНКО,
С. Э. САВИЦКИЙ, Т. В. ЛУРЬЕ, М. С. ШУМСКАС,
И. А. МИНЗАР, А. Л. СТАНИШЕВСКИЙ,
С. В. МАРЧЕНКО, С. Я. СВИРИДОВИЧ,
И. А. ПЕТРОВИЧ, Н. С. КОПЫЦКАЯ,
Н. Н. БЕЛЯВСКИЙ, В. В. РЕДУТО

СИСТЕМНЫЙ ТРОМБОЛИЗИС ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Гродненский государственный медицинский университет, РНПЦ неврологии и нейрохирургии Минздрава Республики Беларусь, Гродненская областная клиническая больница, Белорусский государственный медицинский университет, 9-я городская клиническая больница Минска, Городская клиническая больница скорой медицинской помощи Минска, Минская областная клиническая больница, Витебский государственный медицинский университет, Брестская областная больница

Цель исследования. Установить эффективность и безопасность системной тромболитической терапии (сТЛТ) ишемического инсульта с использованием алтеплазы.

Материал и методы. Проанализированы данные, полученные из 6 клинических центров Беларуси, использующих сТЛТ алтеплазой (СТИН-БЕЛ). Сведения о пациентах ($n=56$) внесены в единый регистр с января 2007 г. Оценка неврологического дефицита по шкале инсульта NIH и нейровизуализация с помощью РКТ или МРТ проводилась до начала лечения, через 24 ч и 7 дней после сТЛТ. Степень ограничения жизнедеятельности через 3 мес после лечения оценивали по модифицированной шкале Рэнкина (мШР).

Результаты. До лечения медиана суммарного клинического балла по шкале NIH составляла 15,5. Средняя длительность временного промежутка от появления первых симптомов заболевания до начала сТЛТ — 141 мин. После проведения сТЛТ медиана балла по шкале NIH через 24 ч составляла 10 пунктов, через 7 дней — 6,5. Повторные РКТ/МРТ в течение 7 сут выявили геморрагическую трансформацию инфаркта в 13 (23,2%) случаях, из них только в 1 (1,8%) случае отмечалось симптомное внутримозговое кровоизлияние. Через 3 мес от начала инсульта 23 (41,1%) пациента были функционально независимы (мШР 0—2), 16 (28,5%) пациентов имели признаки инвалидности (мШР 3—5). 90-дневная летальность (от всех причин) составила 30,4% (17/56).

Заключение. Первые результаты исследования СТИН-БЕЛ свидетельствуют о безопасности использования сТЛТ в клинической практике. Оценка исходов указывает на необходимость выработки более строгих критериев отбора больных по сравнению с существующими рекомендациями.

Ключевые слова: ишемический инсульт, тромболизис, эффективность, безопасность.

Инфаркт мозга (ишемический инсульт, ИИ) является одной из ведущих болезней системы кровообращения с высоким процентом смертности и инвалидности населения [1]. Современные подходы к лечению ИИ включают применение методов реперфузии, что позволяет предотвратить развитие необратимого повреждения вещества головного мозга либо уменьшить его объем [2, 3]. В исследованиях эффективности тромболизиса, проведенных в 1960—1970 гг., отмечалось частое развитие внутримозговых кровоизлияний, поэтому реперфузионная терапия не рекомендовалась

для клинического применения [4]. В последующем интерес к тромболитической терапии возродился благодаря появлению новых препаратов и их успешному применению при инфаркте миокарда. В настоящее время имеются пять поколений тромболитических средств [5]. I — природные активаторы плазминогена (стрептокиназа, стрептодеказа, фибринолизин); II — фибриноселективные тромболитики (рекомбинантный тканевой активатор плазминогена (rt-PA, алтеплаза), рекомбинантная проурокиназа); III — усовершенствованные активаторы плазминогена (фибринспецифичная форма rt-PA — тенектеплаза, негликозилированная форма rt-PA — ретеплаза, rt-PA с длительным периодом полувыведения — ланотеплаза, ацилированный комплекс «стрептокиназа+плазминоген», фибринактивированный человеческий плазминоген); IV — усовершенствованные активаторы плазминогена III поколения (биосинтетические); V — композиции тромболитиков (rt-PA + конъюгат урокиназа—плазминоген и др.). Указанные препараты можно вводить внутривенно (системная тромболитическая терапия, сТЛТ) или локально в окклюзированную артерию через катетер (селективный внутриартериальный тромболизис).

В Республике Беларусь единственным разрешенным к применению препаратом для сТЛТ при ИИ является «Актилизе» (алтеплаза, Boehringer Ingelheim). Использование препаратов I поколения не рекомендуется из-за высокой частоты геморрагических осложнений, приводящих к достоверно более высоким показателям летальности по сравнению с большими, получавшими плацебо [4].

Первым рандомизированным контролируемым испытанием алтеплазы было мультицентровое исследование, проведенное Национальным институтом неврологических заболеваний и инсульта США (NINDS). Анализ 624 случаев ИИ показал, что в группе rt-PA уровень восстановления функционального дефицита был на 30% выше по сравнению с группой плацебо [6]. В последующем мета-анализе 8 клинических испытаний rt-PA (2889 пациентов) показано достоверное снижение количества неблагоприятных функциональных исходов (смерть или зависимость от окружающих) в конце периода наблюдения (отношение шансов 0,83, 95% доверительный интервал 0,73—0,94) [3].

Целью настоящего исследования было установить эффективность и безопасность сТЛТ при ИИ с использованием алтеплазы в отечественной клинической практике.

Материал и методы

Системный тромболизис при ИИ в Республике Беларусь (СТИН-БЕЛ) — проспективное когортное исследование пациентов, которым проводилась сТЛТ алтеплазой в дозе 0,9 мг/кг массы тела (10% болюс в течение 1 мин, оставшаяся доза — внутривенно капельно в течение 1 ч). Все клинические центры Беларуси, использующие сТЛТ в соответствии с национальными рекомендациями, рекомендациями Европейской организации по проблеме инсульта и разработанным детализированным алгоритмом сТЛТ [7], представляют сведения о пациенте в единый регистр с января 2007 г. С целью унифика-

ции регистрации результатов в различных клинических центрах используют единую индивидуальную регистрационную карту. Оценка неврологического дефицита по шкале инсульта NIH (Национальных институтов здоровья США) [8] и нейровизуализация с помощью рентгеновской компьютерной томографии (РКТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) проводится до начала лечения, а также через 24 ч и 7 сут после сТЛТ. Степень ограничения жизнедеятельности через 3 мес после лечения оценивают по модифицированной шкале Рэнкина (мШР) [9]. Геморрагическую трансформацию классифицируют в соответствии с подходами исследования ECASS [10]. Симптомное внутримозговое кровоизлияние (сВМК) определяют по критериям исследования «Безопасное внедрение тромболиза — исследование по мониторингованию инсульта» (SITS-MOST) [11]. При сравнительном анализе результатов СТИН-БЕЛ использовали данные SITS-MOST, а также совокупные данные рандомизированных контролируемых испытаний (сдРКИ) эффективности и безопасности алтеплазы [12].

Результаты и обсуждение

Сведения о 3-месячных исходах ИИ у пациентов, пролеченных методом сТЛТ, по состоянию на 1 сентября 2011 г. поступили из 6 клинических центров для 56 пациентов; их основные характеристики представлены в табл. 1. Возраст больных варьировал от 25 до 80 лет — медиана (Ме) 60,0 лет и интерквартильный размах (ИКР) от 54,0 до 69,5. Преобладали мужчины — 73,2%. У 50 (89,3%) больных до исследованного инсульта существенных ограничений жизнедеятельности (мШР 0—1) не отмечалось. Наиболее распространенными факторами риска инсульта в исследованной когорте были АГ (94,6%), мерцательная аритмия (35,7%) и застойная сердечная недостаточность (хроническая сердечная недостаточность II А стадии и выше, 33,9%). Кардиоэмболический подтип ИИ диагностирован у 22 (39,3%) из 56 больных. Медиана суммарного клинического балла (СКБ) по шкале NIH до лечения составляла 15,5 (ИКР 12—19, диапа-

зон 6—24). Длительность временного промежутка от появления первых симптомов заболевания до начала сТЛТ (время инсульт—игла, ВИИ) варьировала в пределах от 75 до 180 мин (Ме 148 и ИКР 120—165), 15 (26,8%) пациентов пролечены в течение первых 2 ч терапевтического окна. В качестве исходного нейрорадиологического исследования 38 (68%) больным проведена бесконтрастная РКТ, 5 (9%) — перфузионная компьютерная томография, 13 (23%) пациентам — МРТ (включая режим диффузионно-взвешенного изображения).

После проведения сТЛТ средний балл по шкале NIH через 2 ч уменьшился с исходных 15,5 до 11,5 пунктов (диапазон 2—24, ИКР 8—16,5), через 24 ч — до 10 пунктов (диапазон 0—24, ИКР 5—16). При контрольном нейрорадиологическом исследовании в сроки 24—36 ч после сТЛТ у 10 (18%) больных выявлялись признаки геморрагической трансформации инфаркта, классифицированные по С. Berger и соавт. [10] как геморрагический инфаркт 1-го типа (n=3), геморрагический инфаркт 2-го типа (n=3), паренхимная гематома 1-го типа (n=2), паренхимная гематома 2-го типа (n=2). Только у 1 из этих пациентов геморрагическая трансформация соответствовала критериям сВМК, что составило 1,8% (табл. 2).

Через 7 сут от начала инсульта медиана СКБ по шкале NIH уменьшилась до 6,5 пунктов (диапазон 0—23, ИКР 3—12). Повторная нейровизуализация в этот период выявила 3 вновь развившихся случая геморрагической трансформации инфаркта (геморрагические инфаркты 1-го и 2-го типа вне критериев сВМК). В результате совокупная частота любой геморрагической трансформации в течение первой недели заболевания составила 23,2% (13/56).

Удельный вес больных с различными степенями ограничения жизнедеятельности через 3 мес от начала инсульта представлен на рисунке. У 23 (41,1%) пациентов в эти сроки отмечалась функциональная независимость в повседневной жизни (мШР 0—2), у 16 (28,5%) — признаки инвалидности (мШР 3—5).

Таблица 1

Сравнительная характеристика пациентов из регистров СТИН-БЕЛ, SITS-MOST и сдРКИ

Показатель	СТИН-БЕЛ n=56	SITS-MOST n=6483	сдРКИ n=464
Возраст, лет	60,0 [54,0—69,5]	68 [59—75]	69,6 [61,3—75,4]
Мужской пол, %	73,2	60,2	59,9
мШР 0—1 до инсульта, %	89,3 (50/56)	93,1 (5899/6337)	НД
Артериальная гипертензия в анамнезе, %	94,6 (53/56)	58,7* (3710/6318)	59,7* (277/464)
Диабет в анамнезе, %	7,1 (4/56)	16,0 (1020/6374)	21,1* (98/464)
Курение, %	30,2 (16/53)	24,1 (1474/6114)	НД
Инсульт в анамнезе, %	7,1 (4/56)	10,1 (643/6395)	13,8 (64/464)
Мерцательная аритмия, %	35,7 (20/56)	23,9* (1507/6306)	20,7* (96/464)
Застойная сердечная недостаточность, %	33,9 (19/56)	7,5* (467/6339)	13,2* (61/464)
Прием антиагрегантов накануне ИИ, %	13,0 (7/54)	29,8* (1918/6441)	36,4* (169/464)
Гликемия накануне сТЛТ, ммоль/л	6,5 [5,2—7,3]	6,4 [5,6—7,7]	6,6 [5,8—8,8]
Масса тела, кг	81 [73—90]	75 [68—85]	75 [65—84]
САД накануне сТЛТ, мм рт. ст.	150 [140—165]	150 [137—166]	156 [140—170]
ДАД накануне сТЛТ, мм рт. ст.	94 [80—100]	81 [74—90]	84 [78—92]
Тяжесть неврологического дефицита, балл	15,5 [12—19]	12 [8—17]	13 [8—18]
Кардиоэмболический подтип ИИ, %	39,3 (22/56)	35,0 (2270/6483)	НД
Время инсульт—игла, мин	148 [120—165]	140 [115—165]	140 [90—168]

Примечание. Здесь и в табл. 2 НД — нет данных; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; * — достоверность различий показателей по сравнению с таковыми в регистре СТИН-БЕЛ, $P \leq 0,05$.

Таблица 2

Основные результаты сТЛТ у пациентов из регистров СТИН-БЕЛ, SITS-MOST и сдРКИ

Показатель	СТИН-БЕЛ	SITS-MOST	сдРКИ
СКБ:			
до начала сТЛТ, балл	15,5 [12—19]	12 [8—17]	13 [8—18]
через 7 дней, балл	6,5 [3—12]	4 [1—11]	НД
Геморрагическая трансформация, %	23,2 (13/56)	17,1 (1085/6352)	НД
Симптомное внутримозговое кровоизлияние, %	1,8 (1/56)	1,7 (107/6444)	НД
Независимость в повседневной жизни через 3 мес, балл	41,1 (23/56)	54,8* (3362/6136)	49,0 (227/463)
90-дневная летальность, %	30,4 (17/56)	11,3* (701/6218)	17,3* (83/479)

Летальность в течение 90 дней составила 30,4% (17/56). У 10 человек причиной смерти был текущий инсульт, у 3 — развившийся в течение острого периода повторный инсульт. Вследствие тромбозмболии легочной артерии умерли 2 пациента; ишемической болезни сердца — 2. Случаев смерти в течение первых суток от начала инсульта не было. В течение 2—7 сут от ИИ умерло 8 больных; 8—30 сут — 6; в течение 2-го мес — 2 и в течение 3-го мес — 1 больной.

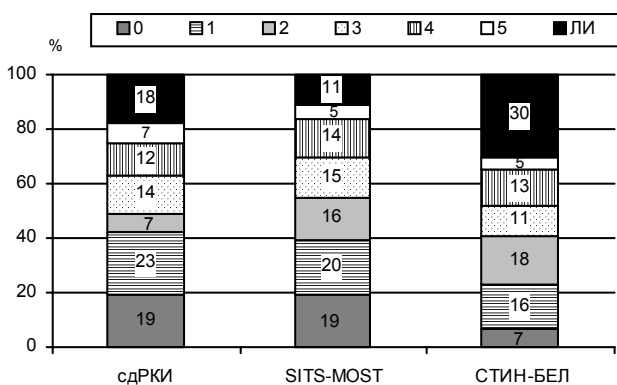
Сопоставление полученных результатов с данными других исследователей показывает, что средний возраст пациентов по регистру СТИН-БЕЛ меньше, чем по SITS-MOST и сдРКИ (на 8,0 и 9,6 лет соответственно). При этом в когорте СТИН-БЕЛ было меньше больных с сахарным диабетом (по сравнению с сдРКИ, $P < 0,05$) и лиц, принимавших антиагреганты накануне ИИ. Не отмечалось существенных различий между названными исследованиями в уровнях гликемии и САД накануне сТЛТ, а также длительности ВИИ. В то же время распространенность у пациентов таких факторов риска инсульта, как АГ, мерцательная аритмия и застойная сердечная недостаточность в нашем исследовании была статистически достоверно выше, чем у пациентов из регистра SITS-MOST и сдРКИ (см. табл. 1). Обращает на себя внимание бóльшая тяжесть исходного неврологического дефицита у больных по регистру СТИН-БЕЛ в сравнении с таковыми двух последних когорт: медиана СКБ по шкале NIH в СТИН-БЕЛ на 3,5 балла превышает соответствующий показатель в SITS-MOST и на 2,5 балла — в сдРКИ. Отмеченные факты могут объяснить меньший удельный вес пациентов регистра СТИН-БЕЛ, которые были независимыми в повседневной жизни (мШР 0—2) че-

рез 3 мес от начала ИИ (41,1%, 23/56) по сравнению с данными регистра SITS-MOST (54,8%, 3362/6136; $P = 0,036$) и сдРКИ (49,0%, 227/463; $P = 0,26$) (см. табл. 2).

Показатель 90-дневной летальности в СТИН-БЕЛ (30,4%, 17/56) статистически достоверно выше, чем в обоих исследованиях, с которыми проводилось сравнение (11,3% и 17,3% соответственно). Анализируя возможные причины высокой летальности, следует вначале рассмотреть случаи смерти вследствие текущего инсульта ($n = 10$). Только 1 летальный исход, который наступил у пациента С. через 31 ч от начала инсульта на фоне возникновения сВМК, может быть ассоциирован с применением алтеплазы. В оставшихся 9 случаях смерти вследствие текущего инсульта можно предположить неэффективность реперфузии на фоне исходно обширного инфаркта мозга. Так, медиана СКБ по шкале NIH до лечения в этой подгруппе пациентов статистически достоверно выше, чем таковая у остальных больных (19, ИКР 18—21 и 14, ИКР 10—18 соответственно; $P < 0,01$, критерий Манна—Уитни), медиана декремента СКБ по шкале NIH в течение 24 ч составляла 0 баллов (ИКР от -4 до 2) и была достоверно ниже 24-часового декремента по шкале NIH в подгруппе умерших от других причин и выживших через 90 дней (6, ИКР 2—7; $P < 0,01$, критерий Манна—Уитни). Существенный вклад в формирование высокого показателя 3-месячной летальности внесли также случаи смерти от повторного инсульта и других болезней системы кровообращения ($n = 7$). Это может быть обусловлено высокой распространенностью сосудистых факторов риска у больных с мозговым инсультом в республике, установленной при эпидемиологических исследованиях [13].

Можно констатировать, что при отборе пациентов, имеющих показания для сТЛТ в соответствии с существующими критериями инструкции по применению актилизе и рекомендательных документов, в группу реперфузионной терапии можно включать больных с тяжелым и обширным ишемическим поражением мозга, у которых сТЛТ не оказывает терапевтического эффекта, а инсульт заканчивается летальным исходом. Представляется целесообразным провести углубленный анализ полученных данных для установления факторов, ассоциированных с благоприятным исходом тромболизиса, с целью разработки модифицированных критериев отбора больных и повышения эффективности сТЛТ.

Частота геморрагической трансформации инфаркта мозга в 56 случаях регистра СТИН-БЕЛ (все подтипы в любые сроки, 23,2%) несколько превышает соответствующий показатель SITS-MOST (17,1%;



Удельный вес больных с различными степенями ограничения жизнедеятельности (0—5 — баллы по мШР) и летальным исходом (ЛИ) через 3 мес от начала инсульта

$P=0,23$). Однако при оценке безопасности сТЛТ необходимо учитывать тот факт, что некоторые подтипы геморрагической трансформации не относятся к маркерам неблагоприятного исхода. Напротив, в исследовании С. Molina и соавт. установлено, что геморрагические инфаркты 1-го и 2-го типа являются маркерами ранней успешной реканализации, которая приводит к уменьшению размеров инфаркта и улучшает клинический исход [14]. Частота сВМК, зарегистрированная в регистре СТИН-БЕЛ (1,8%, 1/56), эквивалентна таковой в SITS-MOST (1,7%, 107/6444), что свидетельствует о безопасности сТЛТ в повседневной клинической практике.

Выводы

1. Системная тромболитическая терапия ишемического инсульта с использованием алтеплазы, проводимая в первые 3 ч от начала заболевания, является безопасной в повседневной клинической практике.

2. Удельный вес больных с функциональной независимостью в повседневной жизни (от 0 до 2 баллов по модифицированной шкале Рэнкина) через 3 мес после системной тромболитической терапии в Беларуси достаточно высок (41,1%), однако не достигает уровня европейского регистра SITS-MOST (54,8%).

3. При отборе пациентов, имеющих показания для системной тромболитической терапии в соответствии с существующими нормативными и рекомендательными документами, в группу реперфузионной терапии можно включать больных с тяжелым инсультом, у которых не отмечалось терапевтического эффекта, а заболевание заканчивается летальным исходом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жарко В. И., Черепков В. З., Цыбин А. К. // *Здравоохранение*.— 2007.— № 1.— С. 4—13.
2. Скворцова В. И., Шамалов Н. А., Анисимов К. В., Рамазанов Г. Р. // *Журн. неврологии и психиатрии*.— 2010.— № 12.— Вып. 2.— С. 17—22.
3. Wardlaw J. M., Murray V., Berge E., del Zoppo G. J. // *Stroke*.— 2010.— Vol. 41.— e445—e446.
4. Alexandrov A. V. // *Int. J. Stroke*.— 2006.— Vol. 1.— P. 26—29.
5. Скворцова В. И., Голухов Г. Н., Губский Л. В. и др. // *Журн. неврологии и психиатрии*.— 2006.— № 12.— С. 24—31.
6. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group // *N. Engl. J. Med.*— 1995.— Vol. 333.— P. 1581—1587.

7. Лихачев С. А., Кулеш С. Д., Савицкий С. Э. // *Неврология и нейрохирургия в Беларуси*.— 2009.— № 4.— С. 16—24.
8. Brott T., Adams H. P. Jr., Olinger C. P., et al. // *Stroke*.— 1989.— Vol. 20.— P. 864—870.
9. van Swieten J. C., Koudstaal P. J., Visser M. C., et al. // *Stroke*.— 1988.— Vol. 19.— P. 604—607.
10. Berger C., Fiorelli M., Steiner T., et al. // *Stroke*.— 2001.— Vol. 32.— P. 1330—1335.
11. Wahlgren N., Ahmed N., Davalos A., et al. // *Lancet*.— 2007.— Vol. 369.— P. 275—282.
12. Hacke W., Donnan G., Fieschi C., et al. // *Lancet*.— 2004.— Vol. 363.— P. 768—774.
13. Кулеш С. Д. // *Журн. неврологии и психиатрии*.— 2011.— № 4.— Вып. 2.— С. 42—47.
14. Molina C., Alvarez-Sabin J., Montaner J., et al. // *Stroke*.— 2002.— Vol. 33.— P. 1551—1556.

Поступила 05.10.11.

SYSTEMIC THROMBOLYSIS UNDER ISCHEMIC STROKE

S. D. Kulesh, S. A. Likhachev, A. V. Astapenko, S. E. Savitsky, T. V. Luriye, M. S. Shumskas, I. A. Minzar, A. L. Stanishevsky, S. V. Marchenko, S. Ya. Sviridovich, I. A. Petrovich, N. S. Kopytskaya, N. N. Belyavsky, V. V. Reduto

Objective. To determine the systemic thrombolytic therapy (sTLT) for ischemic stroke applying alteplase efficiency and safety.

Materials and methods. The data obtained from six Belarus clinical centers applying the alteplase sTLT (STIN-BEL) were analyzed. The patients data ($n=56$) had been entered the Unified Register since January 2007. The neurologic deficit had been assessed by the NIH stroke scale and neurovisualization had been carried out in RCT or MRT before the therapy and in 24 h and 7 days after the sTLT. The life activities limitations degree had been assessed in 3 months after the therapy by the modified Rankin's scale (mRS).

Results. The median total clinical assessment by the NIH scale had been determined as 15.5 before the therapy. The average time interval between the disease first symptoms and the sTLT beginning was 141 min. In 24 h after the sTLT had been carried out the median assessment by the NIH scale was 10 points, in 7 days — 6.5 points. The RCTs/MRTs re-performed during 7 days revealed the infarction hemorrhagic transformation in 13 (23.2%) cases symptomatic cerebral hemorrhage detected but in one (1.8%) case. In 3 months after the stroke occurrence 23 (41.1%) patients were functionally independent (mRS 0—2), 16 (28.5%) patients demonstrated signs of invalidity (mRS 3—5). Lethality within 90 days (because of every cause) was 30.4% (17/56).

Conclusion. The first outcomes of studying STIN-BEL confirm the sTLT safe application in clinical practice. The outcomes assessment points at the necessity to develop more rigorous criteria for selecting patients as compared with the current recommendations.

Key words: ischemic stroke, thrombolysis, efficiency, safety.

Адрес для корреспонденции:

Кулеш Сергей Демьянович.
Гродненский государственный медицинский университет.
230009, г. Гродно, ул. Горького, 80; сл. тел. (8-0152) 41-40-77.

©“Здравоохранение”, 2011

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 24.11.2011.

Формат 60x84 1/8. Офсетная печать.

Физ. печ. л. 10,0+1,0 печ. л. вкл. Усл. печ. л. 9,3.

Уч.-изд. л. 12,9. Тираж экз. Зак. 3281

Адрес редакции: 220007, Минск, Фабрициуса, 28

Телефоны: 226-21-66, 226-21-48

E-mail: zdrav@tut.by

zdravmag@mailgov.by

www.zdrav.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.