

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 2-3

2009

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ</b>	<b>3</b>
<b>РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ</b>	
<b>Общий раздел</b> (социальная информация, статистика, эпидемиология)	<b>17</b>
<b>Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний</b>	<b>20</b>
<b>Герпесвирусные инфекции</b>	<b>20</b>
– Инфекции, вызываемые вирусом простого герпеса 1,2 типа	<b>20</b>
– Инфекции, вызываемые вирусом Эпштейна-Барр	<b>22</b>
<b>Краснуха</b>	<b>24</b>
<b>Сифилис</b>	<b>26</b>
<b>Бактериальные инфекции</b>	<b>29</b>
<b>Лабораторная диагностика неинфекционных заболеваний</b>	<b>35</b>
<b>Маркеры пренатального скрининга</b>	<b>35</b>
<b>Онкомаркеры</b>	<b>39</b>
<b>Вопросы качества лабораторных исследований</b>	<b>42</b>

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

**Главный редактор: А.Н. Бурков**

А.П. Обрядина, Е.О. Копнина, М.В. Кувшинов, Е.Е. Шальнова, И.Ф. Голубева

**Художественный редактор/компьютерная верстка: Н.Б. Цыганова**

**Адрес редакции, издательства, типографии**

РОССИЯ, 603093, Н. Новгород, ул. Яблоневая, 22, а/я 69

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-18

E-mail: see@npods.ru; www.npods.ru

**Регистрационное свидетельство** ПИ №ФС 77-228449 от 30 декабря 2005 г

**.Подписано в печать** 18.12.2009

**Тираж** 3000 экземпляров.

**Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.**

An appeal to the reason of the people has never been known to fail in the long run.

J.R. Lowell

## Уважаемые читатели!

Мы рады сообщить Вам о выходе в свет очередного номера информационно-реферативного журнала "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний". Наряду с традиционными рубриками, посвященными актуальным вопросам лабораторной диагностики инфекционных заболеваний, в настоящем номере мы продолжаем публикацию материалов в новых разделах, открытых в предыдущих выпусках. В одном из них освещаются вопросы лабораторной диагностики ряда соматических заболеваний, оценки гормонального статуса, в другом - вопросы качества лабораторных исследований. Представляем Вам краткое содержание выпуска. Постоянная рубрика журнала - "Оригинальные статьи" - содержит подборку статей сотрудников ООО "НПО "Диагностические системы" по различным направлениям научных исследований.

Так, в статье "Диагностические преимущества тест-системы ДС-ИФА-НВsAg-0,01 для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В" дана оценка этой высокочувствительной иммуноферментной тест-системы, позволяющей выявлять НВsAg в сыворотке (плазме) и препаратах крови в концентрации 0,01 МЕ/мл и подтверждать полученные результаты. Использование теста с повышенной чувствительностью позволит более эффективно обнаруживать мутантные формы НВsAg, значительно уменьшить риск посттрансфузионного заражения гепатитом В, повысит качество скрининга донорской крови и поможет скорректировать терапию при двойной инфекции.

В статье "Возможности современных тест-систем при подтверждении ранней ВИЧ-инфекции" опубликованы результаты сравнительной оценки рабочих характеристик тест-систем, предназначенных для подтверждения положительных результатов, полученных при скрининговых исследованиях на ВИЧ-инфекцию - ИФА теста "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР", и тестов на основе метода иммунного блоттинга. Применение тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-АГ-СПЕКТР" позволяет своевременно подтверждать результаты, полученные при использовании высокочувствительных скрининговых тест-систем, предназначенных для одновременного выявления антител к белкам вирусов ВИЧ-1,2, а также вирусного антигена p24.

Следующая статья посвящена изучению закономерностей иммунного ответа у детей при инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна-Барр. Представлены результаты собственных исследований по оценке уровня инфицированности ВЭБ в различных группах детского населения, определению антительного профиля и авидности специфических антител.

Статья "Новые тест-системы для определения гормонального статуса" - информативного характера, она знакомит читателей с новым направлением деятельности компании - разработкой и производством полного спектра тест-систем для оценки функции щитовидной железы, определения уровня гонадотропинов гипофи-

за, ранней диагностики и мониторинга течения беременности.

В общем разделе (социально-эпидемиологическая и статистическая информация) приведены материалы Государственного статистического наблюдения о динамике показателей заболеваемости острым, хроническим гепатитом В и скрытыми формами этой инфекции в РФ за последнее десятилетие, а также статистические материалы Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора о состоянии инфекционной и паразитарной заболеваемости в Российской Федерации за январь-сентябрь 2009 г (в сравнении с показателями за аналогичный период 2008 г.).

В данном выпуске журнала мы продолжаем публикацию рефератов статей о клинико-диагностических аспектах ToRCH-инфекций при беременности. Ряд рефератов посвящен изучению роли ВЭБ-инфекции в развитии инфекционного мононуклеоза и рассеянного склероза.

Не менее интересны материалы, касающиеся исследований сифилитической инфекции, оценки методов серологического скрининга на сифилис у беременных женщин и лабораторной диагностики врожденного сифилиса. Заслуживают также внимания рефераты о современных методах серологической диагностики нейросифилиса.

В разделе бактериальных инфекций широко представлены работы, посвященные изучению способности патогенных бактерий (выделяемых при госпитальных инфекциях) образовывать биопленки на поверхности имплантируемых биомедицинских устройств, по поиску подходов для подавления бактериальной адгезии.

Один из новых разделов журнала (касающийся вопросов клинической лабораторной диагностики) посвящен изучению биохимических маркеров пренатального скрининга на разных сроках беременности для оценки состояния плода и прогнозирования развития осложнений у новорожденных. Продолжена также публикация рефератов статей о диагностической значимости количественного определения некоторых видов онкомаркеров в сыворотке крови онкологических больных.

В последнем разделе данного номера журнала, посвященном вопросам качества лабораторных исследований, несомненный интерес у читателя, на наш взгляд, может вызвать статья L.M. Verte о системе менеджмента качества в клинических лабораториях США и путях практического применения. Любопытна также подборка рефератов публикаций о практических аспектах определения референсных интервалов для интерпретации результатов клинических лабораторных исследований.

И, в заключение, обращаем внимание читателей (наших постоянных клиентов и партнеров) на пояснительные уведомления, касающиеся определения концентрации простатспецифического антигена и биохимического скрининга маркерных белков с использованием тест-систем производства ООО "НПО "Диагностические системы".

## Диагностические преимущества тест-системы ДС-ИФА-НВsAg-0,01 для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В.

ООО НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород;  
ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора, Москва;  
ГУЗ Нижегородская областная станция переливания крови им. Н.Я. Климовой;  
Центр по контролю и профилактике заболеваний, Атланта, США

Н.И. Егорова,  
И.Ю. Пыреникова,  
С.Н. Иголкина,  
И.Н. Шарипова,  
В.Ф. Пузырев,  
А.П. Обрядина,  
А.Н. Бурков,  
Н.В. Корниенко,  
Howard A. Fields,  
А.С. Коровкин,  
Н.В. Шалунова,  
Т.А. Бектимиров,  
К.В. Кузнецов,  
Н.А. Кошечева,  
Т.И. Уланова

Проведена оценка новой высокочувствительной тест-системы для выявления поверхностного антигена гепатита В (НВsAg) "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" (Приоритетная справка № 2006129019 от 10.08.2006). Оценка чувствительности теста проводили с использованием отраслевого стандартного образца ОСО-НВsAg 42-28-311-06П, образцов панелей "Boston Biomedica Inc." (Вест Бриджуотер, Массачусетс, США) и "ZeptoMetrix Corp." (Буффало, Нью-Йорк, США). Полученные данные показали, что "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" выявляет различные субтипы НВsAg с одинаковой эффективностью и на более раннем сроке сероконверсии относительно тестов сравнения. Наряду с высокой аналитической и диагностической чувствительностью, система характеризуется высокой диагностической специфичностью.

Ключевые слова: *НВsAg, иммуноферментный анализ, сероконверсия, чувствительность, специфичность.*

The new highly sensitive test system "DS-EIA-HBsAg-0.01" (Priority Certificate No. 2006129019 of August 10, 2006) in detecting hepatitis B surface antigen (HBsAg) was assessed. The sensitivity of the test was estimated using the federal standards sample HBsAg

42-28-311-06, panels' samples Boston Biomedica Inc. (West Bridgewater, Mass., USA) and

ZeptoMetrix Corp. (Buffalo, NY, USA). The findings have indicated that "DS-EIA-HBsAg-0.01" is equally effective in detecting different subtypes of HBsAg during a seroconversion period earlier than alternative assays. Along with its high analytical and diagnostic sensitivity,

The system shows a high diagnostic specificity.

Key words: *HBsAg, enzyme immunoassay, seroconversion, sensitivity, specificity.*

### РЕЗЮМЕ

### ВВЕДЕНИЕ

Поверхностный антиген вируса гепатита В - НВsAg является основным маркером заболевания, регистрируемым задолго до появления клинических признаков болезни. Современные методы выявления НВsAg позволяют обнаруживать его в чрезвычайно низких концентрациях. Согласно Приказу МЗ РФ № 322 от 2002 г., для тест-систем иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления НВsAg с 2003 г. регламентируется чувствительность не менее 0,1 МЕ/мл. Однако в отдельных случаях концентрация НВsAg в сыворотке или плазме крови может быть ниже предела чувствительности большинства используемых тест-систем, разрешенных к применению и имеющих диагностическую чувствительность 0,1 МЕ/мл:

- в инкубационном периоде, до начала клинических проявлений заболевания и перед исчезновением НВsAg из крови;

- в случае скрытой инфекции, так называемого окултного гепатита, при котором не выявляются никакие маркеры вируса, но присутствует вирусная ДНК; другим вариантом скрытой инфекции может быть отсутствие детектируемых концентраций НВsAg при наличии антител к НВsAg [2,4];

- при формировании мутаций в вирусном геноме, вызывающих изменение структуры антигенных эпитопов НВsAg или биологических свойств вируса, например, снижение секреции вируса из клеток [6]; при изменении антигенной структуры снижается "узнаваемость" НВsAg с

Статья опубликована в журнале "Вопросы вирусологии" № 2- 2009, С. 44- 47

помощью сертифицированных диагностических тестов, и, следовательно, требуется большая его концентрация для детекции;

- при коинфекции вирусами гепатитов В и С или гепатита В и ВИЧ в результате подавления репликации вируса гепатита В другими вирусами [1, 3, 5].

Случаи возникновения посттрансфузионного гепатита В в результате использования "серонегативной" по HBsAg крови свидетельствуют о необходимости дальнейших работ по созданию

и внедрению в практическое здравоохранение методов детекции антигена, обладающих высокой чувствительностью с сохранением высокой специфичности.

Цель настоящей работы - оценка иммуноферментной тест-системы, предназначенной для выявления или подтверждения поверхностного антигена вируса гепатита В в сыворотке (плазме) и препаратах крови (альбумине, фибринолизине, иммуноглобулинах и лейкоцитарном интерфероне) с чувствительностью 0,01 МЕ/мл.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Характеристика теста.* В основе нового теста лежит принцип амплификации или усиления сигнала за счет использования пары - биотинового и стрептавидинового конъюгатов. Действующим началом разработанной тест-системы "ДС-ИФА-HBsAg-0,01" являются моноклональные антитела мыши к HBsAg (анти-HBs; "HyTest", Финляндия), сорбированные на стрипах полистиролового планшета ("Nunc", Дания). Исследуемый образец вносили в лунку по 0,1 мл. Без стадии отмывки последовательно вносили конъюгат-1, представляющий моноклональные антитела мыши к HBsAg, ковалентно связанные с биотином (ООО НПО "Диагностические системы", Н.Новгород), затем - конъюгат-2 - стрептавидин, меченный пероксидазой хрена ("Sigma-Aldrich", Германия). Общая продолжительность реакции - 2 ч 25 мин (42°C).

При использовании шейкера (42°C) время проведения анализа сокращается до 1 ч 25 мин.

*Стандартные образцы и панели.* Аналитическую чувствительность нового теста оценивали с использованием Отраслевого стандартного образца ОСО-HBsAg 42-28-311-06П (ООО НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород, совместно с ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича Роспотребнадзора), содержащего HBsAg в концентрации 20 МЕ/мл, откалиброванного по 2-му Международному стандартному образцу HBsAg - Second International Standard for HBsAg, subtype adw2, genotype A, NIBSC code number 00/588. Диагностическую чувствительность разработанной тест-системы анализировали с использованием образцов различных панелей: "Референс-панель сывороток крови человека, содержащих и не содержащих поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), субтипы ау и ad" (ЗАО "Медицинский центр "Авиценна"), "Стандартная панель сывороток, содержащих и не содержащих

HBsAg" (ЗАО "Вектор-Бест"), "Мастер-панель сывороток крови человека, содержащих поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) субтипов ау и ad" (ГНЦ ВБ "Вектор"), "Контрольная панель мутантных вариантов HBsAg субтипов ауw1 и adw2" (ООО НПО "Диагностические системы"), панели производства "Boston Biomedica Inc." (BBI), West Bridgewater, Массачусетс, США: HBsAg low titer performance panel PHA106; Hepatitis B surface antigen sensitivity panel PHA807 и PHA808, сероконверсионные панели Hepatitis B seroconversion panel subtype ad - PHM928, PHM932, PHM933, PHM934, PHM935A(M), PHM935B и сероконверсионные панели производства "ZeptoMetrix Corp." (ZMC; Буффало, Нью-Йорк, США) - "Hepatitis B seroconversion panel" (Catalog No. HBV 6277, 6278, 6279) и "Acute to recovered disease Hepatitis B seroconversion panel" (Catalog No. HBV 6281). Исследования проводили в 2005-2006 гг. в лаборатории ООО НПО "Диагностические системы", в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора РФ и в Центре по контролю и профилактике заболеваний (CDC; Атланта, США).

Для оценки диагностической специфичности разработанной тест-системы исследовали 7290 образцов сыворотки (плазмы) крови. Из них - 5348 образцов сыворотки (плазмы) крови здоровых доноров, любезно предоставленных сотрудниками ГУЗ «Нижегородская областная станция переливания крови им. Н.Я.Климовой», 494 образца сыворотки крови ВИЧ-инфицированных лиц, 972 образца сыворотки крови анти-HCV-позитивных лиц, 381 образец сыворотки крови беременных женщин и 95 образцов от больных с различными неинфекционными заболеваниями (патология сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, онкологические заболевания).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аналитическая чувствительность тест-системы "ДС-ИФА-HBsAg-0,01" составила 0,01МЕ/мл. Наряду с высокой чувствительностью, разработанная система характеризуется высокой

специфичностью, которая в среднем составляет 99,7% с небольшими колебаниями в пределах исследуемых групп (табл. 1).

**Оценка диагностической специфичности тест-системы  
"ДС-ИФА-НВsAg-0,01" на разных категориях населения**

Группа обследуемых	Количество исследуемых образцов	Количество ложноположительных результатов	Специфичность в данной группе, %
Здоровые доноры	5348	11	99,8
Больные с различными неинфекционными заболеваниями	95	1	98,9
Беременные женщины	381	3	99,2
Анти-НСV-позитивные	972	3	97,7
ВИЧ-инфицированные	494	4	99,2
Всего	7290	22	99,7

Результаты тестирования образцов сывороток панели ВВ1 "НВsAg low titer performance panel PHA106" с низким содержанием НВsAg (от 0,05 до 0,6 МЕ/мл) на разных тест-системах показали, что коэффициенты позитивности (отношение величины оптической плотности исследуемого образца к критической величине оптической плотности) образцов панели в "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" значительно превышали коэффициенты позитивности образцов в тестах сравнения. Система с повышенной чувствительностью эффективно выявляла НВsAg субтипов ad и ay во всех образцах панелей "Hepatitis B surface antigen sensitivity panel" ВВ1-807 и ВВ1-808 также с более высокими коэффициентами позитивности, чем в тесте сравнения.

Диагностическую чувствительность системы "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" анализировали на образцах 10 сероконверсионных панелей. Для сравнения использовали данные тестирования сероконверсионных образцов системами зарубежных производителей, представленные в инструкциях и паспортах к панелям. Подсчитывали общее количество реактивных образцов во всех панелях, выявленных каждым тестом. Систему, имеющую наибольшее количество позитивных по НВsAg образцов, признавали наиболее чувствительной. Кроме этого, определяли суммарное время (в сутках) с момента начального забора крови до 1-го позитивного образца с подсчетом средней величины.

Таблица 2

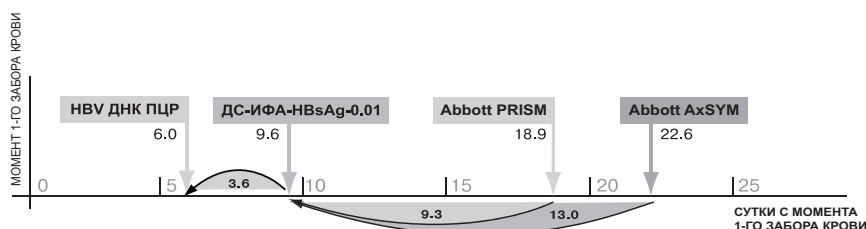
**Результаты детекции НВsAg в сероконверсионных образцах 10 панелей**

Наименование панели	Количество образцов позитивных по НВV ДНК	Количество НВsAg-позитивных образцов		
		ДС-ИФА-НВsAg-0,01	Abbott PRISM	Abbott AxSYM
ВВ1 PHM 928 (n=7)	7 (0)	6 (2)	5 (7)	5 (7)
ВВ1 PHM 932 (n=16)	16 (0)	12 (36)	8 (50)	7 (61)
ВВ1 PHM 933 (n=6)	6 (0)	6 (0)	5 (2)	4 (7)
ВВ1 PHM 934 (n=6)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	5 (3)
ВВ1 PHM 935A (M) (n=20)	17 (9)	17 (9)	14 (21)	13 (23)
ВВ1 PHM 935B (n=12)	6	11	10	9
ZMC HBV 6277 (n=11)	8 (26)	9 (21)	6 (33)	4 (40)
ZMC HBV 6278 (n=11)	11 (0)	10 (4)	8 (12)	8 (12)
ZMC HBV 6279 (n=7)	4 (19)	5 (14)	2 (26)	1 (28)
ZMC HBV 6281 (n=12)	10 (0)	11 (0)	6 (19)	5 (22)
Общее количество образцов	91	93	70	61
Среднее время с момента начального забора крови до выявления 1-го позитивного образца, сут	6,0	9,6	18,9	22,6

*Примечание. В скобках - время (в сутках) с момента начального забора крови до выявления 1-го позитивного образца; n - количество образцов в каждой панели.*

Как следует из данных табл.2, тест-система "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" демонстрирует наилучшую чувствительность, выявляя 93 образца как НВsAg-позитивные из общего количества сероконверсионных образцов (n=108). Один из альтернативных тестов детектировал НВsAg в 70 из 108 образцов, другой - лишь в 61. Вирусную ДНК детектировали в 91 образце. Время 1-ой детекции НВsAg с момента 1-го забора крови варьировалось от 0 до 50 дней (в среднем 18,9 дня) для 1-го теста сравнения и от 3 до 61 дня (в среднем 22,6 дня) - для 2-го теста. Для теста

"ДС-ИФА-НВsAg-0,01" момент 1-й детекции НВsAg приходился на 0-36-е сутки (в среднем 9,6 дня). Время 1-й детекции вирусной ДНК варьировалось от 0 до 26 дней и в среднем составило 6 дней. Таким образом, обобщенные результаты тестирования сероконверсионных панелей демонстрируют, что использование теста с повышенной чувствительностью позволяет сократить НВsAg-негативный период и приблизить момент выявления ДНК на 9,3 дня по сравнению с 1-м альтернативным тестом и на 13 дней - по сравнению со 2-м тестом (рис. 1).

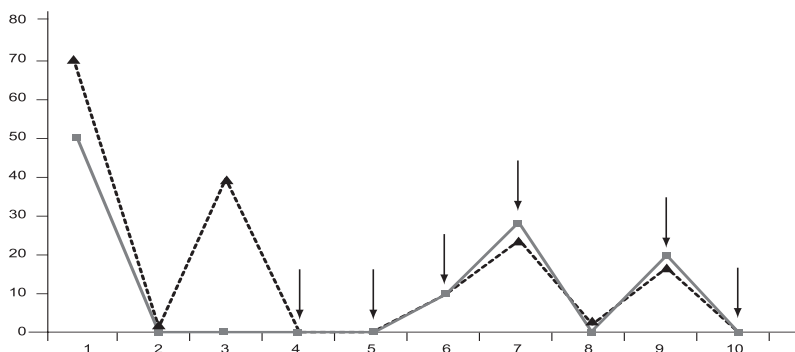


**Рис. 1.** Возможность сокращения НВsAg-негативного периода при использовании теста "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" (результаты обобщенного анализа 10 сероконверсионных панелей).

Цифрами на рисунке обозначено время выявления (в сутках) 1-го позитивного образца с момента 1-го забора крови.

Детальный анализ соотношения во времени моментов 1-го выявления НВsAg тест-системой "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" и обнаружения вирусной ДНК по каждой сероконверсионной панели показал, что в образцах панелей ВВИ РНМ933, РНМ934, РНМ935А(М) и ZMC HBV6281 время 1-ой детекции

НВsAg и вирусной ДНК совпадает ( $1 \cdot 10^2$ — $4 \cdot 10^2$  копий/мл). При тестировании образцов панелей ZMC HBV6277 и HBV6279 в тесте с повышенной чувствительностью время определения НВsAg на 1 забор крови опережает момент 1-ой детекции вирусной ДНК ( $1 \cdot 10^2$  копий/мл) (рис. 2).



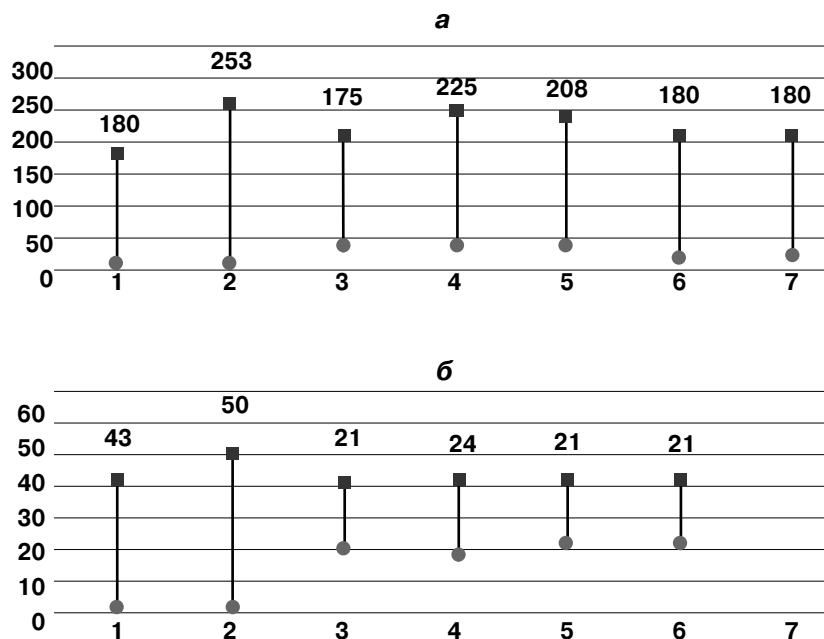
**Рис. 2.** Соотношение времени начальной детекции НВsAg и HBV ДНК в период сероконверсии в тест-системе "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" (результаты анализа 10 сероконверсионных панелей).

По оси ординат - время (в сутках) с момента начального забора крови до выявления 1-го позитивного образца; по оси абсцисс - панели: 1 - ВВИ РНМ 911 ( $1 \cdot 10^2$  копий/мл); 2 - ВВИ РНМ 928 ( $< 4 \cdot 10^2$  копий/мл); 3 - ВВИ РНМ 932 ( $< 4 \cdot 10^2$  копий/мл); 4 - ВВИ РНМ 933 ( $< 4 \cdot 10^2$  копий/мл); 5 - ВВИ РНМ 934 ( $< 4 \cdot 10^2$  копий/мл); 6 - ВВИ РНМ 935А(М) ( $6 \cdot 10^2$  копий/мл); 7 - ZMC HBV 6277 ( $1 \cdot 10^2$  копий/мл); 8 - ZMC HBV 6278 ( $1 \cdot 10^2$  копий/мл); 9 - ZMC HBV 6279 ( $1 \cdot 10^2$  копий/мл); 10 - ZMC HBV 6281 ( $1 \cdot 10^2$  копий/мл). Сплошная линия - HBV ДНК, пунктирная - НВsAg. Стрелками обозначен момент одновременной или более ранней по сравнению с HBV ДНК детекции НВsAg.

Из приведенных данных следует, что 10-кратное повышение чувствительности скринингового теста позволяет выявлять НВsAg в крови одновременно с вирусной ДНК или даже раньше.

По результатам тестирования образцов панелей ВВИ РНМ935 и ZMC HBV6281, полученных от индивидуальных доноров в динамике в период сероконверсии, охватывающий моменты появления и исчезновения НВsAg, установлено, что система "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" определяет НВsAg в более ранних образцах и в более поз-

дних по мере исчезновения, по сравнению с тестами с более низким уровнем чувствительности. Следствием этого стало увеличение позитивного по НВsAg периода на 28-78 дней для ВВИ РНМ935 и 26-29 дней - для ZMC HBV6281 в зависимости от теста сравнения. Кроме этого, обнаружено, что период выявления НВsAg системой "ДС-ИФА-НВsAg-0,01" дольше периода деградации вирусной ДНК в образцах панели ВВИ РНМ935 на 73 дня и в образцах панели ZMC HBV6281 - на 7 дней (рис. 3).



**Рис.3.** Сравнительная продолжительность позитивных по HBsAg и HBV ДНК периодов на различных тестах в образцах двух сероконверсионных панелей - VBI PHM935 (а) и ZMC HBV6281 (б), охватывающих моменты появления и исчезновения HBsAg.

По оси ординат - время (в сутках) с момента начального забора крови до выявления 1-го позитивного образца; по оси абсцисс - тест-системы: 1- ПЦР ( $1 \cdot 10^2$ ,  $5 \cdot 10^2$  копий/мл); 2 - "ДС-ИФА-HBsAg-0,01"; 3 - Abbott Auszyme; 4 - Abbott PRISM; 5 - Abbott AxSYM; 6 - Organon Teknika Uni-form II; 7 - Ortho Test Systems 3. Нижний маркер - 1-й позитивный образец; верхний - последний позитивный образец. Отрезками показана продолжительность позитивного периода.

В июне 2006 г. тест-система была передана ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора для проведения медицинских испытаний. Материалами для изучения тест-системы служили 40 образцов сывороток крови от пациентов, страдающих острым и хроническим вирусным гепатитом В, и 120 образцов сывороток крови здоровых доноров. Кроме того, диагностическую чувствительность и специфичность тест-системы оценивали с помощью панелей сывороток: "Мастер-панель сывороток крови человека, содержащих и не содержащих HBsAg субтипов ad и ay" (ГНЦ ВБ "Вектор"), "Стандартная панель сывороток крови человека, содержащих и не содержащих HBsAg (ЗАО "Вектор-Бест"), "Референс-панель сывороток крови человека, содержащих и не содержащих поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), субтипы ay и ad" (ЗАО "Медицинский центр "Авиценна"). При исследовании сывороток крови пациентов, страдающих гепатитом В, и положительных сывороток мастер-панели тест-система продемонстрировала 100% диагностическую чувствительность. Коэффициенты позитивности положительных образцов панелей и сывороток крови больных в тест-системе "ДС-ИФА-HBsAg-0,01" значительно превышали коэффициенты позитивности данных образцов, протестированных в препаратах сравнения. При исследовании отрицательных проб сывороток крови пациентов инфекционной больницы тест-система "ДС-ИФА-HBsAg-0,01" проде-

монстрировала 100% специфичность. При тестировании отрицательных проб сыворотки мастер-панели тест-система выявила HBsAg в 8 образцах, ранее считавшихся отрицательными, наличие HBsAg в которых было подтверждено с помощью конкурентного ИФА (подтверждающий тест). Препараты сравнения не обнаружили HBsAg в данных образцах, что подтверждает более высокую диагностическую чувствительность новой тест-системы. Таким образом, при испытании тест-системы в ГИСК им. Л.А.Тарасевича диагностическая специфичность и чувствительность тест-системы "ДС-ИФА-HBsAg-0,01" составили 100%.

Способность теста с повышенной чувствительностью выявлять мутантные формы HBsAg относительно тест-систем с более низким уровнем чувствительности оценивали с помощью "Контрольной панели мутантных вариантов HBsAg субтипов ayw1 и adw2" (ООО НПО "Диагностические системы"). Образцы панели представляют собой 13 рекомбинантных мутантных вариантов HBsAg, экспрессированных в клетках *Pichia pastoris*. Рекомбинантные мутанты HBsAg содержат известные точечные мутации в детерминанте "а" субтипов ayw1 и adw2. Каждый мутантный вариант HBsAg в панели представлен в двух разведениях. Анализ данных показал, что тест-система "ДС-ИФА-HBsAg-0,01" характеризуется более высокой реактивностью по отношению к мутантным формам вируса по сравнению с другими тестами.



## Сравнительная реактивность мутантных вариантов рекомбинантного HBsAg

Мутантный вариант рекомбинантного HBsAg	ДС-ИФА-HBsAg-0,01	Тесты сравнения		
		1	2	3
rec HBsAg ayw1 G145R	42,5	11,5	1,5	4,0
	7,9	2,1	0,7	1,3
rec HBsAg adw2 G145R	17,0	6,1	1,1	3,7
	4,4	1,7	0,6	1,5
rec HBsAg adw2 Q129R	5,2	3,5	0,7	0,8
	5,4	1,8	0,6	0,8
rec HBsAg adw2 Q129H	34,1	10,2	1,1	2,6
	8,6	2,4	0,6	1,2
rec HBsAg adw2 Q129L	6,5	3,3	0,9	0,9
	5,4	1,7	0,7	0,8
rec HBsAg adw2 T143K	9,1	3,0	0,6	0,8
	1,9	0,7	0,5	0,7
rec HBsAg adw2 T126N	12,2	3,5	1,0	1,1
	2,8	0,9	0,7	0,8
rec HBsAg adw2 T126S	2,9	2,0	1,1	0,9
	4,5	1,6	0,8	0,9
rec HBsAg adw2 D144A	8,2	2,4	0,6	0,9
	4,0	1,1	0,5	0,8
rec HBsAg adw2 M133H	20,5	7,5	1,1	2,6
	3,7	1,1	0,6	1,1
rec HBsAg adw2 M133L	40,5	13	1,4	3,7
	9,0	2,0	0,7	1,3
rec HBsAg adw2 K141E	14,7	4,4	1,3	2,1
	5,0	1,2	0,7	1,0
rec HBsAg adw2 P142S	29,5	5,3	1,4	2,2
	6,3	1,5	0,8	1,2

Примечание. Данные представлены в виде коэффициента позитивности (отношение величины оптической плотности исследуемого образца к критической оптической плотности).

Как следует из данных табл.3, коэффициенты позитивности выявления мутантных вариантов HBsAg в разработанной системе превышают таковые в тестах сравнения.

Известно, что существует проблема выявления HBsAg при коинфицировании вирусом гепатита В и другими вирусами. Были проанализированы 473 образца сыворотки крови анти-ВИЧ-позитивных лиц. В 82 из них обнаружен HBsAg. В 16 образцах сывороток крови от лиц с двойной инфекцией ВИЧ/вирусный гепатит В выявлен HBsAg в концентрации ниже 0,1 МЕ/мл. Причем 7 из них содержали антитела к HBsAg, а 9 не имели никаких других маркеров, кроме HBsAg, детектируемого в системе с высокой чувствительностью.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют высокую диагностическую значимость системы "ДС-ИФА-HBsAg-0,01". Использование высокочувствительного теста для выявления HBsAg позволяет сократить период

диагностического (серологического) окна при вирусном гепатите В. Это положительно отразится на качестве диагностики гепатита, позволит снизить количество случаев скрытой инфекции как с наличием дополнительного маркера анти-HBcore, так и при отсутствии любых маркеров, а также поможет скорректировать терапию при двойной инфекции. Высокая чувствительность тест-системы будет способствовать более эффективному выявлению мутантных форм HBsAg. Повышение чувствительности иммуноферментного теста для выявления HBsAg до уровня, сравнимого с чувствительностью молекулярно-генетических методов, позволяет рассматривать его в качестве возможной альтернативы другим методам, доступной и в рутинной лабораторной практике, которая повысит качество скрининга донорской крови и позволит снизить риск посттранфузионного инфицирования вирусом гепатита В.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Hofer M., Joller-Jemelka H.I., Grob P. J. et al. Frequent chronic hepatitis B virus infection in HIV-infected patients positive for antibody to hepatitis B core antigen only. *Swiss HIV Cohort Study // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* - 1998. - Vol. 17. - P. 6-13.
2. Liang T. J., Blum H. E., Wands J. R. Characterization and biological properties of a hepatitis B virus isolated from a patient without hepatitis B virus serological markers // *Hepatology.* - 1990. - Vol. 12. - P. 204-212.
3. Schuttler C. G., Fiedler N., Schmidt K. et al. Suppression of hepatitis B virus enhancer 1 and 2 by hepatitis C virus core protein // *J. Hepatol.* - 2002. - Vol. 37. - P. 855-862.
4. Thiers V., Nakajima E., Kremsdorf D. et al. A transmission of hepatitis B from hepatitis-B-seronegative subjects // *Lancet.* - 1988. - Vol. 2. - P. 1273-1276.
5. Wagner A. A., Loustaud-Ratti V., Chemin I. et al. Double hepatitis B virus infection in a patient with HIV/hepatitis C virus coinfection and "anti-HBc alone" as serological pattern // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* - 2005. - Vol. 24. - P. 623-627.
6. Weinberger K. M., Bauer T., Bohm S. and Jilg W. High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum // *J. General Virol.* - 2000. - Vol. 81. - P. 1165-1174.



## Возможности современных тест-систем при подтверждении ранней ВИЧ-инфекции.

ООО "НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород;  
ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора, Москва

**Е. Н. Баранова,  
И. Н. Шарипова,  
Н. М. Денисова,  
М. Е. Сусекина,  
В. Ф. Пузырев,  
К. А. Саркисян,  
М. С. Воробьева,  
А. Н. Бурков,  
Т. И. Уланова**

Цель настоящей работы - проведение сравнительной оценки рабочих характеристик тест-систем, предназначенных для подтверждения положительных результатов, полученных при скрининговых исследованиях на ВИЧ-инфекцию - твердофазного иммуноферментного теста "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" (НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород) и тестов на основе метода иммунного блоттинга (ИБ). В работе были исследованы 15 сероконверсионных панелей производства компаний ZeptoMetrix (США) и BBI (США). При использовании тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" 88 из 167 образцов сероконверсионных панелей определяются как ВИЧ-позитивные. Тесты на основе ИБ выявляют лишь 45 из 167 образцов как позитивные. Следовательно, на стадии ранней ВИЧ-инфекции использование "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" более эффективно, чем тестов на основе ИБ.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** *ранняя ВИЧ-инфекция, иммунный блот, иммуноферментный анализ.*

The purpose of the present investigation was to comparatively evaluate the performance characteristics of the test systems designed to verify the positive results of screening survey for HIV infection, such as the solid-phase immunoassay DS-EIA-HIV-AB/AG-SPECTR (Diagnosticheskiye Sistemy (Diagnostic Systems) Research-and-Production Association, Nizhni Novgorod) and tests based on immune blotting (IB). The investigation examined 15 seroconversion panels produced by ZeptoMetrix (USA) and BBI (USA). The use of the DS-EIA-HIV-AB/AG-SPECTR test system determined 88 of the 167 seroconversion panels as HIV positive. The IB-based tests revealed only 45 of the 167 samples as positive. Consequently, the application of the DS-EIA-HIV-AB/AG-SPECTR test system is more effective than the IB-based tests in early HIV infection.

**К e y w o r d s:** *early HIV infection, immune blot, enzyme immunoassay.*

### РЕЗЮМЕ

### ВВЕДЕНИЕ

Статья  
опубликована  
в журнале  
"Вопросы  
вирусологии"  
№ 5- 2009,  
С. 37- 40

В России в настоящее время стандартной процедурой лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции является определение суммарного спектра антител к ВИЧ либо одновременное обнаружение антител к ВИЧ и антигена ВИЧ-1 р24. Для подтверждения положительных результатов используют метод иммунного блоттинга (ИБ). Однако при использовании такого алгоритма существует ряд недостатков:

1) невозможность подтверждения в ИБ выявления антигена р24 ВИЧ-1 в случае использования тестов, определяющих одновременно антиген и антитела к ВИЧ;

2) выявление в ИБ антител только класса IgG, что не позволяет использовать этот тест для подтверждения результатов, полученных при использовании скрининговых тестов, выявляющих

все классы и субклассы иммуноглобулинов;

3) более низкий уровень чувствительности ИБ по сравнению с иммуноферментными тест-системами за счет большего разведения образца.

Совершенно ясно, что необходимо создание простого, более чувствительного и специфичного подтверждающего теста. Иммуноферментные тест-системы, в том числе применяемые и для диагностики ВИЧ-инфекции, постоянно совершенствуются с использованием последних научных достижений, а технология тестов на основе ИБ так и осталась на уровне середины 80-х годов прошлого века. Требования по чувствительности и специфичности, предъявляемые к скрининговым тест-системам, параллельно не предъявляются к тестам, предназначенным для подтверждения результатов скрининга.

Основные трудности при использовании ИБ связаны именно с ранней стадией сероконверсии. В работе G. van Doornum и соавт. [18] было показано, что часть "неопределенных" результатов, полученных при использовании ИБ, может быть успешно разрешена при дополнительном тестировании на наличие антигена р24. На сегодняшний день единственным путем для разрешения вопроса о том, была ли причиной "неопределенного" результата ранняя стадия сероконверсии, является тестирование образцов от данного донора в динамике.

С целью совершенствования алгоритмов подтверждения результатов скрининга, полученных

при использовании тест-систем, одновременно выявляющих антитела и антиген р24 ВИЧ-1, нами была разработана тест-система на основе иммуноферментного анализа (ИФА) "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР", предназначенная для определения антител к отдельным белкам ВИЧ 1-го и 2-го типа (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антигена р24 ВИЧ-1. Ранее уже была показана высокая диагностическая эффективность этого теста [1].

Целью настоящей работы было провести сравнительную оценку рабочих характеристик теста "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" и тестов на основе метода ИБ при тестировании образцов сероконверсионных панелей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Сероконверсионные панели.** В работе были использованы 15 сероконверсионных панелей (n = 167 образцов) производства компании ZeptoMetrix Corporation (ZMC, 872 Main Street Buffalo NY 14202, США) и BBI (SeraCare Life Sciences, 375 West St., West Bridgewater, MA 02379, США) (табл. 1, 2). Подсчитывали общее количество реактивных образцов во всех панелях, выявленных каждым тестом. Помимо этого определяли суммарное время (в сутках) с момента выявления первого позитивного ре-

зультата с подсчетом медианы. Медиана является одним из точных показателей при оценке чувствительности теста на сероконверсионных панелях.

**Тесты сравнения.** Постановку образцов панелей производили на тестах "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР", "ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН", Gen-screen Ultra HIV-1, 2 Ag-Ab. Результаты постановок на других тест-системах были взяты из инструкций и паспортов к сероконверсионным панелям.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Высококочувствительные тесты для одновременного выявления антител и антигена р24 ВИЧ (уровень чувствительности не ниже 10 пг/мл) реально позволяют существенно сократить "диагностическое окно". Однако, несмотря на внедрение в практику высокочувствительных диагностических скрининговых препаратов, проблема выявления ВИЧ-инфекции на ранних стадиях остается чрезвычайно актуальной. При использовании для подтверждения результатов скринингового анализа существующих тест-систем на основе ИБ случаи ранней, острой ВИЧ-инфекции могут быть пропущены [7]. Поэтому появление высокочувствительных скрининговых тестов влечет за собой и необходимость совершенствования тестов, предназначенных для подтверждения полученных результатов.

Полученные в данной работе результаты показывают, что первым маркером ВИЧ-инфекции при ранней сероконверсии является антиген р24. При использовании тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" для подтверждения результатов ИФА 88 из 167 образцов сероконверсионных панелей определяются как ВИЧ-позитивные. Отставание по времени от детекции вирусной РНК в сумме составляет 1, 2 дня. Медиана составила 14 дней. Детальный анализ соотношения во времени моментов первого выявления р24 тест-системой "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" и обнаружения вирусной РНК по каждой сероконверсионной панели показал, что в образцах панелей BBI № 931, 939, 930, 940, 934, 951 и образцах панелей ZMC № 9079, 6246 и 9077 время первой детекции антигена р24 ВИЧ-1 и вирусной РНК совпадает.

Таблица 1

### Характеристика образцов сероконверсионных панелей

Номер панели	Количество образцов	Период забора образцов, дни	День получения позитивного результата		
			ПЦР	анти-ВИЧ	Комбинированный тест АГАТ
<b>ZeptoMetrix:</b>					
9079	25	0-95	41	48	41
6246	21	0-78	48	55	51
12 008	13	0-42	22	34	29
9077	29	0-104	44	Не тестировали	44
6243	10	0-33	17	Не тестировали	24
<b>BBI Diagnostic:</b>					
931	9	0-42	15	33	15
939	9	0-103	14	103	16
949	5	0-20	6	20	18
930	4	0-10	0	7	0
916	6	0-35	9	30	15
941	6	0-25	9	18	9
940	8	0-29	0	11	0
947	4	0-20	0	9	9
934	3	0-11	0	7	0
951	6	0-19	8	19	8

При использовании тестов на основе ИБ лишь 45 из 167 образцов определяются как позитивные, а отставание по времени от детекции вирусной РНК в сумме составляет 18-19 дней в зависимости от чувствительности используемого теста. Медиана составила 46 дней.

Кроме повышения уровня чувствительности подтверждающих тестов, необходимо решить проблему так называемых "неопределенных" результатов. В ряде работ показано, что от 4 до 20% повторно реактивных в скрининговых тестах образцов сывороток могут давать "неопределенные" результаты при дополнительном тестировании в ИБ [5, 6, 11, 16]. Некоторые авторы называют цифры от 30,4 до 85% в зависимости от тестируемой популяции [10, 14]. Пациенты с "неопределенными" результатами должны быть протестированы повторно через 2-3 мес. Однако, как показывает практика, часть пациентов с "неопределенными" результатами недоступна для дальнейших исследований. "Неопределенные" результаты создают дополнительный барьер и для банков крови, не позволяя проводить правомерную отбраковку донаций.

При тестировании образцов сероконверсионных панелей ZMC № 6243 и BBI № 949, 930, 941, 947, 934 в тестах на основе ИБ окончательный результат по критериям ASTPHLD/CDC был отнесен к категории "неопределенных", несмотря на наличие в образцах вирусной РНК и анти-

гена ВИЧ-1 p24. А образцы панели BBI № 951, также, несмотря на наличие в тестируемой плазме антигена p24 и вирусной РНК, были квалифицированы как отрицательные. В работе J. Rich и соавт. [17] было показано, что 74% пациентов с "неопределенными" результатами тестирования в ИБ в последующем имеют сероконверсию.

Среди вирусных белков, используемых в тестах на основе ИБ, диагностически значимыми считаются продукты гена gag - p17, p24 и p55, продукты гена pol - p31, p51 и p66, и поверхностные гликопротеины BUR (env) gp41, gp120 и gp160. В настоящее время известно, что наибольшей диагностической значимостью обладают белки ВИЧ-1 gp41, p24, p31 и ВИЧ-2 gp36 [12-14, 19]. В большинстве случаев образцы от хронически инфицированных бессимптомных носителей будут демонстрировать присутствие антител к каждому из вышеперечисленных вирусных белков. Результаты подтверждающего теста в данном случае будут однозначны. Однако на ранних стадиях формирования иммунного ответа (или при ряде других обстоятельств), часто можно наблюдать лишь частичный паттерн иммунореактивности. Накопленный опыт свидетельствует о том, что ранними антителами, детектируемыми большинством блотов, являются антитела к поверхностным гликопротеинам, а затем и к p24 [3].

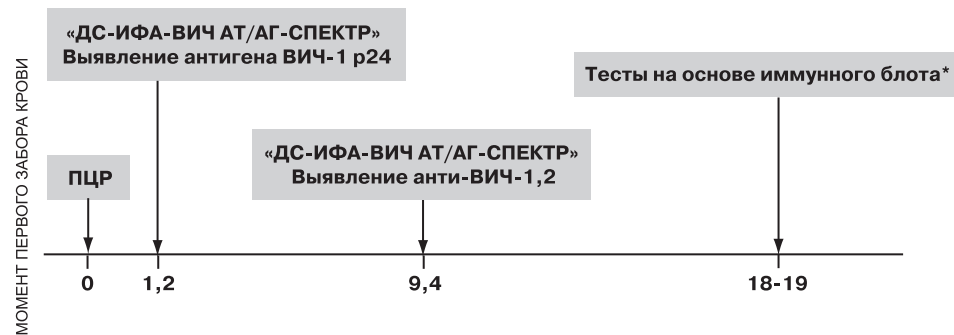
Таблица 2

### Срок (день) получения первого позитивного результата при исследовании сероконверсионных панелей

Номер панели	ПЦР*	Иммуноферментные тесты		ДС-ИФА-ВИЧ АТ/АГ-СПЕКТР**					Блот*	Критерии позитивности результатов блота
		Тесты 3-го поколения*	Тесты 4-го поколения**	At gp41	At gp120	At p24	At p31	Ag p24		
<b>Zeptomatrix:</b>										
9079	41	48	41	48		60		41	58-60	Не указаны
6246	48	55	51	55		65		48	62-65	«
12 008	22	34	29	34		42		24	34-36	«
9077	44	Не тестировали	44	57		57	85	44	57	«
6243	17	Не тестировали	24	31				24	33 ind***	«
<b>BBI Diagnostic:</b>										
931	15	33	15	28		35		15	35	ASTPHLD/CDC
939	14	103	16	103	103	103	103	14	103	ASTPHLD/CDC
949	6	20	18	18				9	20 ind***	ASTPHLD/CDC
930	0	7	0	7			10	0	10 ind***	ASTPHLD/CDC
916	9	30	15	30	30	30	35	15	30	ASTPHLD/CDC
941	9	18	9	18		21		9	25 ind***	ASTPHLD/CDC
940	0	11	0	11		22		0	29	ASTPHLD/CDC
947	0	9	9	9		9		0	20 ind***	ASTPHLD/CDC
934	0	7	0	0				0	11 ind***	ASTPHLD/CDC
951	8	19	8	15				8	No band****	ASTPHLD/CDC

Примечание. \* - данные паспорта панелей; \*\* - данные исследований НПО "Диагностические системы";

\*\*\* - ind - неопределенный результат; \*\*\*\* - No band - отрицательный результат.



**Рис. 1.** Сроки выявления маркеров ВИЧ-инфекции разными тестами при исследовании 15 сероконверсионных панелей (n - 167). По оси абсцисс - суммарное время (в сутках) с момента выявления 1-го позитивного образца.

В ряде работ показано, что антитела к gp41 содержатся во всех позитивных образцах и теоретически реактивность с одним этим белком может служить критерием позитивности образца [2, 15].

Полученные нами данные при тестировании образцов сероконверсионных панелей четко показывают, что вначале сероконверсии первыми появляются антитела к поверхностному гликопротеину gp41. Это согласуется с данными М. Ravanshad и соавт. [15], D. Burke и соавт. [2] и ряда других исследователей. Антитела к антигену p24 начинают выявляться после снижения концентрации антигена. Выявление антител к вирусным белкам при тестировании образцов сероконверсионных панелей в тесте "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" в сумме отстает по времени от детекции вирусной РНК на 9,4 дня, а от выявления антигена p24 - на 7,2 дня (см. рис.1). Возможность более раннего выявления анти-ВИЧ по сравнению с тестами на основе ИБ объясняется тем, что при дизайне тест-системы

"ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" были использованы специально сконструированные рекомбинантные антигены, содержащие диагностически значимые участки белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Многочисленные исследования показали, что при использовании ИБ на основе рекомбинантных антигенов повышается чувствительность тестов, существенным образом снижается количество "неопределенных" результатов при тестировании как доноров, так и инфицированных пациентов, появляется возможность дифференциальной диагностики (инфекций) ВИЧ-1 и ВИЧ-2 [4, 8, 9, 12, 14, 19].

Таким образом, полученные результаты показывают, что использование тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР" позволяет своевременно подтверждать результаты, полученные при использовании высокочувствительных скрининговых тест-систем, предназначенных для одновременного выявления антител к белкам вируса ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также вирусного антигена p24.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баранова Е. И., Шарипова К. Н., Кудрявцева Е. Н. и др. Разработка и оценка нового теста для верификации исследований на маркеры ВИЧ-инфекции // *Клин. лаб. диагн.* - 2008. - № 3. - С. 40-41.
2. Burke D. S., Brandt B. L., Redfield R. R. et al. Diagnosis of human immunodeficiency virus infection by immunoassay using a molecularly cloned and expressed virus envelope polypeptide. Comparison to Western blot on 2707 consecutive serum samples // *Ann. Intern. Med.* - 1987. - Vol. 106. N 5. - P. 671-676.
3. Bush M. P., Lee L. L., Satten G. A. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors // *Transfusion.* - 1995. - Vol. 35. - P. 91-97.
4. Bush M. P., Kleinman S. H., Williams A. E. Frequency of human immunodeficiency virus (HIV) infection among contemporary Anti-HIV-1 and anti-HIV-1/2 supplemental test-indeterminate blood donors // *Transfusion.* - 1996. - Vol. 36. - P. 37-44.
5. Carlson J. R., Bryant M. D., Hinrichs S. H. et al. AIDS serology testing in low-and high-risk groups // *J. A. M. A.* - 1985. - Vol. 259. - P. 2574-2579.
6. Centers for disease control interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection // *Morbidity and Mortality Weekly Report.* - 1989. - Vol. 38. - P. 1-7.
7. Dobec M., Naegeli A., Furrer K., Kaeppli F. Is Western blot alone sufficient to confirm a reactive result of a fourth-generation HIV screening assay? // *Swiss. Med. Wkly.* - 2006. - Vol. 136. - P. 672-673.
8. Jackson J. B., Hanson M. R., Johnson G. M. Long-term follow up of blood donors with Indeterminate Human Immunodeficiency virus type 1 results on Western blot // *Transfusion.* - 1995. - Vol. 35. - P. 98-102.
9. Kline R. L., McNair D., Holodilny M. Evaluation of chiron HIV-1/HIV-2 recombinant immunoblot assay // *J. Clin. Micro-bio.* - 1996. - Vol. 34. - P. 2650-2653.
10. Lee J. H. Follow-up investigation of indeterminate Western blot results for antibody to human immunodeficiency virus type // *J. Formos.*

Med. Assoc. - 1994. - Vol. 93. - P. 283-288.

11. MacDonald K. L., Jakson J. B., Bowman R. J. et al. Performance characteristics of serological tests of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) antibody among Minnesota blood donors // Ann. Intern. Med. - 1989. - Vol. 110. - P. 617-621.

12. Mas A., Soriano V., Gutierrez, M. et al. Reliability of a new recombinant immunoblot assay (RIBA HIV-1/HIV-2 SIA) as a supplemental (confirmatory) test for HIV-1 and HIV-2 infections // Transfus. Sci. - 1997. - Vol. 18, N 1. - P. 63-69.

13. Meles H., Wolday D., Fontanet A. et al. Indeterminate human immunodeficiency virus Western blot profiles in Ethiopians with discordant screening assay results // Clin. Diagn. Lab. Immunol. - 2002. - Vol. 9. - P. 160-163.

14. Pallet D. E., Saman E. L., Peelers D. C. et al. Confirmation and differentiation of antibodies to human immunodeficiency virus 1 and 2 with a strip-based assay including recombinant antigens and synthetic peptides // Clin. Chem. - 1991. - Vol. 37, N 10. - P. 1700-1707.

15. Ravanshad M., Sabahi F., Mahboudi F. et

al. An accurate confirmation of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and 2 (HIV-2) infections with a dot blot assay using recombinant p24, gp41, gp120 and gp36 antigens // Int. J. Med. Sci. - 2004. - Vol. 1. - P. 193-200.

16. Shwartz J. S., Dans P. E., Kinoshian B. P. Human immunodeficiency virus test evaluation, performance, and use // J. A. M. A. - 1988. - Vol. 259. - P. 2574-2579.

17. Rich J. D., Dickinson B. P., Spaulding A. et al. Interpretation of indeterminate HIV serology results in an incarcerated population // J. Acquire Immune Defic. Svndr. - 1998. - Vol. 17. - P. 376-379.

18. Van Doornum G. J. J., Buimer M., Gabbers E. et al. Evaluation of an expanded Two-ELISA Approach for confirmation of reactive serum samples in an HIV-screening programme for pregnant women // J. Med. Virol. - 1998. - Vol. 54. - P. 285-290.

19. Zaaier H. L., van Rixel T., Kromosoeto J. N. R. et al. Validation of immunoblot assay (LiaTec HIV 3) for confirmation of human immunodeficiency virus infection // Transfusion. - 1998. - Vol. 38. - P. 776-781.

**ВНИМАНИЕ: НОВИНКИ!**

## новый формат наборов

### НАБОРЫ НА 480 ОПРЕДЕЛЕНИЙ

специально для крупных лабораторий  
скрининговые тест-системы в удобном формате

### ПРЕИМУЩЕСТВА

Стоимость одного анализа ниже, чем при  
использовании 1- и 2-плащечных наборов

Могут использоваться как для ручной  
постановки, так и для автоматических анализаторов

НАИМЕНОВАНИЕ	кат. №
ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН	I-1656
ДС-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ	I-2655
ДС-ИФА-АНТИ-ВИЧ-УНИФ	I-155
ДС-ИФА-НВsAg В	В-1155
ДС-ИФА-НВsAg-0,01	В-1255
ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР GM	С-455
ИФА-АНТИ-НСV	С-155
ИФА-АНТИ-ЛЮИС-GM	L-156

НАЧАТ ВЫПУСК

НАЧАТ ВЫПУСК

НАЧАТ ВЫПУСК

## Изучение закономерностей иммунного ответа у детей при инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна-Барр.

ООО "НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород

И.В. Астраханцева,  
М.В. Кувшинов,  
В.В. Краснов,  
Т.И. Уланова,  
А.П. Обрядина

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большую актуальность приобрели проблемы персистирующих инфекций, в частности, обусловленных вирусом Эпштейна-Барр, относящимся к семейству герпесвирусов 4 типа. После попадания в организм вирусная ДНК может встраиваться в геном В-лимфоцитов и реплицироваться вместе с ДНК клетки-хозяина, что является причиной латентной инфекции, которая длится пожизненно. По современным оценкам инфицированность населения ВЭБ очень высока и приближается к 99%.

Обычно первичное инфицирование ВЭБ происходит в возрасте до 5 лет и, в большинстве случаев, протекает бессимптомно, либо под маской ОРВИ. При инфицировании в более старшем возрасте может развиваться клиническая картина инфекционного мононуклеоза. У иммунокомпетентных лиц вирус сохраняется в организме в латентной форме, у иммунокомпрометированных возможно развитие хронического мононуклеоза, увеита, гепатита, тяжелых лимфопролиферативных заболеваний. Вследствие иммуносупрессии различного происхож-

дения может происходить реактивация латентной инфекции.

Внутриутробное инфицирование ВЭБ приводит к развитию у новорожденных некротического гепатита, менингоэнцефалита, пневмонии, тяжелых пороков развития; при этом смертность может достигать 30%.

Особенностью гуморального иммунного ответа на ВЭБ-инфекцию является дифференцированный по времени синтез специфических иммуноглобулинов к различным вирусным белкам: вирусному капсидному антигену (VCA), раннему антигену (EA), нуклеарному (ядерному) антигену (NA). Следовательно, информативность и эффективность диагностики повышается при одновременном определении антител ко всем вирусным белкам, что позволяет не только выявить присутствие возбудителя, но и дифференцировать стадию ВЭБ-инфекции.

Целью настоящей работы было изучение закономерности развития иммунного ответа на ВЭБ-инфекцию в зависимости от возраста пациента.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были исследованы образцы сывороток крови детей в возрасте от 5 дней до 17 лет (N=411), доноров (N=503) и рожениц (N=49). Детский контингент разделили на возрастные группы: от 0 до 3 месяцев (N=102); от 4 месяцев до 1 года (N=36); от 1 года до 2 лет (N=60); от 3 до 4 лет (N=51); от 5 до 9 лет (N=68); от 10 до 13 лет (N=38); от 14 до 17 лет (N=56).

Определяли наличие следующих маркеров ВЭБ-инфекции: анти-VCA-IgM, анти-VCA-IgG, анти-EA-IgG, анти-NA-IgG. Сыворотки, содержащие анти-VCA-IgG, были дополнительно исследованы на определение авидности специфических антител. В исследовании использованы коммерческие иммуноферментные тест-системы производства ООО "НПО "Диагностические системы" (Н.Новгород).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценили инфицированность различных групп населения ВЭБ, для чего определяли антитела к капсидному и нуклеарному антигенам, поскольку эти маркеры характеризуются пожизненной персистенцией в организме.

Максимальная доля лиц, положительных на анти-VCA-IgG, выявлена среди доноров, а также среди подростков старше 14 лет, что является подтверждением известного факта тотального инфицирования ВЭБ взрослого населения. В то же время максимум положительных результатов на анти-NA-IgG отмечен среди детей в возрасте от 1 года до 4 лет. Следовательно, можно

сделать вывод, что уже к 3-летнему возрасту около 98% детей имеют собственные антитела к ВЭБ, то есть инфицированы этим вирусом.

У детей в возрасте до 3 месяцев уровень распространенности обоих маркеров практически не отличается ( $p > 0,05$ ) и является отражением материнского иммунитета. При сравнении антительного профиля у детей в возрасте до 3 месяцев и рожениц получили следующие результаты: анти-VCA-IgG, анти-EA-IgG, анти-NA-IgG детектируются у детей достоверно реже, чем у рожениц, а частота встречаемости низкоавидных анти-VCA-IgG у детей достоверно выше.

Статья  
опубликована  
в журнале  
"Поликлиника"  
№ 6- 2008,  
С. 24



Снижение частоты встречаемости уровня IgG свидетельствует о постепенной элиминации материнских антител из организма ребенка. Однако наличие у многих детей низкоавидных антител, являющихся маркером первичной инфекции, причем достоверно чаще, чем у рожениц, позволяет предположить, что в некоторых случаях IgG могут вырабатываться с рождением ребенка в ответ на инфицирование ВЭБ.

Результаты настоящего исследования показали, что к трем годам жизни уровень инфицированности ВЭБ достоверно не отличается от уровня взрослых доноров и составляет более 95%. При этом около 40% детей инфицируется в течение первого года жизни. Также имеет место тенденция к увеличению частоты первичного ин-

Кроме того, можно выделить еще один пик первичной ВЭБ-инфекции у детей пубертатного возраста (13,2%).

Не было выявлено значимой связи между частотой встречаемости анти-VCA-IgM и частотой первичного инфицирования ВЭБ во всех возрастных группах, т.е. подтверждены данные, что анти-VCA-IgM не являются достоверным маркером первичной инфекции.

фицирования у детей пубертатного возраста. Анти-VCA-IgM не являются достоверным маркером первичной инфекции. Для достоверной диагностики стадии ВЭБ-инфекции недостаточно определения какого-либо одного маркера, необходимо комплексное определение серологического профиля.

## ВЫВОДЫ

1. Вирус Эпштейна-Барр и серодиагностика связанных с ним заболеваний//Информационный бюллетень *Новости Вектор-Бест*, 2000. №4 (18). С. 1-5.

2. Заболоцкая С.Г., Шевченко Н.М., Ольховский И.А. Лабораторная диагностика инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр//*Бюллетень лабораторной службы*, 2002. №10. С. 10-15.

3. Матвиенко Н.А. Внутриутробная инфекция и иммунитет//<http://www.gabr.org/article/article30.htm>

4. Bauer G. Simplicity through complexity: Immunoblot with recombinant antigen as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology//*Clin. Lab.*, 2001. Vol. 5-6. P. 223-230.

5. Chan K.H., Luo R.X., Cen H.L., NG M.N., Seto W.H. and Peiris S.M. Development and evaluation of an Epstein-Barr virus (EBV) immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assay based on the 18-Kilodalton matrix protein for diagnosis of primary EBV infection//*Journal of Clinical Microbiology*, 1998. Vol. 36 (11). P. 3359-3361.

6. Chan K.H., NG M.N., Seto W.H. and Peiris J.S. Epstein-Barr virus (EBV) DNA in sera of patient with primary EBV infection// *Journal of Clinical Microbiology*, 2001. Vol. 39 (11). P. 4152-4154.

7. Figueira-Silva C.M. and Pereira F.E.L. Prevalence of Epstein-Barr virus antibodies in healthy children and adolescent in Vitoria, state of Espirito Santo, Brazil//*Revista da sociedade brasileira de medicina tropical*, 2004. Vol. 37 (5). P. 409-412.

8. Hess D.R. Routine Epstein-Barr diagnostics

from the laboratory perspective: still challenging after 35 years// *Journal of Clinical Microbiology*, 2004. Vol 42 (8). P. 3381-3387.

9. Myrhr K.M., Riise T., Barret-Connor E., Myrmet H., Vedeler C., Cronning M., Kalvenes M.B., Nyland H. Altered antibody pattern to Epstein-Barr virus but not to other herpesviruses in multiple sclerosis: a population based case-control study from western Norway// *Journal Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1998. Vol. 64. P. 539-542.

10. Pancharoen C., Mekmullica J., Chinratanaipit S., Bhattarakosol P., Thisyakorn U. Seroprevalence of Epstein-Barr virus antibody among children in various age groups in Bangkok, Thailand//*Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2001. Vol. 19 (2). P. 135-137.

11. Pariente M, Bartolom J, Lorente S. Age distribution of serological profiles of Epstein-Barr virus infection: review of results from a diagnostic laboratory// *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 2007. Vol. 25 (2). P. 108-110.

12. Robertson P., Beynon S., Whybin R., Brennan C., Vollmer-Conna U., Hickie I., Lloyd A//Measurement of EBV-IgG anti-VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection, 2003. Vol. 70 (4). P. 617-623.

13. Schaade L., Kleines M. and Hausler M. // *Journal of Clinical Microbiology*, 2001. Vol. 39 (11). P. 3902-3905.

14. Votava M., Bartosova D., Krchnakova A., Crhova K., Kubinova L. Diagnostic importance of heterophile antibodies and immunoglobulins IgA, IgE, IgM and low-avidity IgG against Epstein-Barr virus capsid antigen in children//*Acta virologica*, 1996. Vol. 40. P. 99-101.

## ЛИТЕРАТУРА



## Новые тест-системы для определения гормонального статуса.

ООО "НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород.

Е.М.Матвеева  
В.К.Пименов

Содержание гормонов, их соотношение наиболее достоверно отражают многие физиологические и патологические процессы в организме. Гормональный статус позволяет провести диагностику заболеваний эндокринной системы, используется в диагностике причин бесплодия, ожирения и многих других заболеваний.

В настоящее время заболевания щитовидной железы являются одними из самых распространенных в мире. Наибольшее значение для развития патологии щитовидной железы имеет дефицит йода в окружающей среде, т.к. именно неорганический йод необходим для образования тиреоидных гормонов: трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4). В эндемичных по зубу местностях заболевания щитовидной железы встречаются у 38,9% взрослых и 53,3% детей. Учитывая, что большую часть территории России составляют районы с природной йодной недостаточностью, можно делать выводы о реальной значимости проблемы.

Интенсивность выработки тиреоидных гормонов регулируется тиреотропным гормоном гипофиза (ТТГ) по принципу обратной связи: чем выше уровень Т3 и Т4, тем меньше выделяется ТТГ, и наоборот - чем слабее работает железа, тем выше уровень ТТГ. У некоторых пациентов могут выявляться нарушения функции щитовидной железы в результате аутоиммунной патологии. В этом случае в организме человека происходит сбой, и он начинает воспринимать свою щитовидную железу как "чужую". В результате в крови человека появляются так называемые "аутоантитела". Опухоли щитовидной железы также приводят к изменению ее активности.

Начальные проявления любых заболеваний щитовидной железы могут быть очень слабыми и незаметными. Поэтому актуальными являются лабораторные методы диагностики гормонального статуса.

Общеизвестно, что основной причиной бесплодия являются дисфункции и нарушения эндокринной системы. Определяющее значение в выделении типа бесплодия при эндокринных

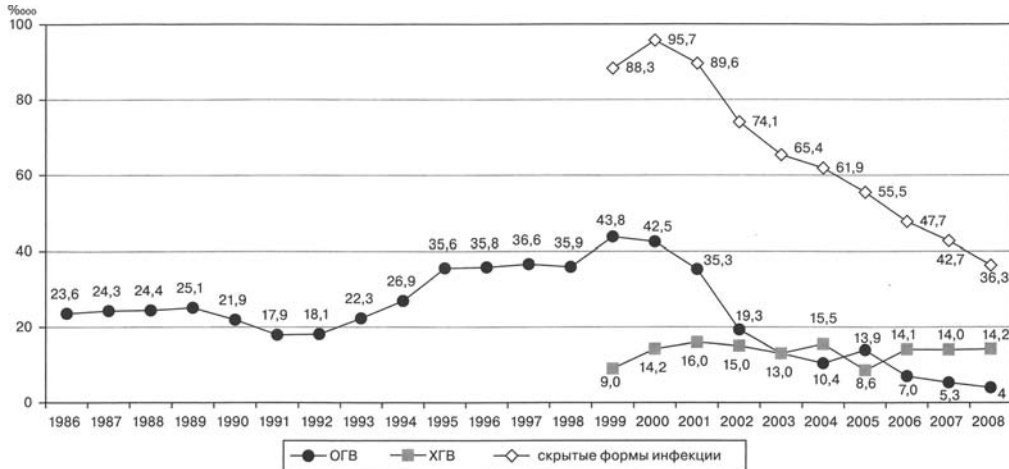
нарушениях имеет гормональное исследование пациентки. Концентрацию гормонов в крови больной бесплодием исследуют на 5-7 день менструального цикла или на фоне аменореи в любой день. Для назначения лечения важно знать, является бесплодие следствием гипоталамо-гипофизарной недостаточности, гипоталамо-гипофизарной дисфункции, яичниковой недостаточности, дисфункции коры надпочечников либо гипотиреоза. Поэтому необходимо комплексное определение гормонального статуса пациентки. Необходимо исследование по определению уровня гонадотропинов гипофиза - лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина; стероидов - прогестерона, эстрадиола, тестостерона и кортизола; гормонов, характеризующих функцию щитовидной железы.

В ООО "НПО "Диагностические системы" разработан полный спектр тест-систем для диагностики функции щитовидной железы: для определения уровня ТТГ, свободного и общего Т4, свободного и общего Т3, тиреоглобулина (Тг), аутоантител к тиреоидной пероксидазе (ТПО) и аутоантител к Тг. Для диагностики уровня гонадотропинов гипофиза разработаны тест-системы для определения концентрации ЛГ, ФСГ и пролактина. Для ранней диагностики беременности, мониторинга течения беременности разработана тест-система по определению уровня гормона, секретируемого трофобластическими клетками плаценты - хорионического гонадотропина (ХГч). Кроме того, ХГч является лабораторным диагностическим маркером трофобластических опухолей и хорошо отражает эффективность проводимой противоопухолевой терапии.

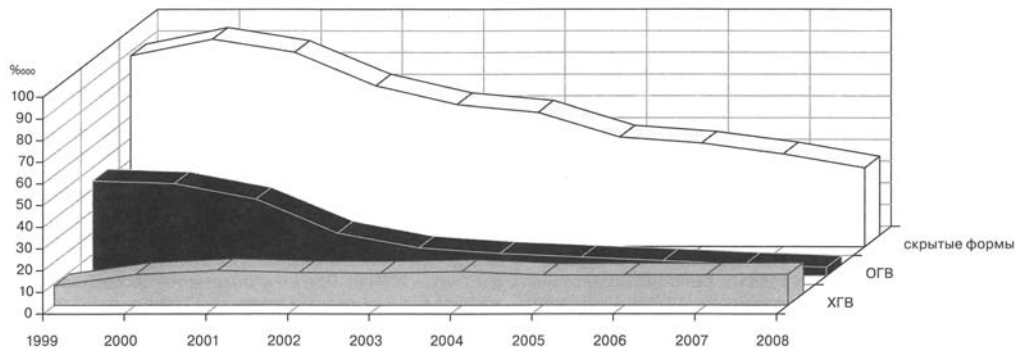
Разработанные тест-системы являются наборами реагентов для проведения иммуноферментного анализа в планшетном формате. Наборы содержат 96-луночные планшеты с разделяемыми лунками. Все компоненты представлены в жидком виде, готовые для использования. Наборы просты в постановке и могут использоваться в лабораторной практике любого лечебного учреждения.

**Общий раздел  
(социальная информация, статистика, эпидемиология)**

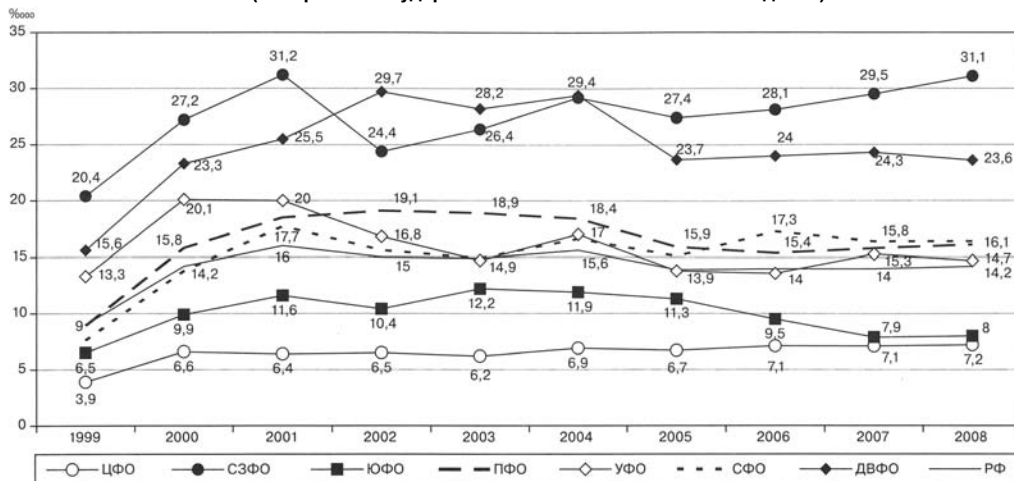
**ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМ, ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В И СКРЫТЫМИ ФОРМАМИ ЭТОЙ ИНФЕКЦИИ В РФ В 1986-2008 гг. \***



**ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМ, ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В И СКРЫТЫМИ ФОРМАМИ ЭТОЙ ИНФЕКЦИИ (HBs-антигеномия) В РФ В 1999-2008 гг.**



**ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В В РОССИИ И ЕЕ ОТДЕЛЬНЫХ ОКРУГАХ В 1999-2008 гг.  
(материалы Государственного статистического наблюдения)**



\* Использованы материалы справочника «Вирусные гепатиты в Российской Федерации 2009», С. 18-19.

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
Федеральный центр гигиены и эпидемиологии

Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях\*  
(за январь—октябрь 2009 г., Российская Федерация)

Наименование заболеваний	январь—октябрь 2009								январь—октябрь 2008				рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Брюшной тиф	36	0,03	5	0,02	3	0,01	57	0,04	7	0,03	4	0,02				-36.7%	-2 сл.
Другие сальмонеллезные инфекции	44052	31,00	21292	79,71	20245	97,09	44120	30,96	21104	76,81	19992	94,92	0.1%	3.8%	2.3%		
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	15301	10,77	8271	30,96	7737	37,10	21886	15,36	12498	45,49	11644	55,28	-29.9%	-31.9%	-32.9%		
Другие острые кишечные инфекции, вызванные установленными бактериальными, вирусными возбудителями, а также пищевые токсикоинфекции установленной этиологии	173410	122,0	141070	528,1	138590	664,6	158303	111,1	125808	457,9	123215	585,0	9.8%	15.3%	13.6%		
Острые кишечные инфекции, вызванные неустановленными инфекционными возбудителями, пищевые токсикоинфекции неустановленной этиологии	416890	293,3	260163	974,0	248295	1190,7	408093	286,4	248090	902,9	235161	1116,5	2.4%	7.9%	6.6%		
Острый паралитический полиомиелит	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	0,00	3	0,01	3	0,01	-3 сл.	-3 сл.	-3 сл.		
из него ассоциированный с вакциной	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,00	2	0,01	2	0,01	-2 сл.	-2 сл.	-2 сл.		
Острые вялые параличи	212	0,15	212	0,79	212	1,02	211	0,15	211	0,77	211	1,00	1 сл.	1 сл.	1 сл.		
Энтеровирусные инфекции	6110	4,30	5294	19,82	4935	23,67	4699	3,30	3974	14,46	3633	17,25	30.4%	37.0%	37.2%		
из них энтеровирусный менингит	3892	2,74	3422	12,81	3144	15,08	2554	1,79	2337	8,51	2151	10,21	1.5 раз	50.6%	47.6%		
Острые вирусные гепатиты, всего	15883	11,18	4666	17,47	3793	18,19	18587	13,04	4959	18,05	4053	19,24	-14.3%	-3.2%	-5.5%		
из них: острый гепатит А	8762	6,17	4234	15,85	3485	16,71	9008	6,32	4393	15,99	3680	17,47	-2.5%	-0.9%	-4.3%		
острый гепатит В	3219	2,27	71	0,27	49	0,23	4889	3,43	111	0,40	55	0,26	-34.0%	-34.2%	-6 сл.		
острый гепатит С	2748	1,93	154	0,58	98	0,47	3398	2,38	174	0,63	87	0,41	-18.9%	-9.0%	13.8%		
Хронические вирусные гепатиты (впервые установленные), всего	67846	47,74	949	3,55	494	2,37											
из них: хронический вирусный гепатит В	17258	12,14	269	1,01	135	0,65											
хронический вирусный гепатит С	49074	34,53	639	2,39	334	1,60											
Носительство возбудителя вирусного гепатита В	37777	26,58	649	2,43	399	1,91											
Дифтерия	14	0,01	2	0,01	2	0,01	44	0,03	12	0,04	9	0,04	-3.1 раз	-5.8 раз	-7 сл.		
Коклюш	3173	2,23	3084	11,55	2982	14,30	2624	1,84	2531	9,21	2438	11,58	21.2%	25.3 %	23.5%		
Корь	98	0,07	26	0,10	26	0,12	26	0,02	7	0,03	4	0,02	3.8 раз	3.8 раз	6.6 раз		
Краснуха	1484	1,04	1147	4,29	1098	5,27	9194	6,45	6535	23,78	5521	26,21	-6.2 раз	-5.5 раз	-5.0 раз		
Паротит эпидемический	796	0,56	441	1,65	379	1,82	1372	0,96	701	2,55	607	2,88	-41.8%	-35.3%	-36.9%		
Менингококковая инфекция	1718	1,21	1278	4,78	1188	5,70	2007	1,41	1397	5,08	1315	6,24	-14.2%	-5.9%	-8.7%		
в том числе генерализованные формы	1507	1,06	1165	4,36	1100	5,28	1763	1,24	1268	4,61	1205	5,72	-14.3%	-5.5%	-7.8%		

Наименование заболеваний	январь—октябрь 2009								январь—октябрь 2008				рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Туляремия	54	0,04	13	0,05	10	0,05	86	0,06	14	0,05	12	0,06				-37.0%	-1 сл.
Сибирская язва	0	0,00	0	0,00	0	0,00	23	0,02	1	0,00	1	0,00	-23 сл.	-1 сл.	-1 сл.		
Бруцеллез, впервые выявленный	338	0,24	29	0,11	22	0,11	356	0,25	43	0,16	32	0,15	-4.8%	-30.6%	-30.6%		
Геморрагические лихорадки	7445	5,24	300	1,12	129	0,62	6252	4,39	291	1,06	126	0,60	19.4%	9 сл.	3 сл.		
из них с почечным синдромом	7320	5,15	292	1,09	127	0,61	6032	4,23	283	1,03	120	0,57	21.7%	9 сл.	7 сл.		
Клещевой вирусный энцефалит	3632	2,56	520	1,95	419	2,01	2776	1,95	430	1,56	325	1,54	31.2%	24.4%	30.2%		
Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма)	9041	6,36	902	3,38	807	3,87	7237	5,08	729	2,65	631	3,00	25.3%	27.3%	29.2%		
Псевдотуберкулез	2084	1,47	1552	5,81	1430	6,86	3299	2,32	2541	9,25	2324	11,03	-36.7%	-37.2%	-37.8%		
Лептоспироз	411	0,29	30	0,11	18	0,09	516	0,36	40	0,15	24	0,11	-20.1%	-22.9%	-6 сл.		
Бешенство	8	0,01	0	0,00	0	0,00	13	0,01	3	0,01	1	0,00	-5 сл.	-3 сл.	-1 сл.		
Риккетсиозы	2034	1,43	485	1,82	442	2,12	2003	1,41	596	2,17	545	2,59	1.8%	-16.3%	-18.1%		
из них: эпидемический сыпной тиф	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	-	-	-		
болезнь Брилля	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,00	0	0,00	0	0,00	-2 сл.	-	-		
лихорадка Ку	119	0,08	7	0,03	2	0,01	12	0,01	0	0,00	0	0,00	9.9 раз	7 сл.	2 сл.		
Педикулез	238582	167,9	63410	237,4	58026	278,3	235614	165,4	66155	240,8	59396	282,0	1.5%	-1.4%	-1.3%		
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	85090	59,87	3828	14,33	2412	11,57	86151	60,46	3859	14,04	2410	11,44	-1.0%	2.0%	2 сл.		
в том числе туберкулез органов дыхания	82079	57,76	3416	12,79	2076	9,96	83020	58,26	3380	12,30	1994	9,47	-0.9%	4.0%	5.2%		
из них бациллярные формы	33763	23,76	400	1,50	94	0,45	33691	23,64	358	1,30	88	0,42	0.5%	14.9%	6 сл.		
Сифилис (впервые выявленный) все формы	61133	43,02	2089	7,82	640	3,07	68090	47,79	2247	8,18	575	2,73	-10.0%	-4.4%	12.4%		
Гонококковая инфекция	56142	39,50	1621	6,07	189	0,91	65826	46,20	2128	7,74	230	1,09	-14.5%	-21.6%	-17.0%		
Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека	11409	8,03	303	1,13	258	1,24	10139	7,12	269	0,98	220	1,04	12.8%	15.9%	18.5%		
Бессимптомный инфекционный статус, вызванный вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)	28453	20,02	562	2,10	323	1,55	27318	19,17	560	2,04	331	1,57	4.4%	2 сл.	-8 сл.		
Острые инфекции верхних дыхательных путей множественной или неуточненной локализации	23438403	16492,6	16015252	59956,0	14400753	69059,5	22676880	15915,0	14886590	54178,9	13372799	63490,8	3.6%	10.7%	8.8%		
Грипп	296426	208,6	131618	492,7	112237	538,2	318204	223,3	123054	447,8	105629	501,0	-6.6%	10.0%	7.4%		
Малярия (впервые выявленная)	92	0,06	11	0,04	10	0,05	82	0,06	7	0,03	7	0,03	12.5 %	4 сл.	3 сл.		
Трихинеллез	140	0,10	31	0,12	23	0,11	280	0,20	58	0,21	33	0,16	-2.0 раз	-45.0%	-29.6%		
Поствакцинальные осложнения	636	0,45	552	2,07	551	2,64	465	0,33	397	1,44	396	1,88	37.1 %	43.0%	40.5%		

\* Используются материалы ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора/ <http://www.fcgsen.ru>

# Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний

## Герпесвирусные инфекции

### Инфекции, вызываемые вирусом простого герпеса 1, 2 типа

#### 1/434 Непрямой путь передачи ВПГ-инфекции от матери к ребенку: лечение и профилактика.

Mother-infant and indirect transmission of HSV infection: treatment and prevention.

A. Henrot

Ann Dermatol Venereol., 2002;129(4Pt 2):533-549

PMID: 12122323

Герпес новорожденных - одна из самых серьезных проблем. Данный обзор литературы посвящен: 1) установлению не прямых путей передачи ВПГ-инфекции от матери ребенку; 2) определению тактики лечения и перспектив на будущее.

**Методы.** Для поиска в базе данных статей, опубликованных в период с 1980 г., авторы использовали ряд ключевых терминов. Статьи были классифицированы на 3 категории в соответствии с уровнем научных доказательств: хороший (уровень 1), удовлетворительный (уровень 2), плохой (уровень 3, 4 или 5). Общие обзоры были исключены.

**Результаты.** Авторы нашли 153 статьи, из которых отобрали 96. Было выявлено, что в случаях передачи инфекции от мужчины к женщине 10% пар являлись дискордантными. Наличие антител к ВПГ-1 частично защищает от ВПГ-2-инфекции. Новорожденные могут быть инфицированы внутриутробно (трансплацентарный (гематогенный) путь передачи), интранатально (во время родов - наиболее частая причина заражения) или в послеродовой период (непрямой путь передачи инфекции). Риск инфицирования плода наиболее высок при наличии первичной инфекции (ПИ) или непервичной инфекции в последний месяц беременности (50%), но при рецидиве инфекции в период недели до родов вероятность инфицирования плода низкая (5%). Кесарево сечение является обязательным в случае первичной генитальной инфекции или непервичной инфекции в течение последнего месяца беременности, особенно в случае преждевременного разрыва околоплодных оболочек (безводный промежуток менее 6 часов), но не защищает новорожденных в 2/3 случаев. В случаях рецидива инфекции вопрос о кесаревом сечении является спорным. Противовирусная терапия ацикловиром (АЦВ) обычно хорошо переносится. Терапия АЦВ в сочетании с кесаревым сечением обеспечивает максимальную защиту новорожденного. Новорожденные с диагностированной или подозреваемой ВПГ-инфекцией должны быть изолированы от других новорожденных, но не от матери. Грудное вскармливание не рекомендуется при наличии герпетических пузырьков или эрозий на молочных железах. Парентеральное введение ацикловира в дозировке 60г/кг/в день предпочтительнее, чем введение видарабина. Лечение следует начинать сразу после первого подтверждения вирусной инфекции. Риск рецидива составляет 0,07% для всех новорожденных; препарат ока-

зывает эффект при пероральном приеме в высоких дозах (90-100 мкг/кг/в день) из-за низкой биодоступности, если отмечено более 3 рецидивов в течение 6 месяцев. Противовирусная терапия показана в случаях, если: 1) новорожденные ВПГ-позитивны в 1 и 3 день, 2) клинические проявления характерны для герпеса, 3) имеются неврологические расстройства или признаки сепсиса при отрицательных результатах бактериологического анализа, при наличии в анамнезе матери герпетической инфекции или контакта с партнером, страдающим лабиальным герпесом; тактика лечения может обсуждаться, если: 4) ПИ диагностирована во время родов или в течение последнего месяца беременности (независимо от пути передачи инфекции; даже если женщина получала противовирусную терапию или отсутствовало повреждение околоплодных оболочек), 5) позднее кесарево сечение (безводный промежуток при разрыве оболочек более 4 часов) при наличии клинических проявлений герпеса во время родов, 6) вагинальные роды при наличии рецидивов герпетической инфекции на последнем месяце беременности, ассоциированной с клиническими факторами риска.

**Заключение.** Для разработки оптимальной стратегии лечения пар мать-ребенок при выявлении герпетической инфекции у женщины в период беременности или во время родов еще многое предстоит уточнить. Новые перспективы в диагностике и профилактике неонатальной герпетической инфекции включают: диагностику бессимптомной первичной инфекции во время родов по выявлению антигена ВПГ-2 при помощи экспресс-тестов; выявление женщин с риском развития бессимптомной ВПГ-2 инфекции при помощи специфических серологических тестов во время проведения обследования беременных и их партнеров; применение противовирусной терапии у мужчин; лечение генитального герпеса с использованием препаратов для местного применения; вакцинацию женщин, подверженных высокому риску; использование моноклональных антител, новых антивирусных агентов с механизмами активации, не зависящими от вирусной тимидинкиназы.

#### 2/435 Лабиальный герпес у беременных женщин и дефекты нервной трубки.

Maternal herpes labialis in pregnancy and neural tube defects.

B. Norgard , M. Norgaard , A.E. Czeizel , E. Puho , H.T. Sorensen

Dev Med Child Neurol., 2006; 48(8):674-676

PMID: 16836780

Согласно данным ретроспективного анализа историй болезни, причиной некоторых врожденных аномалий (ВА) головного мозга плода (таких как микроцефалия) может быть внутриутробное инфицирование вирусом простого

герпеса (ВПГ). Проведено популяционное исследование методом "случай-контроль" с целью оценки риска развития дефектов нервной трубки (ДНТ) плода у женщин, перенесших лабиальный герпес во время беременности. Используются данные базы национального регистра Венгрии по контролю за врожденными аномалиями с 1980 по 1996 гг., включающие сведения о 1202 детях с ДНТ и 21641 ребенке с ВА, но без ДНТ. Скорректированный относительный риск (ОР) для развития ДНТ, ассоциированных с лабиальным герпесом у матери в первом триместре беременности, составил 1,16 (95%ДИ: 0,61-1,44), а на протяжении всего периода беременности - 0,94 (95%ДИ: 0,61-1,44). Лабиальный герпес у беременных не был ассоциирован с повышенным риском развития ДНТ плода.

### **3/436 Отсутствие связи между рецидивирующим генитальным герпесом у беременных женщин и повышенным риском развития врожденных пороков.**

No association between maternal recurrent genital herpes in pregnancy and higher risk for congenital abnormalities.

N. Acs , F. Banhidy , E. Puho, A.E. Czeizel  
Acta Obstet Gynecol Scand., 2008; 87(3):292-299  
PMID: 18307068

**Цель исследования.** Изучить, существует ли связь между обострениями рецидивирующего генитального герпеса (ГГ) в период беременности и риском развития врожденных пороков (ВП) у ребенка.

**Методы.** Изучали ожидаемую частоту и распространенность ВП у новорожденных детей, родившихся от матерей с зарегистрированными случаями рецидивов ГГ в период беременности; сравнивали данные о новорожденных с различными врожденными пороками развития с таковыми у здоровых младенцев из контрольной группы; использовали популяционные данные национального регистра Венгрии по контролю за врожденными аномалиями.

**Результаты.** Из 22843 новорожденных с наличием ВП 59 детей (0,26%) были рождены женщинами, имевшими рецидивы ГГ в период беременности, в то время как из 38151 здорового (без ВП) новорожденного из контрольной группы 86 детей (0,23%) были рождены женщинами, также имевшими в анамнезе рецидивы ГГ во время беременности (ОР 1,1, 95% ДИ: 0,8-1,6). Обострения рецидивирующего ГГ, зарегистрированные в первом триместре беременности, не были связаны с повышенным риском развития каких-либо ВП у детей.

**Выводы.** Рецидивы ГГ в период беременности не ассоциируются с повышенным риском развития ВП.

### **4/437 Гестационная гипертензия и преждевременные роды могут ассоциироваться с внутриутробной герпесвирусной инфекцией в европеоидной популяции.**

Fetal exposure to herpesviruses may be associated with pregnancy-induced hypertensive disorders and preterm birth in a Caucasian population.

C.S. Gibson , P.N. Goldwater , A.H. MacLennan , E.A. Haan , K. Priest , G.A. Dekker  
BJOG., 2008;115(4):492- 500  
PMID: 18271886

**Цель исследования.** Изучить роль внутриутробной вирусной инфекции в развитии неблагоприятного течения и исходов беременности (НИБ), включающих гестационную (связанную с беременностью) гипертензию (ГГ), предродовое кровотечение (ПРК), низкую для гестационного возраста массу тела при рождении (НМТР) - менее 10-й перцентили и преждевременные роды (ПР).

**Дизайн.** Лабораторное исследование методом "случай-контроль".

**Методы.** В рамках исследования проведены скрининговые обследования 717 новорожденных, рожденных женщинами с осложненным течением беременности, и 609 новорожденных контрольной группы. РНК энтеровирусов и ДНК герпесвирусов в крови новорожденных определяли при помощи ПЦР. Герпесвирусы были детектированы при помощи двух ПЦР - тестов; один детектировал ДНК ВПГ-1, ВПГ-2, ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-8 (далее обозначенный как ПЦР-тест на вирусы группы А); другой детектировал ДНК VZV, ВГЧ-6, ВГЧ-7 (далее обозначенный как ПЦР-тест на герпес-вирусы группы Б). Вычисляли отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ) для определенных НИБ.

**Результаты.** Риск развития как ПР, так и ГГ увеличивался в присутствии ДНК герпесвирусов группы Б (ОШ 3,57, 95%ДИ:1,10-11,70), ЦМВ (ОШ 3,89; 95%ДИ:1,67-9,06) и других герпесвирусов (ОШ 5,7; 95%ДИ:1,85-17,57), других вирусов (ОШ 5,17; 95%ДИ:1,68-15,94). Риск развития ПР ассоциировался также с присутствием ЦМВ (ОШ 1,61; 95%ДИ: 1,14-2,27). Не выявлено достоверно значимой связи НМТР (или ПРК) с вирусной инфекцией.

**Заключение.** В настоящем исследовании было показано, что внутриутробные герпесвирусные инфекции могут быть причиной ГГ и ПР. ЦМВ-инфекция также может быть причиной ПР. Полученные результаты нуждаются в подтверждении в дальнейших исследованиях.

### **5/438 Противовирусная профилактика рецидивов генитального герпеса в третьем триместре беременности и развития неонатальной инфекции.**

Third trimester antiviral prophylaxis for preventing maternal genital herpes simplex virus (HSV) recurrences and neonatal infection.

L.M. Hollier , G.D. Wendel  
Cochrane Database Syst Rev., 2008 Jan 23;(1):  
CD 004946  
PMID: 18254066

Генитальный герпес (ГГ) - инфекция, вызываемая вирусом простого герпеса (ВПГ) - является одной из наиболее распространенных вирусных инфекций, передающихся половым путем. У большинства женщин возможна реактивация латентной герпетической инфекции в период беременности. Передача вируса от матери к плоду, как правило, происходит при непосредственном контакте с вирусом во время прохождения плода через родовые пути.

**Цель исследования.** Оценить эффективность пренатальной противовирусной профилактики рецидивов ГГ.

**Поиск стратегии.** Поиск проводили по Кокрановскому регистру контролируемых клинических испытаний группы по беременности и деторождению и регистру группы испытаний среди новорожденных (январь, 2007), Кокрановскому центральному регистру контролируемых клиниче-

Инфекции, вызываемые вирусом  
Эпштейна-Барр

ских испытаний (Кокрановская библиотека, выпуск 4, 2006), базам данных MEDLINE (январь 1966 - февраль 2007) и EMBASE (январь 1974 - февраль 2007), по материалам недавних публикаций в трудах конференций; авторы изучили также библиографические источники по теме исследования, связались с экспертами в данной области.

**Критерии отбора.** Рандомизированные контролируемые испытания, в которых оценивали эффективность противовирусных препаратов по сравнению с группой, получавшей плацебо (или группой беременных, которым лечение не проводилось).

**Сбор и анализ данных.** Авторы проводили оценку качества исследования и собирали данные независимо друг от друга.

**Основные результаты.** Проведено семь рандомизированных контролируемых исследований (1249 участников), отвечавших критериям отбора, в которых изучали клиническую эффективность профилактики ацикловиром по сравнению с плацебо или отсутствием лечения (5 исследований) и валацикловиром по сравнению с плацебо (2 исследования). Эффективность применения дородовой противовирусной профилактики для предотвращения неонатального герпеса оценить не удалось. Ни в одной группе (как среди получавших препараты, так и среди принимавших плацебо) не выявлено случаев неонатального герпеса. Было отмечено, что в группе женщин, получавших противовирусные препараты с профилактической целью, рецидивы генитального герпеса ко времени родов маловероятны (относительный риск (ОР) 0,28; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,18-0,43, I (2)=0%). Также маловероятно, что герпетическая инфекция будет являться показанием к проведению операции кесарева сечения в этой группе (ОР 0,30, 95% ДИ 0,2-0,45; I (2)=27,3%) и что ВПГ будет выделен у этих женщин во время родов (ОР 0,14; 95% ДИ 0,05-0,39, I (2)=0%).

**Выводы авторов.** Женщин с рецидивирующим ГГ необходимо информировать о том, что риск инфицирования плода невелик. Не было найдено достаточных доказательств того, что противовирусная профилактика снижает риск развития неонатального герпеса. Пренатальная противовирусная профилактика снижает вирусную нагрузку и вероятность реактивации инфекции при родах, а также снижает частоту операций кесарева сечения в связи с генитальным герпесом. Кроме того, недостаточно данных о безопасности профилактического применения противовирусных препаратов для плода. Риски, преимущества и альтернативные варианты пренатальной профилактики следует обсуждать с женщинами, имеющими в анамнезе ГГ, его профилактика должна проводиться по желанию женщины.

**6/439 Риск возникновения и маркеры синдрома хронической усталости после перенесенного инфекционного мононуклеоза у пациентов первичной медицинской сети.**

Risk and predictors of fatigue after infectious mononucleosis in a large primary-care cohort.

I. Petersen, J.M. Thomas, W.T. Hamilton, P.D. White

QJM., 2006, 99(1): 49-55

PMID: 16330509

Установлено, что синдром хронической усталости (СХУ), который расценивается как осложнение инфекционного мононуклеоза (ИМ), выявляется при тщательном опросе пациентов. Остается невыясненной клиническая значимость такой усталости, а также является ли ИМ специфическим фактором риска возникновения СХУ; может ли данный синдром являться следствием других часто встречающихся заболеваний. Установлены различные факторы риска развития постинфекционного СХУ, однако имеющиеся данные весьма противоречивы.

**Цель исследования.** Определить риск развития клинически выраженного СХУ (по сравнению с депрессией) после ИМ (по сравнению с гриппом и тонзиллитом) у пациентов первичной медицинской сети, а также выявить группы повышенного риска по развитию СХУ после перенесенного ИМ.

**Дизайн исследования.** Когортное исследование.

**Методы.** В генеральной базе данных клинических исследований Великобритании были отобраны 1438 человек с положительным тестом на гетерофильные антитела при ИМ. Для сравнения были подобраны 2 группы пациентов (однотипных по полу, возрасту и роду занятий): одна с клиническим диагнозом "грипп", другая - с диагнозом "тонзиллит".

**Результаты.** Показатели отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ) для СХУ после ИМ по сравнению с гриппом и тонзиллитом составили 4,4 (2,9-6,9) и 6,6 (4,2-10,4), соответственно. К популяциям риска возникновения СХУ после перенесенной инфекции были отнесены работники коммерческого секса и пациенты с преморбидными аффективными расстройствами (расстройствами поведения). Показатели ОШ для депрессии после ИМ по сравнению с гриппом и тонзиллитом составили 1,6 (0,9-2,6) и 2,3 (1,4-3,9), соответственно.

**Обсуждение.** Инфекционный мононуклеоз является специфическим и значимым фактором риска развития клинически подтвержденного СХУ, который отличается от депрессии и встречается чаще. Работники коммерческого секса и пациенты с преморбидными аффективными расстройствами (расстройствами поведения) отнесены к группам риска развития синдрома усталости. Результаты настоящего исследования могут быть использованы для разработки целевой программы профилактики и изучения этиологических механизмов возникновения данной патологии.



### 7/440 Когортное исследование среди студентов высших учебных заведений: выявление факторов риска сероконверсии к вирусу Эпштейна-Барр и развития инфекционного мононуклеоза.

A cohort study among university students: identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis.

D.H. Crawford , K.F. Macsween , C.D. Higgins , R. Thomas , K. McAulay , H. Williams , N. Harrison, S. Reid , M. Conacher , J. Douglas , A.J. Swerdlow  
Clin Infect Dis., 2006 1;43(3):276-282  
PMID: 16804839

Вакцина против вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) проходит клинические испытания. При разработке стратегии вакцинации необходимо учитывать новую информацию о факторах риска развития ВЭБ-инфекции и инфекционного мононуклеоза (ИМ) среди молодых людей.

**Методы.** Авторы провели проспективное когортное исследование среди студентов высших учебных заведений. Всем ВЭБ-серонегативным студентам было предложено сообщать о появлении симптомов ИМ и пройти повторное тестирование на ВЭБ спустя 3 года, а также заполнить анкету об образе жизни. Типирование штаммов ВЭБ проводили как среди студентов этой группы, так и среди ВЭБ-серопозитивных студентов на момент начала исследования (при поступлении в вуз), а также среди студентов с ИМ.

**Результаты.** В общей сложности 510 студентов (25%), принимавших участие в исследовании, оказались ВЭБ-серонегативными на момент поступления в университет; у 110 (46%) человек обнаружена сероконверсия в период учебы, 27 (25%) из них заболели ИМ. Незащищенные (без презерватива) проникающие сексуальные контакты являются фактором риска для ВЭБ-сероконверсии ( $p=0,004$ ), но ни использование презерватива, ни оральный секс существенно не изменили уровень сероконверсии. В ходе исследования установили, что штамм ВЭБ типа 1 (А) преобладал при ИМ, по сравнению с бессимптомной сероконверсией (бессимптомное вирусоносительство) ( $p=0,001$ ).

**Выводы.** Опасность инфицирования ВЭБ увеличивается при незащищенных проникающих сексуальных контактах, хотя передача может происходить и при "глубоком поцелуе". Авторы также обнаружили, что ВЭБ типа 1(А) повышает вероятность развития ИМ. В целом, результаты свидетельствуют о том, что высокая вирусная нагрузка ВЭБ типа 1(А), передаваемого при сексуальных контактах, может быстро колонизировать В-клеточную популяцию и вызвать усиленный ответ Т-клеток, и привести к развитию ИМ. Возможно, предотвратить развитие ИМ могло бы применение вакцины, что привело бы к снижению вирусной нагрузки, не обязательно вызывая стерильный иммунитет.

### 8/441 Рассеянный склероз связан с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна-Барр.

Multiple sclerosis is linked to Epstein-Barr virus infection.  
S. Haahr , P. Hollsberg  
Rev Med Virol., 2006;16(5):297-310  
PMID: 16927411

Этиология и патогенез рассеянного склероза (РС) окончательно не установлены, однако экологические факторы, генетическая восприимчивость и вероятностные

(стохастические) явления могут представлять научный интерес. Для того чтобы оценить возможную связь РС с ВЭБ-инфекцией, авторы данной работы изучали эпидемиологические данные о РС и ВЭБ-инфекции; провели проспективный и ретроспективный анализ результатов исследований на наличие специфических антител к ВЭБ, ДНК ВЭБ в сыворотке крови и биологических тканях, на наличие специфических олигоклональных полос у пациентов с РС, а также и анализ результатов противовирусной химиотерапии у больных с РС. Изучение эпидемиологии РС продемонстрировало, что ВЭБ может играть роль в этиологии РС, так как у всех пациентов с РС обнаружены специфические антитела к ВЭБ, в отличие от здоровых доноров. Важно отметить, что, несмотря на трудности диагностики РС у детей, подавляющее большинство этих пациентов также оказались серопозитивными к ВЭБ. В отличие от контрольных групп, первичная (недавняя) ВЭБ-инфекция никогда не наблюдается у детей или взрослых с РС. В последующих проспективных исследованиях была отмечена тенденция к росту заболеваемости РС после инфекционного мононуклеоза в 2,8 раза. У пациентов с РС независимые исследования выявили олигоклональные антитела с высоким сродством к антигенам ВЭБ. Тот факт, что человек является единственным резервуаром ВЭБ-инфекции, также может объяснить, почему РС уникален для человека. Совокупность этих наблюдений позволяет предположить наличие связи между РС и ВЭБ-инфекцией. Инфекция ВЭБ запускает множество механизмов, отвечающих за нарушение иммунной системы, в том числе индукцию суперантигенов (молекулярную мимикрию), которые потенциально могут принимать участие в патогенезе заболевания. В отличие от исследований, позволяющих определять содержание (высокие титры) IgG, обнаружение вирусной ДНК в сыворотке/плазме крови позволяет решить вопрос о причастности вируса к патологическому процессу в организме. Потенциальная роль респираторных вирусных инфекций в этиологии РС обсуждается. Кроме того, было высказано мнение, что для подтверждения гипотезы о взаимосвязи РС с ВЭБ необходима разработка и внедрение вакцины против ВЭБ, что в перспективе может привести к искоренению этого заболевания.

## Краснуха

**9/442 Сероэпидемиологический профиль беременных женщин после случайной вакцинации против краснухи в Рио-де-Жанейро, Бразилия, 2001-2002.**

Seroepidemiological profile of pregnant women after inadvertent rubella vaccination in the state of Rio de Janeiro, Brazil, 2001-2002

G.R. da Silva e Sa , L.A. Camacho , M.M. Siqueira , M.S. Stavola , D.A. Ferreira

Rev Panam Salud Publica., 2006; 19(6):371-378

PMID: 16968591

**Цель исследования.** Проанализировать поствакцинальный серологический статус у беременных женщин, случайно вакцинированных против краснухи в Рио-де-Жанейро, Бразилия.

**Методы.** В перекрестном исследовании принимали участие беременные женщины в возрасте 15-29 лет, случайно привитые против краснухи и кори в период с ноября 2001 по март 2002, которые не знали о своей беременности на момент проведения вакцинации или забеременели в течение 30 дней после нее.

Они были обследованы на наличие IgM и IgG к вирусу краснухи и классифицированы как иммунные (IgM-отрицательные, IgG-положительные, обследованные в течение 30 дней после вакцинации), восприимчивые (IgM-положительные после вакцинации) или неопределенные (IgM-отрицательные, IgG-положительные, интервал от момента вакцинации до серологического исследования более 30 дней).

**Результаты.** Из 2 292 женщин 288 (12,6%) оказались восприимчивыми, 316 (13,8%) иммунными, 1 576 (68,8%) неопределенными, у 8 (0,3%) женщин результаты исследований оценить было невозможно, и 104 (4,5%) женщины "выпали из поля зрения" исследователей (не было сведений о дальнейшем течении беременности). Доля IgM-позитивных в разных временных интервалах между вакцинацией и тестированием составила 16,1% (не более 30 дней), 15,4% (30-60 дней) и 14,2% (61-90 дней), соответственно. Наибольший удельный вес восприимчивых к краснухе отмечен в возрастной группе 20-24 года (14,8%), что составило 42,4% (122/288) среди всех восприимчивых женщин. На момент вакцинации у 75% восприимчивых женщин срок беременности составлял 5 недель и менее.

**Заключение.** Массовая иммунизация женщин детородного возраста была вполне оправдана, проводилась на основании анализа эпидемиологической ситуации и результатов серологических исследований. Последующее наблюдение вакцинированных беременных женщин не выявило случаев синдрома врожденной краснухи, вызванной вакцинным штаммом. Тем не менее, регистрируемый уровень врожденной инфекции свидетельствует о том, что во время беременности прививок лучше не делать, а после проведенной вакцинации против краснухи необходимо предохраняться от беременности, по меньшей мере, в течение 1 месяца.

**10/443 Руководство по тактике ведения беременных с заболеваниями, сопровождающимися сыпью (включающее обсуждение значимых программ скрининга на наличие антител к возбудителям наиболее значимых инфекций во время беременности).**

Guidelines on the management of, and exposure to rash illness in pregnancy (including consideration of relevant antibody screening programmes in pregnancy).

P. Morgan-Capner, N.S. Crowcroft

Communicable Disease and public Health, 2002, 5 (1): 59-71

PMID: 12070980

Настоящие руководящие принципы, разработанные лабораторной службой общественного здравоохранения (PHLS), направлены на то, чтобы помочь медицинским работникам принимать решения в отношении проведения исследований и тактики ведения беременных женщин с сыпью, связанной с системной вирусной инфекцией, или при контакте беременной с больным, имеющим сыпь. В Великобритании эти принципы в большей степени касаются инфекций, вызванных вирусом краснухи, парвовирусом В19 и вирусом ветряной оспы (VZV), но выявлены (и рассматриваются) также и другие инфекционные агенты в качестве причины появления высыпаний. При наличии у беременной женщины инфекции руководящие принципы дают возможность оценить вероятность неблагоприятных исходов беременности и степень риска развития осложнений у плода. Недавние изменения в эпидемиологии и управлении эпидемиологическим процессом вновь подтвердили положения руководящих принципов. Всех беременных женщин с невезикулярной сыпью необходимо обследовать одновременно на наличие краснушной инфекции и инфекции, вызванной парвовирусом В19. Все беременные женщины, имевшие тесный контакт с больным человеком с невезикулярной сыпью, в случаях отсутствия точных данных о краснушной инфекции, перенесенной в прошлом (естественная или вакцинальная инфекция), должны быть обследованы на наличие бессимптомной инфекции, вызванной вирусом краснухи или парвовирусом В19. Тесный контакт определяется как общение лицом к лицу или нахождение вместе в закрытом помещении (например, в одной комнате) более 15 минут. Специфического исследования для выявления бессимптомно текущей реинфекции краснухи проводить не рекомендуется. У беременных необходимо обязательное лабораторное подтверждение всех случаев при подозрении на краснушную инфекцию и инфекцию, вызванную парвовирусом В19. При установленной краснушной инфекции тактика ведения беременных в каждом конкретном случае индивидуальна, в зависимости от риска развития неблагоприятных исходов беременности. Женщины с установленной инфекцией, вызванной парвовирусом В19, в первые 20 недель беременности должны проходить регулярное ультразвуковое исследование в региональных центрах (отделениях) репродукции и эмбриональной медицины на предмет выявления неиммунной водянки плода. Проводить скрининговые обследования беременных на наличие антител к парвовирусу В19 не рекомендуется; однако рекомендуется проведение скрининговых обследований на наличие антител к вирусу краснухи и определение их концентрации, по результатам которых можно судить о перенесенной в прошлом инфекции.

Рекомендуется также проведение противовирусной терапии (ацикловиром, перорально) беременным женщинам в течение 24 часов после появления ветряночной сыпи с их согласия и после предоставления полной информации. Госпитализация и внутривенная противовирусная терапия показана беременным с осложнениями и/или имеющим факторы риска или в тех случаях, когда продолжительность заболевания шесть дней или более. Если в анамнезе беременной женщины есть указания на перенесенную в прошлом ветряную оспу или опоясывающий лишай (герпес зостер), она может быть уверена в наличии у нее иммунитета. В тех случаях, когда анамнез неизвестен или есть сомнения, женщины должны быть обследованы на наличие иммунитета к данным инфекциям, всем восприимчивым лицам рекомендовано введение варицелла-зостер иммуноглобулина (VZIG) в течение 10 дней после первого контакта. Младенцам, матери которых заболели ветряной оспой за 7 дней до или в течение 7 дней после родов, необходимо ввести VZIG и ацикловир, если мать заболевает за 2 дня до родов и в пределах 4 дней после них.

### **11/444 Иммунологические и молекулярно-биологические методы диагностики краснухи у беременных женщин, плодов и новорожденных.**

Э. А. Кузнецова, В. А. Гнетецкая, О. Ю. Шипулина, М.А. Курцер, Г.А. Шипулин  
Акушерство и гинекология, №4, 2007

**Цель исследования.** Обосновать ценность применения иммунологических (ИФА) и молекулярно-биологических (ОТ-ПЦР) тестов в комплексной диагностике краснухи у беременных женщин, плодов и новорожденных.

**Учреждения.** Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения Москвы.

**Методология.** Проспективное исследование.

**Материал исследования.** 162 беременные женщины в возрасте от 19 до 46 лет со сроком беременности от 9 до 30 нед.

**Методы исследования** - общеклинические, инструментальные, иммунологические, молекулярно-биологические.

**Результаты исследований.** При проведении первичного серологического скрининга антитела к антигенам вируса краснухи класса IgG обнаружили у 128 (79%) беременных женщин. Титр вирусспецифических антител варьировал от 10 до 426 МЕ/мл. Сомнительные результаты получены у 5 (3%) женщин. У 29 (18%) пациенток вирусспецифические антитела класса IgG не выявлены. Антитела класса IgM к антигенам вируса краснухи обнаружены у 3 (1,9%) беременных женщин. Приведены подробные данные динамических иммунологических и молекулярно-биологических исследований трех беременных женщин с острой краснухой и подозрением на нее.

**Закключение.** Обнаружение антител к антигенам вируса краснухи класса IgM в сыворотке крови не является абсолютным показанием к прерыванию беременности, а служит отправной точкой для проведения дальнейших динамических клинических и лабораторных исследований. Комплексная антенатальная диагностика краснухи должна основываться на

выявлении вирусспецифических антител класса IgM в пуповинной крови (ИФА) и идентификации РНК вируса в амниотической жидкости и/или пуповинной крови с помощью ОТ-ПЦР.

### **12/445 Изучение распространенности синдрома врожденной краснухи среди детей с врожденными пороками развития в Санкт-Петербурге.**

Congenital rubella syndrome prevalence study among infants with birth defects in Saint-Petersburg.

L. Lyalina et al.

J EpiNorth, 2009, 10 (1), с. 6-11.

PMID нет

Исследование проведено в Санкт-Петербурге в 2006-2007 гг. Работа осуществлялась в рамках международного сотрудничества с Норвежским институтом общественного здравоохранения (отдел эпидемиологии инфекционных заболеваний). В работе использованы методы клинической, эпидемиологической и лабораторной диагностики синдрома врожденной краснухи (СВК). В исследовании применялось определение случая СВК и карта эпидемиологического расследования, рекомендованные ВОЗ.

Обследовано 169 детей в возрасте до 1 года с тяжелыми врожденными пороками развития (ВПР), поступивших в детскую городскую больницу для хирургического лечения. Определение IgM к вирусу краснухи выполнено с использованием тест-систем Dade Behring, также рекомендованных ВОЗ. ИФА проводился в вирусологической лаборатории Санкт-Петербургского института Пастера, сертифицированной ВОЗ. В 2006 г. обследовано на наличие IgM к вирусу краснухи - 91, в 2007 г. - 78 детей. Различные варианты сочетания врожденного порока сердца (ВПС), желтухи, отставания в развитии и спленомегалии составили 19,5%, 15,4%, 8,9%, 4,7%. В 5,3% случаев была выявлена тяжелая патология, наиболее характерная для синдрома врожденной краснухи (СВК): врожденный порок сердца, катаракта, нарушение слуха, глаукома в сочетании с другими симптомами. 89% детей были обследованы в возрасте до 3 месяцев. В 2007 г. в Санкт-Петербурге диагностирован 1 случай СВК, который не был обнаружен в рамках традиционной системы эпидемиологического надзора за краснухой, включающей надзор за заболеваниями этой инфекцией беременных женщин. Клинические проявления СВК включали врожденный порок сердца, катаракту правого глаза, желтуху, спленомегалию, запаздывание в развитии и порок развития головного мозга. Заболевание краснухой матери в период беременности не зарегистрировано, контакт с больными экзантемными заболеваниями не установлен, женщина не привита против краснухи; на 10-12 неделе беременности отмечался резкий подъем температуры до 39,8°. Организация и обобщение всех результатов исследования выполнены в лаборатории эпидемиологии института Пастера. Результаты исследования показали необходимость совершенствования системы эпидемиологического надзора и диагностики врожденной краснухи.

## Сифилис

### 13/446 Забытый, но не исчезнувший: продолжающийся бич врожденного сифилиса.

Forgotten but not gone: the continuing scourge of congenital syphilis.

D.G. Walker, G.J. Walker

Lancet Infect Dis. 2002 Jul; 2(7): 432-436

PMID: 12127355

В настоящее время большое внимание уделяется профилактике вертикальной передачи ВИЧ-инфекции. В отличие от этого, существующей проблеме увеличения числа случаев врожденного сифилиса должного внимания, к сожалению, не уделяется. В богатых экономически развитых странах случаи врожденного сифилиса очень редки, однако во многих странах с более низким уровнем жизни, включая страны Восточной Европы и постсоветского пространства, заболеваемость врожденным сифилисом высока и имеет тенденцию к росту. В большинстве стран Африки, расположенных южнее Сахары, около 10% беременных женщин больны сифилисом. Профилактика врожденного сифилиса в сравнении с профилактикой вертикальной передачи ВИЧ-инфекции является экономически более эффективной. Меры по снижению случаев врожденного сифилиса могут косвенно оказывать благоприятный эффект и на ситуацию с ВИЧ-инфекцией, снижая восприимчивость к инфекции. Несмотря на то, что мероприятия по антенатальной профилактике врожденного сифилиса (скрининг и лечение) четко прописаны, реализация эффективных программ в условиях недостатка финансовых ресурсов вызывает большие трудности. Необходим новый более сфокусированный подход к решению этой проблемы. Подход должен быть комплексным, ориентированным на эффективное сочетание различных мер и мероприятий, таких как массовая терапия, скрининговое обследование определенных фокус-групп населения и проведение универсального скрининга с учетом местной эпидемиологической обстановки и имеющихся ресурсов. Такой подход к определению наиболее оптимальных мероприятий (наряду с поддержкой отдельных определенных научных исследований) должен быть приоритетным направлением деятельности Глобального Фонда здравоохранения.

### 14/447 Сравнение иммуноблота на IgM к *Treponema pallidum* с трепонемным тестом 19S флуоресцентной абсорбции для диагностики врожденного сифилиса.

Comparison of a *Treponema pallidum* IgM immunoblot with a 19S fluorescent treponemal antibody absorption test for the diagnosis of congenital syphilis.

M. Herremans, D.W. Notermans, M. Mommers, L.M. Kortbeek

Diagn Microbiol Infect Dis. 2007 Sep; 59(1):61-66.

PMID: 17662551

В настоящем исследовании сравнили "домашний" иммуноблот (ИБ) для выявления IgM к *Treponema pallidum* с флуоресцентным тестом абсорбции трепонемных антител (РИФ<sub>абс.</sub>) для рутинной диагностики врожденного сифи-

лиса у пациентов неэндемичных регионов, в условиях национальной референсной лаборатории. В целом, совпадение результатов двух методов было высоким (97%), и 19S-позитивные образцы характеризовались минимум двумя реактивными полосками в ИБ. Высокая степень совпадения результатов обусловлена, в основном, большим числом негативных результатов (95%). При использовании флуоресцентного теста 19S в качестве золотого стандарта чувствительность иммуноблота составила 88% при специфичности 97,2%. При анализе расходящихся результатов образцов выявлено, что иммуноблот был положительным с 1 или 2 специфическими полосками в 2,8% случаев, в то время как 19S был негативен, что, вероятно, свидетельствовало о более высокой чувствительности иммуноблота. Результаты исследования позволили сделать вывод, что иммуноблот является чувствительным методом детекции трепонемной инфекции у новорожденных и может заменить флуоресцентный тест в рутинной лабораторной диагностике врожденного сифилиса.

### 15/448 Серологический скрининг на сифилис у беременных женщин: какой метод является наиболее приемлемым?

Screening for syphilis in pregnancy: which is the proper method?

V. Wiwanitkit

Arch Gynecol Obstet. 2007 Dec; 276(6): 629-631

PMID: 17569069

Несмотря на постоянный интерес врачей практической медицины к сифилитической инфекции и ее воздействию на исходы беременности, тем не менее, до сих пор остаются без ответа фундаментальные вопросы, касающиеся особенностей протекания и лечения сифилиса во время беременности. Сифилитическая инфекция чревата неблагоприятными последствиями для здоровья матери и будущего ребенка, но их можно предотвратить. Для этого во время первого визита женщины к гинекологу по поводу беременности ей должно быть назначено серологическое скрининговое обследование. В настоящее время лабораторная диагностика сифилиса базируется в основном на применении серологических методов исследования. Наиболее широко распространенными скрининговыми методами являются VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) и RPR (Rapid Plasma Reagin), а в качестве подтверждающих используют трепонемные тесты: РИФ и РПГА. В данном исследовании автор проводит оценку экономической эффективности использования различных тестов в акушерско-гинекологической практике.

Оценивали четыре возможные альтернативные схемы диагностики: а) VDRL+РИФ, б) VDRL+РПГА, в) RPR+РИФ, г) RPR+РПГА. Для каждой схемы рассматривали два возможных варианта: в случае отрицательного результата скринингового теста и в случае положительного результата.

Результаты исследования показали, что оптимальным соотношением стоимость/польза характеризовалась схема диагностики, включающая методы RPR и РИФ, а наименее затратной оказалась схема VDRL+РПГА. По данным Griemberg и соавт. (2000 г.), во всем мире доля беременных, имеющих положительный серологический результат на сифилис, составляет 3,69%, однако нетрепонемные тесты способны определить лишь 2,2%, следовательно, существует необходимость использования подтвер-

ждающих тестов. В настоящей статье автор продемонстрировал, что сочетание тестов VDRL и РПГА является наиболее экономически выгодным и оптимальным вариантом при проведении серологической диагностики сифилиса у беременных.

### 16/449 Реактивность локально синтезированных в спинномозговой жидкости антител к антигенам *Treponema pallidum* у больных нейросифилисом.

Reactivity of locally produced CSF antibodies in patients with neurosyphilis against antigens of *Treponema pallidum*.

E. Bollensen, S. Albrecht, W. Beuche, M. Mader, H.W. Prange

J Neurol. 1993 Sep; 240(8):471-474

PMID: 8263552

Реактивность и специфичность локально синтезированных в спинномозговой жидкости (СМЖ) антител к антигенам *Treponema pallidum* были оценены при помощи метода Вестерн-блот у пациентов с клиническими признаками паренхиматозного или менингovasкулярного нейросифилиса. В качестве критерия поражения центральной нервной системы (ЦНС) при сифилисе выбран IТра-индекс, определяемый по формуле:

$$\text{IТра индекс} = (\text{титр РПГА в СМЖ} \cdot \text{IgG в сыворотке}) / (\text{титр РПГА в сыворотке} \cdot \text{IgG в СМЖ})$$

Уровень IТра-индекса выше 2,0 свидетельствовал о проникновении *T. pallidum* в ЦНС и об интратектальном синтезе противотрепонемных антител.

У всех девяти пациентов, страдающих нейросифилисом, отмечен синтез трепонемспецифических антител в ЦНС. Анализ на основании Вестерн-блота показал наличие в исследованных образцах от 5 до 7 полос: по две интенсивно окрашенные полосы к антигенам с молекулярной массой 45 и 48 kDa, две или три слабые полосы к белкам 38, 35 и 32 kDa и две яркие полосы к антигенам 12-14 kDa. Отсутствие полос на уровне 32-38 kDa на некоторых слайдах могло быть связано с разрушением белков при очистке образцов. В большей части образцов сывороток обнаружены антитела к тем же антигенам, что и в СМЖ: к белкам 48/45 kDa и 12-14 kDa. У некоторых пациентов интенсивность окрашивания полос на нитроцеллюлозной мембране с антителами СМЖ была выше, чем с антителами сыворотки крови, что указывает на локальный синтез антител в ЦНС. IТра-индекс у данных пациентов был высоким - 7, 9. В остальных случаях, когда интенсивность окрашивания полос при исследовании сыворотки крови и СМЖ совпадала, на снижение интратектальной продукции антител могла оказать влияние предшествующая длительная инфекция, вызванная ВПГ-1, ВИЧ, нейроборрелиоз или инфицирование вирусом VZV. У пациента, страдающего парезом центрального генеза и получившего лечение пенициллином 18 месяцами ранее, на слайде обнаружена дополнительная полоса к белку 96 kDa. В контрольных образцах сывороток и СМЖ полосы отсутствовали. Таким образом, результаты Вестерн-блота могут служить доказательством проникновения *T. pallidum* через гематоэнцефалический барьер при сифилисе, но не дают разграничений по различным клиническим проявлениям нейросифилиса. В отличие от других острых заболеваний ЦНС, у больных нейросифилисом не обнаружено различий в связывании антигенов антителами в СМЖ и сыворотке крови.

### 17/450 Значение лабораторных методов исследования для диагностики нейросифилиса.

Significance of laboratory findings for the diagnosis of neurosyphilis.

A.F. Luger, B.L. Schmidt, M. Kaulich

Int J STD AIDS., 2000; 11(4):224-234

PMID: 10772085

Цель настоящего исследования - оценить чувствительность и специфичность различных лабораторных тестов и, следовательно, оценить значимость полученных результатов для диагностики нейросифилиса. Сто четырнадцать пар ВИЧ-негативных образцов сывороток крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) исследовали при помощи нетрепонемного VDRL-теста, флуоресцентного теста адсорбции трепонемных антител РИФ<sub>абс.</sub> (FTA-ABC), реакции микроагглютинации для *Treponema pallidum* (МНА-ТР, микро-РПГА) и реакции агглютинации *T. pallidum* (РПГА) с СМЖ; кроме того, определяли содержание альбумина, общего белка, уровень IgG и число мононуклеарных клеток в СМЖ. В данной работе исследовали клинический материал от 60 пациентов с проявлениями нейросифилиса и 54 практически здоровых человек (контрольная группа) с перенесенным в прошлом сифилисом, но с сохраняющимися позитивными результатами агглютинационных тестов (микро-РПГА при исследовании сыворотки крови, РПГА при исследовании СМЖ). Были определены: уровень альбумина, IgG-индекс, РПГА-индекс, модификацию РПГА-индекса (РПГА-индекс - параметр внутрисиновиального синтеза специфических IgG к *T. pallidum*), IТра-индекс (индекс интратектальных антител к *T. pallidum*) в двух модификациях, а в 12 случаях определяли соотношение антител аденовирусной группы (AVGA) к РПГА-индексу (AVGA/РПГА-индекс). Специфичность и чувствительность составили: для РПГА-индекса 100% и 98,3%, соответственно; для модифицированного РПГА-индекса - 50,0% и 96,7%, соответственно; для IТра-индекса 42,6% и 90,0%, соответственно; для модифицированного IТра-индекса - 51,8% и 68,3% (первая модификация) и 53,7% и 63,3% (вторая модификация), соответственно. Специфичность показателя AVGA/РПГА-индекс составила 91,7% (11/12). Результаты VDRL-теста при исследовании СМЖ оказались положительными в 55/60 (91,7%) случаях при исследовании образцов от пациентов с нейросифилисом; при исследовании образцов из контрольной группы не получено ни одного положительного результата (0/54). Повышение титров антител РПГА-СМЖ (более 1:320) детектировано при исследовании 59/60 (98,3%) образцов от пациентов с нейросифилисом, но не наблюдалось при исследовании контрольных образцов (0/54). Значение РПГА-индекса выше 70, повышение титров антител РПГА-СМЖ более 1:320 и при более низкой чувствительности, согласно критериям центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США), являются надежными показателями для подтверждения диагноза нейросифилиса. Модификация РПГА-индекса, IТра-индекс и две его модификации являются недостаточно чувствительными и специфичными.

Имеющихся данных о соотношении AVGA/РПГА-индексу пока недостаточно для использования его в качестве диагностического параметра. Диагностическое значение



повышения титров антител РПГА-СМЖ более 1:320 требует дополнительного подтверждения в ходе других исследований, проводимых в различных лабораториях.

### 18/451 Оценка трепонемного агглютинационного теста ТРПА для диагностики нейросифилиса.

Evaluation of the Treponema pallidum particle agglutination technique (TPPA) in the diagnosis of neurosyphilis. R. Castro, E.S. Prieto, M.J. Aguas, M.J. Manata, J. Botas, C. Araujo, F. Borges, I. Aldir, F.L. Exposto J Clin Lab Anal., 2006; 20(6):233-238. PMID: 17115423

Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка трепонемного агглютинационного теста ТРПА с тестами VDRL, РПГА и РИФ<sub>абс.</sub> для диагностики нейросифилиса. Проведено тестирование 198 образцов спинномозговой жидкости (СМЖ) от пациентов с сифилисом (включая нейросифилис), от пациентов с леченым сифилисом, а также от пациентов с различной неврологической симптоматикой. У пациентов последней группы получены отрицательные результаты во всех тестах. Среди пациентов с нейросифилисом чувствительность ТРПА составила 100%. Результаты исследования образцов СМЖ от больных первичным сифилисом были сходны с результатами других тестов, при вторичном и латентном сифилисе результаты ТРПА были близки к результатам РПГА (27 из 73 и 25 из 73, соответственно). Среди переболевших число положительных результатов в тестах ТРПА, РИФ<sub>абс.</sub> и РПГА составило 8, 6 и 8, соответственно. Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что агглютинационный тест ТРПА может использоваться для исследования образцов СМЖ при диагностике нейросифилиса, хотя, как и в отношении других серологических тестов, интерпретация результатов должна проводиться при обязательном сочетании с другими показателями и симптомами заболевания.

### 19/452 Оценка теста РПГА в серологической диагностике сифилиса, а также при диспансерном наблюдении переболевших.

Evaluation of the passive particle agglutination test in the serodiagnosis and follow-up of syphilis. R.R. Castro, E.S. Prieto, I. Santo, J. Azevedo, F.L. Exposto Am J Clin Pathol., 2001; 116(4):581-585. PMID: 11605611

Цель настоящей работы состояла в определении совпадения результатов при исследовании образцов сывороток крови от пациентов с ранним сифилисом несколькими трепонемными методами: РИФ<sub>абс.</sub>, РПГА и агглютинационным тестом на желатиновых частицах (ТРПА). Кроме того, изучали иммунореактивность по данным тестов RPR, РПГА и ТРПА при обследовании переболевших пациентов через 1 год после завершения терапии. В исследовании приняли участие 449 человек, получившие терапию и состоящие на учете в течение 1 года. Уровень совпадения результатов тестов TP-PA и РПГА составил 98,4%, тестов ТРПА и РИФ<sub>абс.</sub> - 98,9%. За период диспансерного наблюдения пациентов произошло значительное снижение уровня положительных результатов - до 56%, 26% и 70% при использовании RPR, РПГА и ТРПА-тестов, соответственно. Тест ТРПА представляется наиболее приемлемым для использования в рутинной диагностике сифи-

лиса, так как обладает чувствительностью сходной, с РИФ<sub>абс.</sub> при осуществлении диагностики первичного сифилиса, и демонстрирует результаты, сходные с RPR при проведении мониторинга пациентов после лечения.

### 20/453 Был ли у Адольфа Гитлера сифилис? Did Adolf Hitler have syphilis?

F.P. Retief, A. Wessels S Afr Med J., 2005; 95(10): 750, 752, 754, 756 PMID: 16341329

Доказательства того, что Адольф Гитлер, вероятно, страдал запущенной формой сифилиса, в настоящее время пересматриваются. Слухи о том, что он заразился сифилисом от проститутки в возрасте 20 лет и, возможно, был повторно инфицирован во время Первой мировой войны (1914-1918 гг.), уже не могут быть перепроверены. Имеются данные, что он был весьма инертным в сексуальном плане в течение всей своей жизни. Предположение, что нарушения сердечной деятельности у Гитлера и жалобы на транзиторную слепоту, тремор левой руки и ноги, рецидивирующие абдоминальные боли и поражения кожи ног - сифилитической этиологии, не могут быть подтверждены. Прогрессирующее ухудшение психического и физического здоровья после 1942 года, приступы параноидального гнева, взрывной ярости, мания величия и симптомы возможной деменции характерны для нейросифилиса. Существуют, однако, и другие объяснения терминального синдрома, а также доказательства того, что неоднократные клинические осмотры не выявляли характерных признаков паралитической деменции или спинной сухотки, что не соответствовало диагнозу третичного сифилиса.

## Бактериальные инфекции

### 21/454 Оценка нового теста латексной агглютинации для *Staphylococcus aureus*, Prolex Staph Xtra в сравнении с другими тестами третьего поколения.

Evaluation of a new *Staphylococcus aureus* latex agglutination kit, Prolex Staph Xtra, against other third-generation kits.

S. Davies, S.M. McIntyre, A. McKinven

British Journal of Biomedical Science, 2008, 65(3): 2-4  
PMID: 18986102

#### РЕЗЮМЕ

*Staphylococcus aureus*, включая метициллинорезистентные штаммы (MRSA), остается наиболее частой причиной инфекции/колонизации, требующей быстрой и точной лабораторной диагностики. В настоящее время существует несколько коммерчески доступных быстрых агглютинационных тестов (что значительно облегчает решение клинико-диагностических задач); некоторые из них были усовершенствованы и внедрены в практику. Недавно была выпущена одна из таких тест-систем - Prolex Staph Xtra. В настоящем исследовании проводили сравнение данной тест-системы с другими усовершенствованными системами (такими как Pastorex Staph-Plus, Staphaurex Plus and Staphylect Plus) и изучали их детектирующую способность на 100 штаммах *S. aureus*. Результаты исследования показали, что 50 штаммов оказались устойчивыми к метициллину. Специфичность систем определяли при исследовании 30 штаммов коагулазоотрицательных стафилококков и 20 изолятов энтерококков. Из четырех испытанных тест-систем Prolex Staph Xtra and Pastorex Staph-Plus оказались более чувствительными и быстрыми в исполнении.

#### ВВЕДЕНИЕ

*Staphylococcus aureus* продолжает играть важную роль в клинической микробиологии, в последних публикациях показано, что 45% инфекций вызваны *S. aureus*, из них 62% - метициллинорезистентными штаммами *S. aureus* (MRSA). С 2001 года была введена обязательная регистрация случаев бактериемии, вызванных *S. aureus* (включая MRSA), и показано, что в период с апреля 2005 г. по март 2006 г. около 18 000 случаев бактериемий были вызваны *S. aureus*, из которых в 40% - MRSA.

Изучение колоний, подозрительных на *S. aureus*, и подтверждение принадлежности выросших колоний к *S. aureus* при помощи точного и быстрого агглютинационного теста проводятся в соответствии со стандартным протоколом микробиологического исследования. На начальном этапе авторы работы оценивали агглютинационные способности нескольких тестов, исследуя колонии, выросшие на кровяном агаре Columbia, маннитол-солевом агаре и среде Baird-Parker. В дальнейшем было решено данное исследование повторить, используя для MRSA хромогенные питательные среды вместо стандартных и вводя модифицированные быстрые агглютинационные тесты, включая тест-системы Prolex Staph Xtra.

Было показано, что определенные штаммы MRSA, про-

дуцирующие некоторое количество клампинг-фактора и белка А, дают ложноотрицательные результаты агглютинации. Установлено, что один специфический капсульный антиген, серотип 5, связан с этим фенотипическим эффектом. Тем не менее, этот факт должен быть учтен при создании быстрых агглютинационных тестов, которые должны содержать дополнительные (индикаторные) системы обнаружения антигена.

В настоящей работе проводили сравнение четырех коммерчески доступных быстрых агглютинационных тестов при исследовании 100 штаммов *S. aureus*, в том числе 50 штаммов MRSA. Все 100 штаммов культивировали на кровяном агаре Columbia blood agar (CBA), а 50 MRSA штаммов - еще и на хромогенной среде, MRSASelect (Bio-Rad). В данной работе использовали два теста, показавших превосходные результаты в предыдущем исследовании. Во всех случаях несовпадения результатов тестов исследование проводили повторно, чтобы гарантировать точность полученных данных.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

50 метициллинчувствительных штаммов *S. aureus* (MSSA) были выделены рутинным методом. Штаммы MRSA были получены, в основном, из коллекций штаммов предыдущих исследований, которые включали и эпидемические штаммы золотистого стафилококка. Исследование штаммов MRSA, выделенных не только рутинным методом, проводили для того, чтобы убедиться в существовании широкого спектра штаммов, а не только региональных штаммов EMRSA-15 и EMRSA-16.

Все штаммы *S. aureus* были идентифицированы при использовании комбинации термолабильной ДНК-азы и цвета на CHROMagar Staph aureus (BioConnections), а также по результатам теста быстрой агглютинации. Все несовпадающие результаты были проверены методом биохимической идентификации, используя API Staph. Штаммы MRSA из коллекции NCTC или ранее выделенные штаммы отправляли в Национальную референс-лабораторию (HPA, Colindale, Великобритания) для подтверждения полученных результатов, окончательной идентификации и типирования.

Были изучены тесты Pastorex Staph-Plus (Bio-Rad), Staphaurex Plus (Remel), Staphylect Plus (Oxoid) и новый Prolex Staph Xtra (Pro-Lab Diagnostics). Возможности обнаружения антигена представлены в таблице 1.

Таблица 1

#### Исследование методов работы разных тестов быстрой агглютинации

Название теста	меченые антитела	клампинг фактор	протеин А	другие факторы
Prolex Staph Xtra	голубой латекс	да	да	капсульные полисахариды
Pastorex Staph-Plus	красный латекс	да	да	капсульный полисахарид
Staphaurex Plus	желтый латекс	да	да	специфические IgG и поверхностные антигены
Staphylect Plus	голубой латекс	да	да	капсульные полисахариды



Все 100 штаммов были выращены и изучены на среде СВА (Oxoid). 50 штаммов MRSA были выращены и изучены еще и на среде MRSASelect (Bio-Rad), обычно используемой в рутинной практике выделения MRSA.

Кроме того, при помощи рутинной идентификации были выделены 30 штаммов коагулазоотрицательных стафилококков (CNS) и 20 различных штаммов энтерококков, для определения специфичности и склонности к ложноположительным результатам тестов. Все тесты были выполнены в соответствии с инструкциями фирм-производителей (таблица 2).

Таблица 2

## Инструкции производителей

Название теста	количество колоний	максимальное время качания (сек)
Prolex Staph Xtra	2	20
Pastorex Staph-Plus	1-3	30
Staphaurex Plus	6	30
Staphytest Plus	5	20

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Используя СВА, все тесты подтвердили идентификацию выделенных 50 штаммов MSSA в пределах времени качания, указанного производителем. Тесты Pastorex Staph-Plus и Prolex Staph Xtra также определили 50 штаммов MRSA в пределах рекомендуемого времени качания. Однако Staphaurex Plus и Staphytest Plus не удалось обнаружить пять и три штамма, соответственно. Из пяти штаммов, давших ложноотрицательные результаты в Staphaurex Plus, два дали агглютинацию через 30-60 секунд, один - через 60-90 секунд, и последние два штамма не дали агглютинации в течение 120 секунд качания. Из трех штаммов, давших ложноотрицательные результаты в Staphytest Plus, все дали агглютинацию в течение 30-60 секунд.

На питательной среде MRSASelect 48 из 50 исследуемых штаммов дали рост, демонстрируя тем самым, что несмотря на то, что новая цефокситин-содержащая хромогенная среда работает превосходно с рутинными штаммами MRSA, метод не является надежным на 100%. Pastorex Staph-Plus и Prolex Staph Xtra дали ожидаемые результаты, тогда как Staphaurex Plus и Staphytest Plus дали ложноотрицательные результаты с четырьмя и тремя штаммами, соответственно. Детальный анализ времени, затраченного на агглютинацию, для всех тестов представлен в таблице 3. В тестах Staphaurex Plus и Staphytest Plus случайный штамм MRSA, который был обнаружен в колониях, взятых с СВА, стал неопределяемым, когда его сняли с MRSASelect. Удивительно, что то же самое происходило и при обратной постановке - штаммы из колоний, взятых с СВА, ранее не дававшие агглютинации в пределах рекомендуемого времени, стали определяться, когда их снимали с MRSASelect. Это наводит на мысль, что состав сред влияет на количество образуемого антигена, хотя это не было очевидно из результатов, полученных в тестах Pastorex Staph-Plus и Prolex Staph Xtra.

Отдельного упоминания заслуживает специфичность тестов. Pastorex Staph-Plus и Prolex Staph Xtra работают одинаково. Ни один из 30 штаммов CNS не дал ложноположительных реакций,

но была отмечена кросс-реактивность с энтерококками. Тест Prolex Staph Xtra дал семь истинных ложноположительных реакций в пределах рекомендуемого времени качания. В шести случаях штаммы дали приемлемую агглютинацию с отрицательным контролем латекса, что делало результаты теста недействительными. В одном случае, однако, отрицательный контроль латекса не дал агглютинации, вызывая сомнения в специфичности антител. Тест Pastorex Staph-Plus дал девять ложноположительных реакций, шесть из которых были недействительными, как упомянуто выше; однако в трех случаях отрицательный контроль латекса не давал агглютинации, подтверждая истинные ложноположительные результаты. Тест Staphytest Plus дал кросс-реактивность с одним штаммом CNS и одним видом энтерококка, и в каждом случае это вызывало сомнения в специфичности антител. Тест Staphaurex Plus не дал кросс-реактивности.

Таблица 3

## Время определения штаммов MRSA, взятых с Columbia blood agar (n=50) и MRSASelect (n=48)

Название теста	Время учета теста		30-60 сек		60-120 сек		Отрицательный после 120 сек	
	CBA	Select	CBA	Select	CBA	Select	CBA	Select
Prolex Staph Xtra	50	48	0	0	0	0	0	0
Pastorex Staph-Plus	50	48	0	0	0	0	0	0
Staphaurex Plus	45	44	2	3	1	0	2	1
Staphytest Plus	47	45	3	1	0	1	0	1

## ОБСУЖДЕНИЕ

Как говорилось ранее, быстрое подтверждение результатов идентификации *S.aureus* проводится по стандартной процедуре для всех микробиологических лабораторий. Важна идеальная комбинация точности и скорости. В инструкциях к тесту сказано, что все производители тест-систем попытались достичь этих целей. Результаты тестов для определения антигена были верными в 100% случаев при исследовании 50 штаммов MRSA. Два теста, Pastorex Staph-Plus и новый тест Prolex Staph Xtra, показали такие же результаты с 50 штаммами MRSA при исследовании колоний, взятых или с СВА или с MRSASelect.

Staphytest Plus и Staphaurex Plus показали хорошие результаты для MRSA, но не выявляли некоторые штаммы (взятые как с СВА, так и с MRSASelect) в течение рекомендуемого времени качания. Staphytest Plus показал чувствительность 94% при исследовании колоний, выросших на обеих средах, тогда как чувствительность Staphaurex Plus при исследовании колоний, взятых с СВА и с MRSASelect, составила 90% и 92%, соответственно. Причины, по которым некоторые штаммы могли быть обнаружены с СВА, а не с MRSASelect, и наоборот, нуждаются в дальнейшем исследовании. Тем не менее, эти обнаруженные несоответствия были перепроверены для их подтверждения.

Традиционно в процессе выполнения теста латекс-агглютинации антигена (или антитела) бактериальной клетки адсорбируют на поверхности окрашенных частиц инертного латекса, что делает агглютинацию видимой. Уровень и оптический стандарт агглютинации зависят от качества используемого антигена или антитела, степени

адсорбционной насыщенности латексных частиц и их качества.

Приблизительно 100 агглютинатов (комочков) должны участвовать в реакции агглютинации и сформировать совокупность, видимую человеческому глазу. Выбор соответствующего размера и качества латексной частицы, и метод, используемый для связывания антитела или антигена, имеют первостепенную важность в этом процессе.

Авторы полагают, что используемые в тесте Prolex Staph Xtra карбоксилат-модифицированные микрочастицы (СМ-МР) имеют преимущества перед традиционными латексными. Стабильность реагента и реакционная способность могут быть увеличены за счет ковалентного присоединения антигена и антитела к работающим микрочастицам. С этой целью проведен ряд исследований с преимущественным использованием СМ-СР. СМ-СР (1 мм в диаметре), используемые в тесте Prolex Staph Xtra, содержат заметную синюю краску, которая не является поверхностно-связанной и, следовательно, не должна вмешиваться в функциональные возможности частицы. Микрочастицы помогают быстрому визуальному обнаружению и, теоретически, дают ускорение времени реакции.

В представленном исследовании тест Prolex Staph Xtra работал превосходно, так же как и тест Pastorex Staph-Plus. Тот факт, что производитель рекомендует использовать две колонии и что положительные реакции должны проявиться в течение 20 секунд, иллюстрирует надежность теста.

В данном исследовании тесты испытывали в соответствии с инструкциями изготовителей. Альтернативным методом определения чувствительности является методика использования минимального количества колоний для всех испытанных тестов. Если использовать две колонии, как рекомендовано для тестов Prolex Staph Xtra и Pastorex Staph-Plus (1-3 колонии), разница в результатах этих двух тестов станет еще более очевидной. Авторы исследования обращают внимание на то, что тесты Prolex Staph Xtra и Pastorex Staph-Plus работают практически одинаково.

При исследовании 50 штаммов MSSA потребовалось, в общей сложности, около 375 секунд для реакции агглютинации (в среднем 7,5 секунд на штамм), при исследовании 50 штаммов MRSA - в общей сложности около 750 секунд времени качания (в среднем 15 секунд) с колониями, взятыми с любой среды. В тесте Staphaurex Plus эквивалентное время качания было приблизительно вдвое больше указанного, как и время для штаммов MRSA в тесте Staphytest Plus. Тест Staphytest Plus работал лучше с 50 штаммами MSSA, затратив 530 секунд для того, чтобы произошла видимая агглютинация (в среднем 10,6 секунд).

Кросс-реактивность, полученная с энтерококками, не является главной проблемой и может быть легко преодолена при использовании отрицательного латексного контроля (по инструкции производителей) и наблюдении различий в появлении колоний микроорганизмов, даже с колоний, взятых с MRSAselec.

В целом, при изучении рутинных штаммов MSSA, а также рутинных и клинических штаммов MRSA оба теста (Prolex Staph Xtra и Pastorex Staph-Plus) продемонстрировали очень хорошие результаты. Таким образом, использова-

ние одного из этих быстрых агглютинационных тестов настоятельно рекомендуется для подтверждения *S.aureus*, MRSA или MSSA.

### **22/455 Коагулазонегативные стафилококки - биопленки и антибиотикорезистентность.**

Coagulase-negative staphylococci - biofilm and antibiotic resistance.

H. Granslo , K.W. Gammelsrud , E.A. Fredheim , T. Flaegstad , C. Klingenberg  
Tidsskr Nor Laegeforen., 2008;128(23):2746-2749  
PMID: 19079425

Коагулазонегативные стафилококки (КНС) могут вызывать серьезные инфекции у иммунокомпрометированных пациентов. КНС часто демонстрируют полирезистентность к антибиотикам и образование биопленок, являющиеся главными факторами вирулентности.

**Цель исследования.** Изучить факторы вирулентности КНС, способствующие колонизации бактерий у детей с повышенным риском инфицирования КНС.

**Методы.** Были получены изоляты КНС, выделенные из сосудистых катетеров (n = 19) и с кожных покровов (n=47) 30 госпитализированных новорождённых, и изоляты КНС, выделенные с кожных покровов 20 детей со злокачественными новообразованиями (ЗНО) до (n=20) и после (n=18) шестимесячного курса лечения рака. Антибиотикорезистентность и образование биопленок изучали с использованием фенотипических методов. Для выявления генов, кодирующих резистентность к антибиотикам и формирование биопленок, применяли ПЦР.

**Результаты.** В ходе исследования было установлено, что 11 из 19 (58%) изолятов, выделенных с сосудистых катетеров, и 14 из 47 (30%) изолятов с поверхности кожи (p=0,04) образуют биопленки. Авторы отметили возрастающую распространенность оксациллинрезистентности (20% против 67%, p=0,004) и гентамицинрезистентности (15% против 67%, p=0,003) после шестимесячного курса лечения рака. Изоляты КНС, образующие биопленки, продемонстрировали более высокие уровни антибиотикорезистентности, чем изоляты, не образующие биопленки.

**Выводы.** Результаты исследования показали, что у госпитализированных новорожденных и детей со ЗНО отмечается колонизация патогенными штаммами КНС (вирулентными и резистентными к антибиотикам), которые отличаются от КНС, выделенных у клинически здоровых людей.

### **23/456 ЭДТА как потенциальный агент, предотвращающий формирование биопленок Staphylococcus epidermidis на полихлоридвиниловых биоматериалах.**

Edta as a potential agent preventing formation of Staphylococcus epidermidis biofilm on polichloride vinyl biomaterials.

M. Juda , K. Paprota , D. Jaloza , A. Malm , P. Rybojad , K. Gozdzik  
Ann Agric Environ Med., 2008 Dec; 15(2):237-241  
PMID: 19118444

Поливинилхлорид (ПВХ) является широко используемым термопластическим полимером, в том числе в производстве медицинского оборудования. В данном исследовании оценивали влияние ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной ки-

слоты) *in vitro* на структуру биопленок, формируемых *Staphylococcus epidermidis*, выделенных с ПВХ-биоматериалов (урологические катетеры типа Нелатон и торакальные катетеры). Шесть штаммов *S. epidermidis* были выделены из носоглотки госпитализированных больных. Было установлено, что все изоляты могли формировать биопленки на обоих видах ПВХ-биоматериалов, независимо от адгезивных свойств (свойств клеточной поверхности, способности продуцировать слизь, минимального времени, необходимого для адгезии). ЭДТА продемонстрировал бактериостатический эффект против планктонных изолятов возбудителя (минимальная ингибирующая концентрация (МИК) = 0,25-0,5 ммоль/л; минимальная бактерицидная концентрация (МБК) = 10,0- > 25,0 ммоль/л; МБК/МИК = 20, 30, 40, > 50). Процесс адгезии и формирование биопленок были ингибированы ЭДТА в концентрации 1,0-2,0 ммоль/л (2-8 x МИК). Зрелые биопленки двух штаммов были удалены при воздействии ЭДТА в концентрации 2,0-4,0 ммоль/л (4-8 x МИК), в то время как для других четырех изолятов концентрация ЭДТА, необходимая для эффекта уничтожения, была > 32 ммоль/л (> 128 x МИК). Данные, полученные в этой работе, позволяют рассматривать использование ЭДТА в качестве полезного агента, предотвращающего формирование биопленок *S. epidermidis* на биоматериалах из ПВХ.

**24/457 Значение образования биопленок персистирующим и неперсистирующим изолятами *Staphylococcus epidermidis* для отделений интенсивной терапии новорожденных.** Biofilm formation by persistent and non-persistent isolates of *Staphylococcus epidermidis* from a neonatal intensive care unit.

F. Eftekhar, D.P. Speert  
J Hosp Infect. 2009; 71(2):112-116  
PMID: 19013672

Изучали корреляцию между формированием бактериальных биопленок и наличием *icaADBC*-генов у 161 клинического изолята *S. epidermidis*, выделенного при персистирующих и не персистирующих формах неонатальных инфекций. Процесс формирования биопленок исследовали на триптиказо-соевом бульоне с добавлением и без добавления глюкозы (0,5%-9,23%) и на растворах для парентерального питания, содержащих 9,23% глюкозы. Обнаружение *icaADBC* генов проводили при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) и *ica*-специфических праймеров. Количественно образование биопленок у всех изолятов достигало максимума в присутствии 1% глюкозы как на триптиказо-соевом бульоне, так и на растворах для парентерального питания. Не выявлено достоверной разницы между формированием биопленок персистирующими и не персистирующими изолятами *S. epidermidis* в различных условиях исследования. На растворах для парентерального питания биопленки формировали 70% персистирующих и 56,3% не персистирующих изолятов. Ни фенотип патогенных персистирующих бактерий, ни наличие *icaADBC* оперона не влияли на формирование бактериальных биопленок.

**25/458 Высокая антимикробная активность синтетических пептидомиметиков против биопленок, формируемых стафилококками *in vitro*.**

High *in vitro* antimicrobial activity of synthetic antimicrobial peptidomimetics against staphylococcal biofilms. K.Flemming, C.Klingenberg, J.P.Cavanagh, M.Sletteng, W.Stensen, J.S.Svendensen, T.Flaegstad  
J Antimicrob Chemother., 2009; 63(1):136-145  
PMID: 19010828

**Цель исследования.** Изучить антимикробный эффект различных антибиотиков и синтетических антимикробных пептидомиметиков (САМП) на биопленки, формируемые стафилококками.

**Методы.** Биопленки шести штаммов стафилококков (по два изолята *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*) выращивали в течение 24 часов в микротитровальных планшетах. Затем их промывали и обрабатывали в течение 24 часов антибиотиками: линезолидом, тетрациклином, рифампицином, ванкомицином и САМП в разных концентрациях. После обработки проводили количественную оценку метаболической активности бактерий биопленки с использованием индикатора Alamar Blue; при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии изучали клетки, окрашенные с использованием метода LIVE/DEAD, для выявления каких-либо побочных эффектов.

**Результаты.** Воздействие минимальных ингибирующих концентраций (МИК) рифампицина и тетрациклина привело к существенному снижению метаболической активности *S. epidermidis* и *S. haemolyticus* в составе биопленок. Линезолид показал умеренный ингибирующий эффект, а ванкомицин - слабый. Увеличение МИКx10 и МИКx100 улучшило антимикробную активность всех антибиотиков, особенно ванкомицина. Однако не отмечено полного угнетения метаболической активности у штаммов микроорганизмов, образующих мощную биопленку. При МИКx10 три наиболее эффективных препарата из группы САМП (Ltx5, Ltx9 и Ltx10) смогли полностью подавить метаболическую активность биопленок, формируемых *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*, что было подтверждено полной гибелью клеток, выявленной с помощью лазерной конфокальной микроскопии. Несмотря на то, что ни один из Ltx-препаратов САМП не смог полностью подавить метаболическую активность биопленок, формируемых *S. aureus*, их эффективность была значительно выше, чем у всех испытываемых антибиотиков.

**Выводы.** САМП обладают более выраженным антимикробным действием на биопленки, образуемые стафилококками, по сравнению с общепринятыми антибиотиками и являются потенциально новыми терапевтическими средствами против инфекций, вызываемых микроорганизмами, образующими биопленки.

**26/459 Воздействие диспергантов и антиадгезивов слизи на образование биопленок *Staphylococcus epidermidis* на интраокулярных линзах *in vitro* и на активность антибиотиков.**

Impact of slime dispersants and anti-adhesives on *in vitro* biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* on intraocular lenses and on antibiotic activities. A.A. Kadry, S.I. Fouda, A.M. Shibl, A.A. Abu El-Asrar  
J Antimicrob Chemother., 2009;63(3):480-484  
PMID: 19147522

**Цель исследования.** Инфекционный эндофтальмит может развиваться, несмотря на использование антибиоти-

ков в ирригационных растворах, используемых при имплантации интраокулярных линз (ИОЛ). Возбудители этой инфекции в основной массе устойчивы к антибиотикотерапии, и поэтому внедрять имплантат целесообразно только после полного уничтожения возбудителей инфекции. В настоящем исследовании оценивали влияние выбранных диспергаторов и антиадгезивов на гидрофобные взаимодействия, ингибирование адгезии, продуцирование слизи *Staphylococcus epidermidis* и последующее образование бактериальных биопленок на поверхности ИОЛ.

**Методы.** Исследовали относительную активность нескольких потенциальных диспергаторов слизи и антиадгезивов, их влияние на продуцирование слизи, гидрофобность и адгезию (прилипание) *S. epidermidis* к ИОЛ, а также уровень, при котором эти показатели усиливают действие антибиотиков.

**Результаты и их обсуждение.** Минимальная бактерицидная концентрация (МБК) антибиотиков против штаммов *S. epidermidis* в биопленках превысила МБК антибиотиков против этих же штаммов в суспензии в 10-16 раз. Добавление диспергаторов слизи и антиадгезивов снизило чувствительность штаммов в биопленках по отношению к бактериям в суспензии. Продукция слизи штаммами *S. epidermidis* значительно уменьшилась под влиянием диспергаторов. Антиадгезивы, гиалуроновая кислота, гепарин и карпобол 934 оказывали меньший эффект на продукцию слизи, чем диспергаторы. Добавление диспергаторов слизи или антиадгезивов в культуру клеток вызывало значительное уменьшение гидрофобности бактериальной поверхности по сравнению с контрольными необработанными культурами ( $p < 0,001$ ). Уменьшение продукции слизи и гидрофобности бактериальной поверхности привело к заметному снижению адгезии *S. epidermidis* на ИОЛ. Диспергаторы слизи были более эффективны для снижения бактериальной адгезии, чем антиадгезивы. Было показано, что одновременное использование антибиотиков и диспергаторов слизи (или антиадгезивов) может быть более эффективно при имплантации ИОЛ.

### **27/460 Матричный полисахарид Poly-N-Acetylglucosamine препятствует конвекции жидкой среды и транспортировке катионоактивного сурфактанта цетилпиридина хлорида через бактериальные биопленки.**

Poly-N-acetylglucosamine matrix polysaccharide impedes fluid convection and transport of the cationic surfactant cetylpyridinium chloride through bacterial biofilms.

K. Ganeshnarayan , S.M. Shah , M.R. Libera , A. Santostefano , J.B. Kaplan  
Appl Environ Microbiol., 2009;75(5):1308-1314  
PMID: 19114520

Биопленки состоят из бактериальных клеток, заключенных в самосинтезируемую, внеклеточную полимерную матрицу. Поли-N-ацетилглюкозамин (PNAG, ПНАГ) является основным компонентом в матрице биопленок филогенетически разнообразных бактерий. В данной работе авторы исследовали физические и химические свойства PNAG-матрицы биопленки у грамотрицательных *Actinobacillus pleuropneumoniae* (респираторный патоген свиней) и грамположительных *Staphylococcus epidermidis* (катетер-ассоциированный патоген, связанный с использованием

аппаратуры и инструментов). Эффект PNAG в жидкой среде определяли путем измерения скорости конвекции жидкости через биопленки, образующиеся в фильтрующих центрифугах. Скорость конвекции жидкости через биопленки была значительно выше в присутствии PNAG-снижающего фермента дисперсина В, чем в биопленках без фермента, указывая на то, что PNAG снижает скорость потока жидкости. PNAG также блокирует транспорт четвертичных аммониевых соединений цетилпиридина хлорида (ЦПХ) через биопленки. Прикрепление ЦПХ к биопленке в дальнейшем препятствует конвекции в жидкости и блокирует транспорт красной азокраски Allura. Биологически активный ЦПХ был эффективно элюирован с биопленки обработкой 1М раствором хлорида натрия. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что ЦПХ реагирует непосредственно с PNAG матрицы биопленок и изменяет свои физические и химические свойства. PNAG играет важную роль в управлении физиологическим состоянием биопленки и может способствовать развитию других ассоциированных с биопленками процессов, таких как резистентность к биоцидам.

### **28/461 Формирование биопленок *Staphylococcus haemolyticus*.**

Biofilm formation by *Staphylococcus haemolyticus*.  
E.G. Fredheim , C. Klingenberg , H. Rohde , S. Frankenberger , P. Gaustad , T. Flaegstad , J.E. Sollid  
J Clin Microbiol., 2009 Jan 14  
PMID: 19144798

Инфекции, вызываемые коагулазонегативными стафилококками (КНС), чаще встречаются после вживления имплантатов (медицинских изделий), на поверхности которых потенциально могут формироваться биопленки патогенных бактерий. *Staphylococcus haemolyticus* является вторым из наиболее часто встречающихся КНС, выделяемых при госпитальных инфекциях. В настоящее время имеются ограниченные данные о характере формирования биопленок *S. haemolyticus*. Цель настоящего исследования - охарактеризовать формирование биопленок *S. haemolyticus*. Авторы анализировали способность к формированию биопленок у 72 клинических изолятов *S. haemolyticus*. Для определения основных компонентов биопленок использовали разделение с помощью  $\text{NaIO}_4$ , К-протеиназы или ДНК-азы. При помощи ПЦР изучали ген, ответственный за образование биопленки, включая *ica*-оперон; генные продукты были секвенированы. Структуру биопленок изучали при помощи конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ). 53 изолята (74%) формировали биопленки в триптиказо-соевом бульоне с глюкозой, и только 22 (31%) - в триптиказо-соевом бульоне с хлоридом натрия. После растворения биопленок в этаноле и ацетоне измеряли оптическую плотность, которую пересчитывали на всю биомассу биопленки. ДНК-аза, К-протеиназа и  $\text{NaIO}_4$  как причина разделения биопленок выявлялись у 100%, 98% и 38% изолятов, соответственно. Продукция *Ica*-RADBC и полисахаридного внутриклеточного адгезина была выявлена только у двух изолятов. При помощи КЛСМ было определено, что структура биопленок *S. haemolyticus* и *S. epidermidis* отличается. Авторы исследования сделали вывод, что образование биопленок является общим фенотипическим признаком у клинических изолятов *S. haemolyticus*. В отличие от *S. epidermidis*, бел-

ки и внеклеточная ДНК были функционально необходимы для накопления биопленок, тогда как PIA играют второстепенную роль. Кроме того, идуцирование формирования биопленок и определение массы биопленок должны быть оптимизированы для *S. haemolyticus*.

### 29/462 Бактериальная этиология и исходы тяжелой формы пневмонии у детей Уганды.

Bacterial aetiology and outcome in children with severe pneumonia in Uganda.

R. Nantanda, H. Hildenwall, S. Peterson, D. Kaddu-Mulindwa, I. Kalyesubula, J.K. Tumwine  
Ann Trop Paediatr., 2008; 28(4):253-260  
PMID: 19021940

В Уганде пневмония является основной причиной заболеваемости и смертности детей в возрасте до 5 лет, она составляет 10-30% в структуре причин детской смертности. При этом устойчивость бактериальных возбудителей пневмонии к антибиотикам возрастает.

**Цель исследования.** Описать бактериальную этиологию, чувствительность к антимикробным препаратам и исходы тяжелой пневмонии у детей в возрасте 2-59 месяцев, доставленных бригадами скорой медицинской помощи в госпиталь Мулаго в Уганде.

**Методы.** В общей сложности 157 детей в возрасте 2-59 месяцев с симптомами тяжелой пневмонии в соответствии с руководящими принципами Всемирной организации здравоохранения были отобраны в течение 4-месячного периода 2005-2006 гг. для включения в исследование. Диагноз бактериальной пневмонии устанавливался на основании выделения чистой культуры возбудителей из крови и мокроты, а также данных рентгенографического исследования органов грудной клетки. В зависимости от тяжести пневмонии дети были подразделены на 2 подгруппы - со среднетяжелой и тяжелой формой пневмонии, достигавшей максимума к 7 дню.

**Результаты.** Бактериемия зарегистрирована в 15,9% случаев, из них в 36% выделен *Staphylococcus aureus*, а в 28% - *Streptococcus pneumoniae*. У половины детей бактерии были обнаружены в мокроте; в 45,9% случаев выделен *Streptococcus pneumoniae*, в 23,5% - *Haemophilus influenzae*, в 22,4% - *Klebsiella species*. Чувствительность *Staphylococcus aureus* к хлорамфениколу (левомицетину) была отмечена только в 33,3% случаев; в остальных случаях отмечена резистентность, также как и у *H. influenzae*. *S. pneumoniae* был чувствителен к хлорамфениколу (левомицетину) в 87,4% случаев. Летальные исходы имели место в 15,5% случаев. Независимыми предикторами смерти детей в Уганде стали крайне тяжелая пневмония (ОР 12,9, ДИ 2,5-65,8), гипоксемия ( $SaO_2 < 92\%$ , ОР 4,9, ДИ 1,2-19,5) и острое недоедание (ОР 16,5, ДИ 4,2-65,5).

**Выводы.** *S. aureus*, *S. pneumoniae* и *H. influenzae* - основные возбудители острой пневмонии. Хлорамфеникол (левомицетин), применяемый как антибиотик "первой линии" для лечения тяжелой пневмонии у детей Уганды, был эффективен лишь в тех случаях, когда возбудителем острой пневмонии являлся *S. pneumoniae*, остальные бактерии к нему резистентны. Острое недоедание, гипоксемия и крайне тяжелая пневмония повышают риск смерти и должны учитываться при разработке действенных мер.

### 30/463 Септическая легочная эмболия - случай из практики.

Septic pulmonary embolism - Case report.

L. Coentrao, J. Oliveira  
Rev Port Pneumol., 2008; 14(6):881-885  
PMID: 19023502

Септическая легочная эмболия (СЛЭ) - редкий синдром; но, поскольку она маскируется симптомами, сходными с другими заболеваниями, правильная диагностика нередко затруднительна. СЛЭ была описана 30 лет назад; довольно часто ассоциируется со злоупотреблением внутривенными наркотиками. Недавние публикации свидетельствуют о том, что эпидемиология СЛЭ за прошедшие 30 лет существенно изменилась. В данной статье рассматривается случай СЛЭ, ассоциированной с инфекционным эндокардитом с поражением трехстворчатого клапана. В анамнезе у пациента - внутривенное употребление наркотических препаратов. Основные жалобы на лихорадку, анорексию и потерю веса в течение 30 дней. На рентгенограмме - множественные инфильтраты в нижней трети правого легкого. Применение антибактериальных препаратов, обычно назначаемых для лечения пневмонии, не принесло положительного результата. При посеве крови выделен *Staphylococcus aureus*, чувствительный к метициллину. Трансторакальная эхокардиография выявила вегетации на трехстворчатом клапане. Проведение целенаправленной антибактериальной терапии оказалось эффективным. Авторы подготовили обзор литературы по теме исследования, после чего предложили критерии диагностики септической легочной эмболии.



## Лабораторная диагностика неинфекционных заболеваний

## Маркеры пренатального скрининга.

**31/464 Создание, количественная оценка и характеристика новых референс-реагентов ВОЗ для шести молекулярных форм хорионического гонадотропина человека.**

Establishment, value assignment, and characterization of new WHO reference reagents for six molecular forms of human chorionic gonadotropin.

A. Bristow, P. Berger, J.-M. Bidart, S. Birken, R. Norman, U.-H. Stenman, C. Sturgeon

Clin Chem. 2005 Jan; 51(1):177-182

PMID: 15514095

Международная Федерация клинической химии и лабораторной медицины (IFCC) создала рабочую группу для изучения способов улучшения сопоставимости результатов разных иммунологических методов исследования на хорионический гонадотропин человека (хориогонадотропин, ХГЧ), который был выбран в качестве прототипа гликопротеинового анализата. Рабочая группа определила основные цели - разработку единой, однозначной и удобной номенклатуры и производство новых высокоочищенных референс-реагентов, откалиброванных по международным стандартам.

Международные стандарты на ХГЧ (3 международный стандарт ВОЗ IS 75/537, 4 международный стандарт ВОЗ IS 75/589, 1 международный референс-препарат на  $\beta$ -субъединицу ХГЧ IRP 75/551 и 1 - на  $\alpha$ -субъединицу ХГЧ IRP 75/569) доступны уже более 20 лет. При всех своих положительных качествах стандарты имели ряд недостатков. Субъединицы в соответствии с международными стандартами оцениваются в единицах биологической активности, в некоторых случаях - в единицах метрической системы. Так, субъединицы, не обладающие биологической активностью, оцениваются в весовых единицах (1 мкг эквивалентен 1 МЕ).

**Методы.** При приготовлении интактного (нативного) ХГЧ, расщепленного (nicked) ХГЧ,  $\beta$ -субъединицы ХГЧ, расщепленной  $\beta$ -субъединицы ХГЧ,  $\alpha$ -субъединицы ХГЧ и  $\beta$ -кор фрагмента ХГЧ указанные формы были выделены из мочевого препарата ХГЧ на основании анализа аминокислотной последовательности, разлиты по ампулам, лиофилизированы и оценены в концентрациях вещества (моль/л). Оценку диагностической ценности и параметров стабильности стандартизуемого образца (определенных по результатам теста термодеградаци - "ускоренного старения") проводили в соответствии с протоколами ВОЗ для референс-реагентов.

**Результаты.** Ампулированным стандартным образцам были присвоены окончательные значения, основанные на результатах исследования регидратированных препаратов. Результаты теста термодеградаци показали высокую стабильность стандартных образцов.

**Заключение.** Номенклатура ХГЧ-связанных молекул и иммунологических методов была адаптирована IFCC; стандарты, приготовленные и охарактеризованные рабочей

группой, были приняты ВОЗ как первые международные референс-реагенты для шести молекулярных форм ХГЧ. Это обновление/дополнение международных стандартов позволит лучше понимать, что определяет каждая конкретная тест-система на ХГЧ, и, в конечном итоге, расширит границы клинического применения этих лабораторных исследований.

**32/465 Серологические маркеры во втором триместре беременности.**

Second trimester serum markers.

J.A. Canick, A.R. MacRae

Semin Perinatol., 2005; 29(4):203-208

PMID: 16104669

Пренатальный скрининг на синдром Дауна в начале второго триместра беременности с определением различных сывороточных маркеров применяется более 15 лет. Основным вариантом используемого в настоящее время биохимического скрининга является так называемый квадро-тест, включающий определение альфа-фетопротеина (АФП), неконъюгированного (свободного) эстриола (НЭ), хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и ингибина А; учитывается также и возраст матери. Этот тест выявляет до 80% патологии при частоте ложноположительных результатов 5%. Определение ингибина А - последнее дополнение биохимического скрининга второго триместра беременности. Ингибин А - гетеродимерный гормон (состоящий из  $\alpha$ -субъединицы и  $\beta$ А-субъединицы) плацентарного происхождения. Уровень ингибина А оценивали при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием двух моноклонов антител к  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицам ингибина. В числе прочих потенциальных скрининговых маркеров второго триместра беременности рассматривается одна из разновидностей ХГЧ - гипергликозилированный ХГЧ (гХГЧ, антиген инвазивного трофобласта), определяется его концентрация в моче и сыворотке крови беременных женщин. Данные недавних исследований свидетельствуют о том, что гХГЧ подобен ХГЧ, но определение его концентрации в моче беременных может повысить эффективность диагностики, осуществляемой при помощи стандартного биохимического скрининга. Несмотря на существование биохимического скрининга в первом триместре беременности и интегрального теста первого и второго триместров, многие беременные женщины не обращаются в родовые клиники до начала второго триместра. Таким образом, пренатальный биохимический скрининг на синдром Дауна во втором триместре беременности остается основополагающим в акушерской практике.

**33/466 SURUSS - исследование: перспективы.**

SURUSS in perspective.

N.J. Wald, C. Rodeck, A.K. Hackshaw, A. Rudnicka

Semin Perinatol., 2005; 29(4):225-235

PMID: 16104673

До публикации результатов скринингового исследования образцов сыворотки крови, мочи беременных пациенток и скринингового ультразвукового исследования плода (SURUSS) при сравнении пренатальных скрининг-тестов для выявления синдрома Дауна возникали затруднения из-за различий в дизайнах исследования. В данной работе представлены и обсуждаются основные результаты, полученные в ходе исследования при помощи SURUSS-тестирования. Методика SURUSS была несколько модифицирована, особое внимание уделено описанию диагностического значения измерения толщины воротничкового пространства (ТВП) плода при ультразвуковом сканировании для выявления синдрома Дауна.

**Методы.** В проспективном исследовании приняли участие 47 053 беременных одним плодом (включая 101 беременность плодом с синдромом Дауна). Обследование проводили в 25 родильных домах. При ультразвуковом исследовании измеряли ТВП плода. Забор образцов мочи и сыворотки крови осуществляли на сроке беременности 9 - 13 недель и повторно на сроке 14-20 недель. Образцы биологического материала от каждой пациентки и по 5 контрольных образцов были протестированы по всем используемым в настоящее время или предполагаемым к использованию скрининговым маркерам для выявления синдрома Дауна. Для того чтобы определить наличие или отсутствие синдрома Дауна, исследования проводили в динамике (по мере развития беременности).

**Результаты.** При 85% уровне выявления синдрома Дауна доля ложноположительных результатов интегрального теста составила 0,9%. Данный вид исследования включал оценку ТВП плода и уровень связанного с беременностью плазменного белка А (РАРР-А) на сроке беременности 11 недель, а в начале второго триместра беременности - определение уровня альфа-фетопротеина (АФП), неконъюгированного (свободного) эстриола (НЭ, uE3), общего хорионического гонадотропина (ХГЧ) или свободной  $\beta$ -субъединицы ХГЧ (св.  $\beta$ -ХГЧ) и ингибина А. Доля ложноположительных результатов интегрального теста без оценки ТВП (св.  $\beta$ -ХГЧ и РАРР-А) составила 2,7%, для комбинированного теста (ТВП, св.  $\beta$ -ХГЧ и РАРР-А на сроке беременности 11 недель) - 4,3%; квадрато-теста (АФП, НЭ, общий ХГЧ или св.  $\beta$ -ХГЧ и ингибин А) - 6,2%; только при измерении ТВП плода - 15,2%. Во всех вариантах исследований учитывали возраст матери. Положительные результаты комплексного тестирования являются показанием для проведения амниоцентеза. При 85% уровне выявления патологии при помощи интегрального теста потери плодов после амниоцентеза встречаются с частотой 6 на 100 000 беременных женщин, по сравнению с частотой 35 на 100 000 беременных для комбинированного теста или 45 на 100 000 беременных для квадрато-теста.

**Выводы.** Интегральный SURUSS-тест - наиболее эффективный и безопасный метод скрининга для беременных женщин в первом триместре беременности. За ним следует серологический интегральный тест. Оптимальным вариантом биохимического скрининга второго триместра беременности является квадрато-тест. Авторы данной работы не видят оснований для использования двойного (АФП и ХГЧ) или тройного (АФП, НЭ и ХГЧ) биохимических тестов, а также измерения только ТВП плода (с учетом или без учета возраста матери) при проведении пренатального скрининга на синдром Дауна.

### 34/467 Альфа-фетопротеин в прогнозировании осложнений у новорожденного.

О. А. Пустотина, Е. В. Гусарова, Н. Д. Фанченко, А. И. Мелько

ГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН.

Акушерство и гинекология, №1, 2006

**Цель исследования.** Изучить значение определения альфа-фетопротеина (АФП) в сыворотке крови матери, новорожденного и околоплодных водах (ОВ) в день родоразрешения для формирования групп риска по развитию осложнений у новорожденных детей.

**Материал исследования.** 125 женщин с доношенной одноплодной беременностью и их новорожденные дети. Кровь матери брали из локтевой вены в день родоразрешения, кровь плода - из пупочной вены в момент рождения. Пробы ОВ забирали путем трансвагинальной амниотомии в первом периоде родов или при амниоцентезе во время кесарева сечения.

**Методы исследования** - клиничко-анамнестические, функциональные, биохимические, гемостазиологические, микробиологические. Концентрацию АФП в сыворотке крови матери, новорожденного и ОВ определяли с помощью хемилюминесцентных тест-систем "Elecsis AFP" концерна "Хоффман Ля Рош" на автоматическом анализаторе.

**Результаты исследования.** Установлено, что при уровне АФП в пуповинной крови от 85000 до 110000 МЕ/мл в 81% случаев рождаются здоровые дети с оценкой по шкале Апгар 8-9 баллов. При концентрации АФП в крови роженицы в диапазоне 100-160 МЕ/мл здоровые дети рождаются в 77% случаев. Повышенный уровень АФП в крови роженицы и новорожденного в 64% случаев совпал с развитием у детей осложнений в раннем неонатальном периоде. Низкая концентрация АФП являлась наиболее неблагоприятным прогнозом для новорожденного. Она наблюдалась в 72-77% случаев рождения детей с признаками врожденной инфекции, задержки внутриутробного развития, постгипоксическими осложнениями. При беременности, протекавшей без патологии и завершившейся рождением здорового доношенного ребенка, в 94% наблюдений концентрация АФП в сыворотках пуповинной и материнской крови находилась в пределах нормы. При угрозе прерывания беременности, начальных признаках плацентарной недостаточности уровень АФП имел тенденцию к повышению; при гестозе, плацентарной недостаточности, сочетающейся с хронической гипоксией или задержкой развития плода, в основном отмечалась низкая концентрация АФП. Уровень АФП в сыворотке пуповинной крови в большинстве наблюдений коррелировал с таковым в материнской крови. Достоверной корреляции концентрации АФП в ОВ с течением беременности и состоянием новорожденных детей не выявлено, что обусловлено влиянием состояния околоплодной среды и проницаемости маточно-плацентарного барьера на этот показатель.

**Заключение.** Эмбриональный синтез АФП зависит от выраженности и длительности неблагоприятного воздействия на плод: на начальном этапе он активизируется, тогда как при массивном и/или длительном влиянии повреждающих факторов на плод происходит срыв компенсаторных механизмов у плода. Это сопровождается резким падением уровня АФП в сыворотке крови плода и



как следствие, в других средах. Определение концентрации АФП в день родоразрешения является высокоинформативным показателем для оценки состояния плода и прогнозирования развития осложнений у новорожденного.

### 35/468 Специфичность биохимических маркеров во втором триместре беременности.

Specificity of biochemical markers of pregnancy second trimester.

R. Salazar Lopez, A.L. Ibarra Gallardo, M. Iduma Melendrez, R. Leyva Bojorquez  
Ginecol Obstet Mex., 2007; 75(10):608-614  
PMID: 18800579

В случае наличия у плода трисомии по 21 хромосоме при проведении биохимического скрининга во втором триместре беременности медианы концентраций альфа-фетопротеина (АФП), неконъюгированного (свободного) эстриола (НЭ), свободной бета-субъединицы ХГЧ ( $\beta$ -ХГЧ) и ингибина А отличаются от нормальных значений. Этот факт необходимо учитывать при проведении пренатальной диагностики с целью выявления беременных с высоким риском рождения детей с врожденными и наследственными пороками.

**Цель исследования.** Оценить специфичность различных комбинаций биохимических маркеров в группе клинически здоровых беременных женщин во втором триместре беременности и определить пороговые уровни биохимических маркеров для пациенток с низким риском развития синдрома Дауна.

**Методы.** В ходе перекрестного рандомизированного исследования при проведении пренатальной диагностики у 363 беременных женщин оценивали специфичность различных комбинаций биохимических маркеров. Частоту развития синдрома Дауна и дефекта нервной трубки у плода для конкретного биохимического маркера определяли как выраженную в процентах долю истинноотрицательных или ложноположительных результатов в обследуемой популяции.

**Результаты.** В целом содержание  $\beta$ -ХГЧ варьировало на сроке 13-14 недель беременности, причем в 70% случаев от 23 000 до 70 000 единиц выявлено 1,38% ложноположительных результатов; уровень АФП колебался от 22 до 30 единиц, доля ложнопозитивных результатов составила 5,2%; концентрация свободного эстриола увеличивалась до 1,2-2,2 единиц во втором триместре с долей ложноположительных результатов 6,3%; в 70% случаев отмечено увеличение концентрации ингибина А до 125-4865 единиц, доля ложноположительных результатов достигла 10,44%.

**Выводы.** Биохимический скрининг демонстрировал более высокую специфичность при комплексном определении АФП, НЭ и  $\beta$ -ХГЧ. Наиболее специфичным при изолированном определении являлся АФП.

### 36/469 Акушерские осложнения, связанные с аномальным уровнем маркеров в материнской сыворотке крови.

Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes.

A. Gagnon, R.D. Wilson, F. Audibert, V.M. Allen, C. Blight, J.A. Brock, V.A. Desilets, J.A. Johnson, S. Langlois, A. Summers, P. Wyatt  
J Obstet Gynaecol Can., 2008; 30(10):918-949  
PMID: 19038077

**Цель исследования.** Провести обзор опубликованных литературных данных об акушерских осложнениях, связанных с повышенным или пониженным уровнем одного или нескольких материнских сывороточных маркеров, определяемых для выявления наиболее часто встречающихся анеуплоидий плода. Усовершенствовать руководство по тактике ведения беременных с аномальными уровнями одного или более маркеров и оценить полезность их использования в качестве скрининговых. Сравнить перинатальные исходы у беременных с аномальными уровнями сывороточных маркеров и у беременных с нормальными уровнями того же самого маркера или со среднестатистическими данными на популяционном уровне.

**Материалы и методы.** В базах данных Медлайн и Кокрановской библиотеки авторы провели поиск англоязычных медицинских статей (опубликованных в период с 1966 г. по февраль 2007 г.) об исследованиях материнских сывороточных маркеров и перинатальных исходах беременности. Критерии поиска включали исследования, касающиеся уровня PAPP-A (ассоциированного с беременностью протеина-А плазмы), альфа-фетопротеина (АФП), хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), эстриола, неконъюгированного (свободного) эстриола, ингибина А, биохимического скрининга по трем маркерам (тройной тест), биохимического скрининга по четырем маркерам (квадро-тест), интегрального пренатального скрининга, скрининга I триместра беременности и комбинированного пренатального скрининга. Были проанализированы все типы исследований. Рассматривали рандомизированные контролируемые испытания (характеризующиеся высоким уровнем достоверности данных) и когортные исследования. Приводятся основные данные о результатах исследований, на которых базируются рекомендации. Данные были оценены с использованием руководящих принципов, разработанных целевой группой по профилактической медицине Канады.

**Значимость.** Собранные данные были оценены комитетом по генетике общества акушеров и гинекологов Канады.

Оценка преимуществ, вреда и затрат. Ожидается, что усовершенствование руководства будет способствовать раннему выявлению возможных неблагоприятных исходов беременности и формированию групп риска по результатам биохимического скрининга материнских сывороточных маркеров. Это позволит стратифицировать риски и выбрать правильную тактику ведения беременных, ориентированную на устранение или минимизацию возможных неблагоприятных последствий. Потенциальный вред может быть связан с получением так называемых ложноположительных результатов (положительные результаты биохимического скрининга у пациенток с неосложненной беременностью) и с возможным стрессом, вызванным ошибочной диагностикой, а также необходимостью проведения исследований в данной ситуации. Затраты и выгоды проекта оценить невозможно.

#### Тезисы.

1. Необъяснимый уровень исследуемого маркера в материнской сыворотке крови определяют как "аномальный уровень" после проведения ультразвукового исследования (с целью подтверждения прогрессирующей беременности и уточнения предполагаемого срока беременности), обследования пациентки с целью исключения различных нарушений со стороны организма самой женщины, плода или

со стороны плаценты, т.е. причин, которые могли вызвать изменение уровня маркера.

2. Аномально высокий уровень биохимических маркеров может отмечаться при многоплодной беременности и зависит от числа развивающихся плодов. Самопроизвольная или оперативная редукция числа плодов при многоплодной беременности также может быть причиной аномально-го повышения биохимических маркеров.

#### Рекомендации.

1. Аномальное снижение уровня PAPP-A ( $<0,4$  МоМ) и/или уровня ХГЧ ( $<0,5$  МоМ) в первом триместре беременности ассоциировано с высокой частотой неблагоприятных исходов беременности; однако оптимальной тактики лечения на сегодняшний день не существует. Во втором триместре неблагоприятными признаками являются: аномально повышенный уровень АФП ( $> 2,5$  МоМ), ХГЧ ( $> 3,0$  МоМ), и/или ингибина-А ( $>$  или  $=2,0$  МоМ) или снижение уровня АФП ( $<0,25$  МоМ) и/или неконъюгированного эстриола ( $<0,5$  МоМ).

2. Беременные женщины с аномально высоким уровнем PAPP-A или ХГЧ в первом триместре беременности, а также с низким уровнем ХГЧ или ингибина-А, повышенным уровнем неконъюгированного (свободного) эстриола во втором триместре беременности должны получать стандартную дородовую медицинскую помощь, поскольку такие изменения уровней биохимических маркеров не связаны с хромосомной аномалией плода.

3. Сочетание во втором или третьем триместре беременности предлежания плаценты и аномально повышенного уровня АФП должно вызвать подозрение на приращение, врастание или прорастание плаценты. Необходимо провести дополнительные обследования, такие как УЗИ, МРИ (магнитно-резонансное исследование), а также доплеровское исследование маточно-плацентарного кровотока. При наличии серьезных оснований для подозрения аномалий развития важно правильно выбрать рациональную тактику ведения беременности и родов.

4. В тех случаях, когда обнаружено снижение уровня неконъюгированного (свободного) эстриола ( $<0,3$  МоМ), рекомендовано дородовое обследование в медико-генетической консультации, поскольку уровень этого маркера может быть связан с генетическими факторами.

5. Тактика ведения беременности при прогнозировании возможных неблагоприятных исходов должна базироваться на фактах определения аномального уровня одного или нескольких маркеров, а не на уровне (частоте) ложноположительных результатов скрининга трисомии 21 и/или трисомии 18.

6. Беременным пациенткам, находящимся на гемодиализе, или беременным с почечным трансплантатом должно быть предложено проведение биохимического скрининга, однако интерпретация результатов может вызывать затруднения, поскольку ХГЧ в этом случае не является надежным показателем патологии плода.

7. Сочетание нарушения маточно-плацентарной гемодинамики (выявленного с помощью доплерометрии) с повышенным уровнем АФП, ХГЧ или ингибина-А или пониженным уровнем PAPP-A характерно для беременных из групп высокого риска задержки внутриутробного развития плода (ЗВРП) и гестационной гипертензии с протеинурией. Допплерометрические показатели состояния кровотока в сосудах матки должны учитываться при выявлении

аномального уровня любого из этих маркеров.

8. Рекомендовано проведение дальнейших исследований для определения оптимального алгоритма обследования и тактики ведения беременных, отнесенных к группе высокого риска на основании аномальных результатов исследования сывороточных маркеров.

9. При отсутствии данных, предусмотренных настоящим руководством, акушеру-гинекологу необходимо скорректировать индивидуальный план наблюдения за течением беременности для выявления факторов риска развития патологических состояний матери и плода. Этот план может включать: обучение пациенток по расширенной программе (с акцентом на признаки и симптомы наиболее распространенных осложнений); увеличение частоты посещений врача до родов; расширение спектра ультразвуковых исследований (определение длины плода, объема амниотической жидкости); оценку состояния плода (биофизический профиль плода, доплерометрия состояния артериального и венозного кровотока); ультразвуковую оценку длины шейки матки.

10. Имеющиеся ограниченные данные свидетельствуют о том, что у женщин с повышенным уровнем ХГЧ во втором триместре и/или нарушением маточно-плацентарного кровотока (срок 22-24 недели) применение низких доз аспирина (60-81 мг ежедневно) способствует повышению массы плода при рождении и уменьшению числа случаев гестационной гипертензии с протеинурией. Эта терапия может быть рекомендована пациенткам групп риска.

11. Проведение дальнейших исследований рекомендуется для того, чтобы оценить эффективность применения низких доз аспирина и низкомолекулярных гепаринов (или других терапевтических доз препаратов) при повышенном риске неблагоприятных исходов беременности, установленном на основании аномальных показателей биохимических маркеров.

12. В настоящее время не рекомендовано использование вне установленного протокола комплексного биохимического скрининга в качестве популяционного для диагностики таких неблагоприятных исходов беременности, как преэклампсия, отслойка плаценты и мертворождение, по причине низкой чувствительности, большого числа ложноположительных результатов и отсутствия эффективной тактики ведения. В тех случаях, когда биохимический скрининг проводится для клинической диагностики наследственной патологии (анеуплоидии плода и/или дефект нервной трубки), выявление аномальных уровней маркеров может быть использовано для определения групп риска осложнений беременности и выбора тактики ее ведения. С целью снижения уровня материнской смертности и/или перинатальных потерь при проведении дальнейших исследований рекомендовано разработать более эффективные методы скрининга.

## Онкомаркеры

### 37/470 Сравнение семи тест-систем для количественного определения антигена СА 125 в сыворотке крови.

Comparison of seven immunoassays for the quantification of CA 125 antigen in serum.

E.M. Davelaar , G.J. van Kamp , R.A. Verstraeten , P. Kenemans

Clin Chem. 1998; 44(7):1417-1422

PMID: 9665418

Сравнивали клиническую эффективность семи иммуноферментных тест-систем для определения онкомаркера СА-125. В качестве тестов сравнения использовали две разновидности радиоиммунного теста Centocor - первого и второго поколения. Оригинальный вариант теста Centocor СА-125 включает два гомологичных моноклональных антитела ОС-125, которые используются и для захвата, и в качестве меченого антитела для детекции реакции. Тесты второго поколения содержат гетерологичные антитела, в этом случае в качестве иммуносорбента на твердой фазе вместо антител ОС-125 используются моноклональные мышиные антитела М11. Для связывания и детекции необходима коэкспрессия обоих эпитопов на одной молекуле антигена. Тесты первого поколения зачастую демонстрировали противоречивые результаты, в то время как совпадение результатов тестов второй генерации было гораздо выше. Кроме того, отмечены хорошие аналитические характеристики данной группы тестов. Таким образом, целью настоящего исследования было сравнение результатов тестов первого и второго поколений, а также сравнение их с тестами, использующими другие моноклональные антитела группы М11.

Уровень СА-125 определяли в 289 образцах сывороток крови, полученных от пациенток с доброкачественными опухолями тазовых органов (98 образцов сывороток) и от пациенток со злокачественными новообразованиями различной локализации (111 образцов).

Исследование показало, что тесты на СА-125 второго поколения, а также тесты, содержащие моноклональные антитела группы М11, демонстрировали высокое совпадение результатов друг с другом и с оригинальным диагностиком Centocor СА-125. Определение СА-125 играет важную роль при проведении дифференциальной диагностики рака яичников и доброкачественных опухолевых заболеваний органов таза при использовании его в комбинации с ультразвукографией или определением онкомаркера СА-15.3. Это также может быть полезным при проведении дифференциальной диагностики рака яичников от колоректальных злокачественных опухолей. Кроме того, определение СА-125 в сыворотке крови важно при оценке онкологического статуса после завершения первого этапа химиотерапии и сокращения объема первичной опухоли, для мониторинга заболевания у пациенток с раком яичников, для ранней диагностики рецидивов, для раннего прогноза эффекта первого этапа химиотерапии, а также в случаях применения препарата паклитаксел у пациенток с рецидивом рака яичников. Доказана значимость маркера СА-125 в диагностике прогрессирующего

эндометриоза, а также при мониторинге эндометриоза во время лечения агонистами гонадотропин-рилизинг гормонов.

У всех тестов в определяемом диапазоне концентраций 0-1000 кЕ/л коэффициенты линейной корреляции варьировали от 0,89-0,99. Практически у всех тестов (за исключением одного) при сравнении с оригинальным диагностиком производства Centocor первой генерации выявлена тенденция к завышению значений в нижнем диапазоне концентраций (0-100 кЕ/л) и к занижению концентраций в верхнем диапазоне. С клинической точки зрения систематическое занижение результатов в верхнем диапазоне не представляет проблемы, однако завышенные результаты в нижнем диапазоне могут иметь серьезные клинические последствия, особенно при использовании значения cut-off 35 кЕ/л. Этого не отмечалось при использовании в качестве сравнения теста Centocor СА-125 второй генерации. ROC-кривые при исследовании сывороток от пациенток с доброкачественными новообразованиями и пациенток с раком яичников, ранее получавших лечение, были примерно одинаковыми для всех тестов, площадь под ROC-кривыми практически не отличалась.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что новые тесты демонстрируют высокую степень совпадения результатов и являются надежным инструментом для количественного определения онкомаркера СА-125. Однако не выявлено более высокой диагностической точности тестов, а также их способности к дифференцировке доброкачественных изменений от злокачественных, особенно в диапазоне низких значений. Тем не менее, при проведении мониторинга заболевания у одной и той же пациентки на протяжении всего периода следует применять одни и те же методы (тесты).

### 38/471 Как интерпретировать результаты исследования сывороток на СА-125 при вовлечении в патологический процесс серозных оболочек? Клиническая дилемма.

How to interpret serum CA 125 levels in patients with serosal involvement? A clinical dilemma.

A. Sevinc , C. Camci , H.M. Turk , S. Buyukberber

Oncology., 2003; 65(1):1-6

PMID: 12837976

Определение уровня онкомаркеров в клинической практике лимитировано их низкой специфичностью. СА-125 - маркер рака яичников является чувствительным, но не специфичным онкомаркером, его определяют при проведении мониторинга эффективности терапии и раннего выявления рецидивов. Использование маркера СА-125 в качестве универсального диагностического инструмента ограничено в связи с тем, что антиген СА-125 синтезируется в мезотелии, выстилающем серозные оболочки (поверхности брюшины, плевры, перикарда). Поскольку повышенные уровни СА-125 в сыворотке крови чаще наблюдаются у больных раком яичников, заключительным этапом уточнения характера новообразования является диагностическая лапаротомия. Однако в литературе описаны случаи, когда во время лапаротомии у таких пациентов были обнаружены патологические изменения других внутренних органов (цирроз печени, туберкулезный перитонит или рак поджелудочной железы). Повышенные уровни СА-125 в сыворотке крови требуют

внимательного индивидуального подхода при планировании оперативного вмешательства, особенно при отсутствии видимого поражения. При обнаружении скопления жидкости (экссудата) в брюшной, плевральной или перикардиальной полостях необходимо проводить повторное определение уровня СА-125.

### **39/472 Оценка метода "ProstAsure index" для обнаружения рака предстательной железы: предварительный отчет.**

Evaluation of prostAsure index in the detection of prostate cancer: a preliminary report.

R.J. Babaian, H.A. Fritsche, Z. Zhang, K.H. Zhang, K.R. Madyastha, S.D. Barnhill  
Urology., 1998;51(1):132-136  
PMID: 9457308

**Цель исследования.** Несмотря на то, что внедрение онкомаркера ПСА в практику существенно изменило диагностику рака предстательной железы (РПЖ), данный метод имеет определенные ограничения, касающиеся его клинической чувствительности и специфичности. Поскольку у значительного числа (20-40%) мужчин, подвергшихся радикальной простатэктомии, уровень ПСА не превышает 4,0 нг/мл, каждый новый диагностический критерий, направленный на улучшение диагностики, должен одинаково хорошо "работать" как среди пациентов со значениями ПСА 4нг/мл и ниже, так и среди пациентов с уровнем ПСА, превышающим 4 нг/мл. В данном исследовании оценивали два диагностических критерия: индекс ProstAsure и соотношение свободного и общего ПСА.

**Методы.** Проводили ретроспективный анализ результатов исследования 225 образцов сывороток крови от пациентов-мужчин 3 групп: 94 пациентов с нормальными результатами пальцевого ректального исследования (ПРИ) и уровнем ПСА, не превышающим 4,0 нг/мл, 77 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) и уровнем ПСА не более 4,0 нг/мл и 54 пациентов с локализованным РПЖ. У этих пациентов определяли уровень ПСА (с использованием тестов Hybritech и Tosoh) и индекс ProstAsure в соответствии с рекомендациями Всемирной сети здоровья (Саванна, шт. Джорджия, США). ProstAsure представляет алгоритм, построенный с помощью нейронных сетей для анализа результатов определения сразу нескольких сывороточных онкомаркеров. Реализация данного алгоритма завершается получением некоторого значения (диагностического индекса), свидетельствующего о наличии или отсутствии рака. Для оценки эффективности использования этих двух критериев были построены характеристические кривые (ROC-кривые), под которыми вычисляли и сравнивали значения площадей.

**Результаты.** Чувствительность и специфичность метода выявления РПЖ с использованием индекса ProstAsure составили 95% и 81%, соответственно. Чувствительность и специфичность соотношения свободного ПСА к общему при cutoff 15% составили 80% и 74%, соответственно. При cutoff 19% чувствительность данного теста возростала до 93%, а специфичность снижалась до 59%. У пациентов с уровнем общего ПСА в сыворотке крови не более 4,0 нг/мл процент ложноположительных результатов при определе-

нии индекса ProstAsure был значительно ниже, чем в тесте на свободный ПСА с cutoff 19% у пациентов с наличием и без клинических признаков ДГПЖ и в тесте на свободный ПСА с cutoff 15% у пациентов без клинических признаков ДГПЖ. Доля (процент) недетектируемого уровня ПСА была также меньше при использовании индекса ProstAsure (7%), чем у теста на свободный ПСА с cutoff 15% (20%).

**Выводы.** Анализ ROC-кривых показал статистически достоверное ( $p=0,0023$ ) преимущество индекса ProstAsure перед определением соотношения свободного и общего ПСА для диагностики РПЖ.

### **40/473 Диагностическая ценность индекса соотношения ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub> в ранней диагностике рака предстательной железы.**

Current usefulness of free/total PSA ratio in the diagnosis of prostate cancer at an early stage.

C. Pfister, J.P. Basuyau  
World J Urol., 2005; 23(4):236-242  
PMID: 16096832

Цель данного исследования состояла в том, чтобы оценить пять различных тест-систем для количественного определения общего и свободного простатаспецифического антигена (ПСА) и оценить прогностическое значение индекса соотношения ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub> для диагностики рака предстательной железы (РПЖ) на ранних стадиях. Для дифференцирования доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) от РПЖ сравнивали показатели плотности ПСА и соотношений ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub>. В данное проспективное исследование в общей сложности было включено 120 пациентов с подозрением на РПЖ (концентрация общего ПСА от 4 до 15 нг/мл), наблюдаемых в течение 30 месяцев. На начальном этапе исследования всем пациентам был сделан анализ крови и произведена биопсия простаты. Исследование сывороток крови на ПСА<sub>общ.</sub> и ПСА<sub>своб.</sub> было выполнено с использованием пяти иммуноферментных тест-систем, производимых компаниями: IMX Abbott, Cryptor Brahms, Immulite DPC, IRMA Immunotech и IRMA Diasorin. Проводили сравнение чувствительности и специфичности данных тест-систем, а также пороговых значений ПСА с целью дифференцировки ДГПЖ и РПЖ. Различий между воспроизводимостью и коэффициентом вариации в разных тестах не обнаружено. Тем не менее, если в средних значениях уровня ПСА<sub>общ.</sub> были выявлены незначительные различия, то при определении значений ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub> была обнаружена значительная разница. Для ПСА<sub>общ.</sub> и ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub> были построены ROC-кривые (отношение чувствительности теста к специфичности). Площадь под кривыми не показала существенных различий между тестами ни для ПСА<sub>общ.</sub>, ни для ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub>. Пять тест-систем отличались незначительной сравнительной вариабельностью при определении уровня ПСА<sub>общ.</sub>, в связи с чем определение индекса ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub> не имело диагностической ценности для выявления РПЖ на ранних стадиях, особенно у пациентов с увеличенной ПЖ. Кроме того, не было найдено прогностического значения соотношения ПСА<sub>своб.</sub>/ПСА<sub>общ.</sub> для принятия решения о радикальной простатэктомии.

**41/474 EPCA-2 - высокоспецифичный маркер рака простаты.**

EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. E.S. Leman, G.W. Cannon, B.J. Trock, L.J. Sokoll, D.W. Chan, L. Mangold, A.W. Partin, R.H. Getzenberg Urology., 2007 Apr;69(4):714-720 PMID: 17445657

**Цель исследования.** Оценить чувствительность и специфичность раннего антигена (EPCA)-2 рака предстательной железы (РПЖ) в качестве маркера диагностики данного заболевания.

**Методы.** Исследовали образцы сывороток крови 385 пациентов. Среди пациентов были выделены следующие группы: 1) с уровнем простатаспецифического антигена (ПСА) менее 2,5 нг/мл; 2) с уровнем ПСА более 2,5 нг/мл с отрицательными результатами биопсии; 3) пациенты с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ), 4) больные с не выходящим за пределы органа раком простаты, 5) пациенты с распространенным раком и 6) пациенты с раком простаты и ПСА менее 2,5 нг/мл. Кроме того, была обследована контрольная группа. Для определения эпитопа EPCA-2 белка - EPCA-2.22 применялся ИФА.

**Результаты.** При использовании в качестве cut-off уровня EPCA-2.22, равного 30 нг/мл, специфичность составила 92% (95% ДИ 85-96%) у здоровых мужчин и у пациентов с ДГПЖ, при этом чувствительность у пациентов с различными формами рака составила 94% (95% ДИ 93-99%). Специфичность ПСА в отобранных группах составила 65% (95% ДИ 55-75%). Более того, EPCA-2.22 проявлял высокую точность в дифференцировке между локализованным и экстракапсулярным раком простаты ( $p < 0,0001$ ) по сравнению с ПСА.

**Выводы.** Результаты исследований показали, что новый маркер может использоваться для диагностики рака простаты и неопухолевого поражения предстательной железы, а также может применяться для прогнозирования распространенности опухолевого процесса.

**42/475 Опухолевый маркер CYFRA 21-1 при раке молочной железы.**

К. К. Пугачев, А. А. Соколов, З. Э. Азизова, Д. Ю. Рябов

Российский онкологический журнал, 2009, 1:26

В статье рассматриваются аспекты диагностической значимости теста CYFRA 21-1 в современной онкологической маммологии. Обнаружено, что чувствительность теста CYFRA 21-1 - 40,2% превышает как чувствительность теста раково-эмбрионального антигена, так и CA15-3 в аналогичных группах. Обращает на себя внимание высокая чувствительность теста CYFRA 21-1 (90,1%) при применении его у больных, страдающих метастатическим раком молочной железы. Не удалось выявить строгой корреляции между повышенным уровнем CYFRA 21-1 и формальными показателями стадии раковой болезни. Рассматривается положение, что послеоперационные высокие уровни CYFRA 21-1 отражают скрытое наличие так называемой

"остаточной болезни" ("residual disease"). В настоящем исследовании обнаружено, что высокие уровни CYFRA 21-1 имеют статистически значимую корреляцию с размером опухоли. В работе анализируются связи повышенных концентрационных параметров CYFRA 21-1 с наличием или отсутствием регионарных метастазов, свидетельствующие преимущественно об отсутствии статистических закономерностей (кроме слабой корреляции между выборками N0-1 и N2-3 в послеоперационный период). Высокие уровни CYFRA 21-1 с большой вероятностью определяются существованием "остаточной болезни", наличием скрытых очагов гематогенного метастазирования, эти параметры скорее ассоциированы с системным характером ракового заболевания молочной железы, но не с регионарным проявлением болезни. При учете гистологического показателя злокачественности опухоли и уровня CYFRA 21-1 было обнаружено ступенчатое возрастание количества пациенток с концентрациями маркера, превышающими дискриминационные уровни, от выборки с низкой к умеренной и далее к высокой степени гистологического показателя злокачественности опухоли.

**43/476 Значение уровня сывороточного белка S-100 при меланоме.**

Н. С. Сергеева, М. П. Мишунина, И. А. Силина, Н. В. Маршутина, Н. В. Богданова, Д. Д. Пак, И. В. Решетов, В. С. Сергеева, Т. Н. Лазутина  
Российский онкологический журнал, 2007, 4:13

Проведена оценка диагностической чувствительности и специфичности двух форм белка S-100: гомодимерной формы S-100bb и суммарной фракции S-100 (S-100ab и S-100bb) в качестве сывороточных маркеров меланомы. Уровни S-100bb и S-100 были исследованы в сыворотке крови у 73 и 146 человек, соответственно. В группы обследуемых входили больные с меланомой кожи и сосудистой оболочки глаза (первичные, в ремиссии и при прогрессировании заболевания), доноры, пациенты с пигментными невусами, с различными воспалительными заболеваниями и со злокачественными опухолями, отличными от меланомы. Дискриминационные уровни (ДУ) S-100bb и S-100 оказались равными 0,03 мкг/л и 0,127 мкг/л, соответственно. При этих ДУ выявлена высокая специфичность S-100 и S-100bb: в группе больных с невусами обе формы белка S-100 оставались в пределах нормы. Неспецифическое накопление в сыворотке S-100 наблюдалось при болезнях почек и при острой ревматической атаке. Чувствительность S-100bb при меланоме в целом оказалась сравнительно низкой (43,5%) и не зависела от стадии заболевания. Чувствительность суммарной фракции S-100, напротив, возрастала со степенью распространенности меланомы: от 23,1% при I стадии до 50% при IV стадии. В ремиссии уровень S-100 оставался в пределах нормы у 94% пациентов и повышался при прогрессировании меланомы у 50% больных.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования общей фракции S-100 в мониторинге больных с меланомой для доклинического выявления рецидивов заболевания.



## Вопросы качества лабораторных исследований

### 44/477 Система менеджмента качества в лаборатории: пути практического применения.

Laboratory quality management: a roadmap.

Berte L.M.

Clin Lab Med. 2007; 27(4):771-790

PMID: 17950897

*"Total quality management is a journey, not a destination."*

*Thomas Berry*

*("Система менеджмента качества - путешествие, а не пункт назначения". Томас Берри)*

### РЕЗЮМЕ

Деятельность лабораторий в Соединенных Штатах регламентируется большим количеством требований национальных, государственных и местных нормативов и положений, регламентирующих деятельность, в связи с чем отследить деятельность каждой организации в соответствии с изложенными требованиями на практике крайне затруднительно. К счастью, модель системы менеджмента качества (СМК), разработанная Институтом клинических и лабораторных стандартов (CLSI) и сформированная с учетом требований частных, регулирующих, аккредитационных и стандартизирующих организаций, представлена в простой и понятной форме. Такая организационная структура позволяет поддерживать систему качества в лаборатории, совершенствовать материально-техническую базу, процессы и процедуры, удовлетворяющие всем современным нормативным требованиям.

В этих документах описана СМК лабораторий. Понимание модульной структуры и использование ее для осуществления действий, отвечающих требованиям нормативных документов, дает возможность совершенствовать качество ежедневной работы лабораторий, действуя в интересах пациентов и соблюдая необходимые меры предосторожности для обеспечения безопасности. В данной статье рассматриваются отдельные элементы модели СМК и возможности использования этой модели для построения СМК лабораторий, включающей нормативные и аккредитационные требования, мероприятия по подготовке лабораторий к внеплановым проверкам, а также средства для улучшения качества услуг и повышения безопасности пациентов.

### ВВЕДЕНИЕ

Как Вы рассматриваете мероприятия, связанные с управлением качеством лабораторных исследований? Вы воспринимаете эту деятельность как одну из составляющих каждодневных практических исследований в лаборатории? Или Вы воспринимаете эту деятельность как дополнительную (нередко обременительную) работу, которую необходимо выполнять лишь потому, что это ре-

гулирующие и аккредитационные требования?

К сожалению, такое ошибочное мнение все еще доминирует на протяжении 18 лет - с тех пор, как Коллегия американских патологов впервые предложила использовать Q-зонды (Q-PROBES) для оценки эффективности и качества работы национальных лабораторий по данным репрезентативной выборки контролируемых параметров (Howanitz PJ, 1990).

Складывается впечатление, что значительная часть общества медицинских лабораторий до сих пор не понимает, что качество должно быть встроено в процесс лабораторных исследований для обеспечения гарантий качества медицинского обслуживания и безопасности пациентов (Food and Drug Administration, 1987). Многие лаборатории забывают об этом, сосредоточиваясь на конкретной цели (например, на получении аккредитации) вместо того, чтобы более тщательно планировать и "наслаждаться путешествием".

Если каждое путешествие начинается с первого шага, то путь к полному менеджменту качества должен начинаться с понимания степени сопоставимости результатов клинических лабораторных исследований, используемых при разработке, внедрении и поддержании системы менеджмента качества, и результатов качества текущей (рутинной) лабораторной работы для диагностики заболеваний и состояния здоровья пациента. К счастью, эти двусторонние взаимосвязи очень просты (это можно изобразить графически), они могут стать фундаментальной основой менеджмента качества и совершенствования работы клинических лабораторий, независимо от их производительности и штата сотрудников, специализации и географического местоположения.

Потребовалось немало времени, чтобы организационная структура двусторонних взаимоотношений между менеджментом качества и рутинной работой клинических лабораторий стала всесторонне продуманной. В США это стало возможным в 1992 г., когда Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) создало рабочую группу для решения проблем качества клинических лабораторных исследований, появившихся в связи со случаем инфицирования ВИЧ при переливании донорской крови из национального банка крови. FDA впервые призвало лаборатории банка крови обратить внимание на двойную взаимосвязь: действия по управлению качеством/ рутинные процедурные действия.

FDA, в конечном счете, представило руководство по контролю качества для банков крови (Food and Drug Administration; 1995), разработанное в дополнение к стандартам GMP FDA. Американская ассоциация банков крови и плазмы (ААБК и П) ответила на руководство FDA публикацией Программы качества (American Association of Blood Banks; 1994). Именно в этой программе соотношение между деятельностью по управлению качеством, введенной по требованию FDA в стандарты GMP, и рутинной ра-



ботой банков крови и плазмы было впервые представлено графически.

Персонал лабораторий при отделениях переливания крови вскоре осознал, что отношения между управлением качеством и рутинной лабораторной работой выходят далеко за пределы его деятельности и касаются также всех других клинических и патологоанатомических лабораторий. В 1999 г. национальный комитет по клиническим и лабораторным стандартам (National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS, США) (позднее, в 2005 г., был переименован в Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI), учитывая состояние и перспективы развития лабораторной службы, промышленных технологий и правительственных мер, создал первую модель СМК в сфере лабораторной медицины (NCCLS; 1999).

Эта модель была создана на основе инструкций, аккредитационных требований и стандартов лабораторной медицины того времени. В 2004 г. CLSI опубликовал обновление к своей модели СМК (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004), новый выпуск которой был намечен на 2008 г. Параллельно с формированием CLSI системы мер по управлению качеством лабораторных исследований в конце 1990-х, группа различных международных специалистов и экспертов (аккредитационных организаций, научных кругов, государственных и частных лабораторий) также начала перерабатывать (адаптировать) уже существующий международный стандарт для немедицинских лабораторий промышленных предприятий с целью использования в сфере лабораторной медицины (International Organization for Standardization; 1999).

Первым результатом стал международный стандарт ISO 15189 "Медицинские лаборатории. Частные требования к качеству и компетентности" (International Organization for Standardization; 2003). Этот международный стандарт, впервые изданный в 2003 г., призывает медицинские лаборатории всех стран мира внедрять СМК, обеспечивающую фундамент для поддержания высокого уровня лабораторных исследований и преемственность на этапах оказания медицинской помощи для гарантирования качества медицинского обслуживания и безопасности пациентов. Этот стандарт детально регламентирует требования процедуры управления качеством и требования, предъявляемые к рутинной деятельности лабораторий, необходимые для достижения общей цели. Несколько стран приняли этот документ в качестве своего национального стандарта и разработали программы аккредитации лабораторий, основанные на требованиях стандарта (один из примеров - Канада) (Quality Management Program Laboratory Services; 2005).

### Простая модель системы менеджмента качества в лаборатории

Работа медицинской лаборатории предусматривает выполнение ряда технологических операций, которые приводят к получению результатов лабораторных исследований, и действий, направленных на обеспечение и поддержание качества этих операций.

Персонал клинических лабораторий участвует в работе на всех этапах лабораторного исследования - преаналитическом (забор образцов, их доставка и хранение); аналитиче-

ском (собственно лабораторное исследование, измерение, расчет результата) и постаналитическом (оценка результата, оформление бланка с результатом, архивирование образцов исследуемого материала). Полученные результаты доводятся до сведения лечащего врача, используются им для постановки диагноза и назначения лечения пациенту.

Аналогично, работа заведующего лабораторией заключается в планировании, организации и координации инфраструктуры, необходимой для беспрепятственного выполнения лабораторных исследований. Комплексная координация организационно-управленческих мероприятий и практической деятельности важна для непрерывной, беспрепятственной реализации высококачественных, безошибочных и эффективных лабораторных операций. На рис. 1 представлена эта взаимосвязь между технологическими и организационными мероприятиями. Этот рисунок также демонстрирует модель СМК, которая может использоваться в клиничко-диагностических лабораториях.

В "Основах системы качества" (ОСК), первоначально введенных американской ассоциацией банков крови и плазмы (AABB; 1997) и принятых позднее NCCLS-CLSI (NCCLS; 1999), представлены фундаментальные основы и элементы инфраструктуры управления, поддерживающие практическую работу лаборатории. Каждый раздел ОСК включает совокупность положений, которые формируют основные организационные действия. Для успешной работы лаборатории необходимо, чтобы каждый раздел выполнялся должным образом.

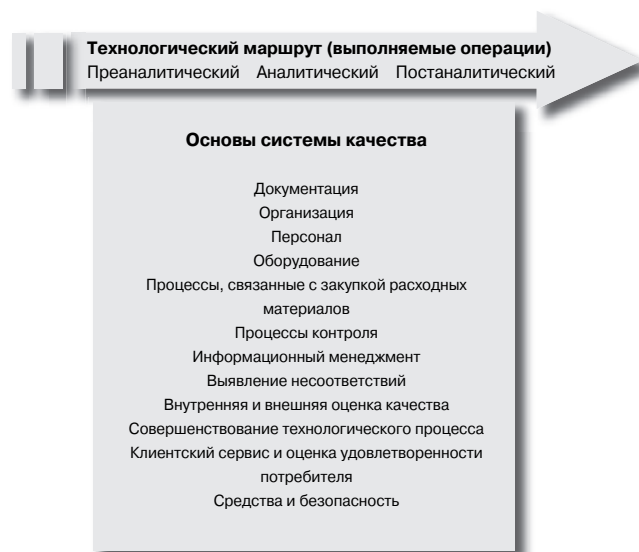


Рис. 1. Простая типовая модель системы менеджмента качества.  
(From CLSI. CLSI approved guideline HS 1: a quality system model for health care. 2nd edition. Wayne (PA): 2004. p. 4; with permission.)

В каждом из 12 разделов ОСК содержатся нормативные и распорядительные документы по аккредитации, стандарты и требования для лабораторий и банков крови. Состав каждого раздела ОСК был подготовлен с учетом всех встречавшихся ранее (приблизительно с 1997 г.), требований. Каждый пункт был вписан в наиболее подходящий раздел ОСК:

- Поправки к рекомендациям по совершенствованию работы клинических лабораторий 1988;
- Предложение FDA о введении стандартов правил надлежащей производственной практики (GMP);

- Стандарты объединенной комиссии для лабораторий;
- Списки контрольных материалов, составленные колледжем американских патологов;
- Стандарты американской ассоциации банков крови;
- Стандарты комиссии по аккредитации лабораторий

Этот сборник был выпущен (Abbott Quality Institute; 1997), а впоследствии стал первоначальной основой для стандартов (NCCLS; 1999) NCCLS-CLSI.

CLSI регулярно обновляет ОСК, вписывая каждый недавно опубликованный стандарт или требование в соответствующий раздел ОСК. Расширяя основы сотрудничества, CLSI включает новые разделы в ОСК, которые ранее отсутствовали в национальных (государственных) стандартах США, но были опубликованы в качестве требований международных стандартов ИСО 15189:2003 "Лаборатории медицинские. Специальные требования к качеству и компетентности" (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004). Аккредитирующие организации постепенно включают требования международных стандартов в свои соответствующие требования.

Директивы CLSI HS1-A2 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2nd edition; 2004) содержат требования, включающие 12 разделов ОСК, и дополнительную информацию о том, как осуществлять СМК. Директивы CLSI GP26-A3 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2nd edition; 2004) содержат требования, которым должны удовлетворять лабораторные исследования на преаналитическом, аналитическом и постаналитическом этапах. Лаборатории могут использовать оба документа, чтобы проверить на соответствие выполнение технических действий и документирование необходимого управления.

Эти два документа СМК для лабораторий сами по себе не являются стандартами; они представляют собой руководящие принципы на основе опубликованных требований. Это различие является важным: модель СМК CLSI не предусматривает дополнительных регулирующих требований к лабораториям в США, кроме уже существующих, а лишь систематизирует их так, чтобы каждая лаборатория на их основе могла построить свою политику внутрилабораторного контроля качества.

Следовательно, модель СМК является более легкой для понимания и осуществления менеджмента качества, который включает общее руководство и координирование деятельности лаборатории в соответствии с требованиями аккредитации. Другое преимущество модели СМК состоит в том, что она может адаптироваться к любым требованиям или стандартам. СМК постоянно обновляется. Лаборатория просто включает каждое новое требование в соответствующий раздел ОСК и затем анализирует существующую политику, процессы и процедуры для того, чтобы идентифицировать любые дополнения и изменения, необходимые для выполнения новых требований.

### Обеспечение системы менеджмента качества

Большинство лабораторий уже работает по принципам менеджмента качества, включающего компоненты СМК. Однако без стандартизации СМК на местах не все необходимые действия менеджмента выполняются в каждой лаборатории, а те, которые выполняются, не являются однородными в пределах отдельной лаборатории.

Результатами изменений в практике менеджмента могут быть: неэффективность использования ресурсов, невозможность аккредитации и несоответствие нормативным требованиям. СМК, как унифицированное, систематизированное средство для достижения высокого качества процессов менеджмента в любой лаборатории, позволяет гарантировать соответствие требованиям стандарта в каждом подразделении лаборатории, ежедневно, при выполнении каждой процедуры.

Далее в этой статье обсуждается возможность внедрения системы менеджмента как при организации новой лаборатории, так и в действующей лаборатории, планирующей внедрение новых (или дополнительных) исследований. Далее приводится пример менеджмента при включении новых исследований (видов услуг) в практику действующей клинической лаборатории. Необходимо отметить, что это не исключает совершенствования СМК текущей деятельности лаборатории.

Прежде чем новое исследование будет внедрено в лабораторный менеджмент в логической последовательности, должны быть включены необходимые инфраструктурные элементы, характеризующиеся определенной однородностью:

- Основные процедуры на преаналитическом, аналитическом и постаналитическом этапах исследования и процедуры нового (внедряющегося) исследования должны быть сопоставимы;
- Должны быть определены должностные обязанности и взаимодействие всего персонала лаборатории, задействованного в новом исследовании;
- Должен быть определен круг потенциальных клиентов, изучены их потребности и ожидания от нового исследования (услуги);
- Все модификации проекта (новых видов исследования) должны быть адекватными с научной и медицинской точек зрения;
- Необходимо выбрать подходящее место, подобрать персонал, установить и наладить оборудование, приобрести расходные материалы для нового исследования;
- Определенные процедуры преаналитического, аналитического и постаналитического этапов исследования должны быть сформированы, четко прописаны, утверждены и зарегистрированы;
- Должен оцениваться базовый профессиональный уровень, проводиться подготовка и обучение персонала;
- Лаборатория должна установить процедуру оформления результатов лабораторных исследований при внедрении нового вида исследования;
- При введении нового вида исследований в лаборатории должны быть предусмотрены процедуры регистрации, рассмотрения и разрешения претензий, устранения несоответствий;
- Должны быть оценены общие эксплуатационные характеристики лаборатории, чтобы определить, позволяют ли они достичь намеченной цели (внедрения нового вида исследования) и удовлетворять потребности клиента;
- В лаборатории должны быть регламентированы процедуры контроля качества нового исследования;
- Наконец, должны быть предусмотрены возможности для совершенствования технологических процессов лаборатории, выявлены проблемные области и расставлены приоритеты при совершенствовании процессов.

Только после того, как все элементы лабораторного менеджмента собраны в единое целое и способны функционировать, можно приступать к внедрению нового метода исследований в клиническую практику.

Один из вариантов организационной структуры (с учетом внесения некоторых изменений в модель СМК) представлен на рис. 1.

Ее модификация, отражающая три составляющие ОСК: (1) организационная и управленческая структура лаборатории, (2) виды деятельности и (3) измерения, представлена на рис. 2. Все компоненты образуют целостную динамическую структуру.



**Рис. 2.** Систематизация разделов ОСК для модели СМК в логически упорядоченной последовательности (*Adapted from CLSI. CLSI approved guideline HS1: a quality system model for health care. 2nd edition. Wayne (PA): 2004; with permission.*)

Лаборатория может разрабатывать и внедрять СМК, определять политику и стратегию, процессы и процедуры при последовательном выполнении этих трех составляющих ОСК (рис. 2). Такой подход эффективен также и при планировании любого нового исследования, или проведении исследований в двух (и более) медицинских лабораториях, или при создании нового юридического лица при слиянии учреждений (организаций).

Для разъяснения последовательной организации работ по созданию модели СМК далее описываются отдельные подразделы каждого из разделов ОСК. Каждый подраздел содержит регулирующие, аккредитационные и установленные стандартами требования к организации и деятельности лаборатории.

### Основы системы качества в лаборатории

#### Организационная структура

Лаборатория или организация, в состав которой она входит, должна иметь статус юридического лица, организационную структуру и утвержденный план работы, которые гарантировали бы качество оказываемых услуг и безопасность для пациентов и персонала лабораторий (International Organization for Standardization; 2003). В документе "Описание организационной структуры" и в плане должны быть отражены:

- Сфера деятельности,
- Штат сотрудников, круг должностных обязанностей и алгоритм взаимодействия,
- Планирование работ по качеству и оценка степени риска,

- Составление бюджета на основе вводимых ресурсов,
- Порядок контроля качества,
- Порядок (процедуры) менеджмента качества.

Объем и перечень предоставляемых лабораторией услуг должен быть четко прописан, перечислены все виды лабораторных диагностических исследований и категории обслуживаемых клиентов (пациентов). Должностные инструкции персонала, определяющие их служебные обязанности и ответственность, а также алгоритм взаимодействия, должны быть утверждены и доведены до сведения всех сотрудников. Планирование мероприятий по повышению качества и оценка степени риска в лаборатории должны проводиться для того, чтобы постоянно поддерживать свое соответствие критериям аккредитации и требованиям нормативных документов (с учетом направленности лаборатории, особенностей деятельности или внедрения новых процессов и процедур). Осуществлять планирование материально-технических, финансовых ресурсов, оборудования, оснащения, а также кадровое планирование необходимо для гарантии более полного удовлетворения потребностей клиентов. Требование СМК к менеджменту лабораторий заключается в периодической оценке эффективности системы для удовлетворения потребностей клиентов, соответствия поставленным целям и предъявляемым требованиям (ISO 15189, 2003; ISO 9001; College of American Pathologists, 2006; AABB, 2006). Все это будет способствовать установлению приоритетов в деятельности лаборатории, поиску возможностей совершенствования, рациональному расходованию ресурсов, внедрению изменений и введению мониторинга эффективности (качества).

#### Средства и безопасность

Рабочие помещения лаборатории должны иметь достаточные площади и средства (возможности) для того, чтобы планировать и организовывать (или модифицировать) работу для достижения ее наибольшей эффективности; минимизировать риски возникновения производственного травматизма и профессиональных заболеваний; обеспечить безопасность персонала, посетителей и пациентов; удовлетворять требованиям государственных стандартов или стандартов промышленной безопасности, охраны труда и окружающей среды. Ниже приведен перечень некоторых структурных и неструктурных элементов, используемых при планировании (проектировании) лабораторий, касающихся расположения здания и помещений лаборатории, обеспечения безопасности и охраны труда (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007)

- Местоположение
- Технологический (рабочий) процесс
- Изучение условий труда
- Размещение оборудования
- Систематизация
- Вентиляция
- Отопление
- Освещение
- Водопровод
- Электроснабжение
- Коммуникации

Структуризация необходима для обеспечения гарантированной безопасности и надежности функционирования системы управления. Поддержание общего порядка и чистоты рабочих помещений, обеспечение эффективного ад-

министративного руководства (управление и организация работы) в крупных организациях способствуют привлечению квалифицированных специалистов и вспомогательного персонала. В лаборатории должно быть специальное место для хранения расходных материалов; реагентов и химических реактивов; образцов биологических материалов, полученных от пациентов (клинических образцов), и препаратов, полученных из клинических образцов, таких, например, как биоптаты и сохраненные мазки.

Охрана здоровья и безопасность выполняемых процедур - неотъемлемая часть системы здравоохранения. Существует несколько программ (мер, правил) по обеспечению безопасности, требования которых необходимо строго соблюдать в лаборатории:

- Программа (план) подготовки к чрезвычайным ситуациям (таким как пожар, экстремальные климатические условия, стихийные бедствия, аварии);
- Универсальные меры безопасности (U.S. Government Printing Office, published annually);
- Опасные отходы (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2002);
- Правила безопасности при работе с химическими веществами (U.S. Government Printing Office, published annually);
- Правила обеспечения инфекционной безопасности (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003);
- Меры по защите работающих от воздействия произ-

водственных вредностей и производственного травматизма (U.S. Government Printing Office, published annually, Centers for Disease Control and Prevention, 2001);

- Меры по обеспечению радиационной безопасности (в случаях необходимости) (University of Illinois, 2006);
- Эргономические основы охраны труда (College of American Pathologists; 2006)

Обязательным требованием каждой из этих программ является обучение каждого сотрудника мерам безопасности, в зависимости от поставленных перед ним задач и выполняемых функций.

#### Персонал

Как только будет утверждена организационная структура, определено месторасположение лаборатории и сфера деятельности, следующим важным этапом является подбор персонала лаборатории. Безусловно, без квалифицированного, обученного и компетентного штата сотрудников, участвующих в проведении исследований, не может быть обеспечена качественная работа лаборатории.

В поправках к инструкции о совершенствовании работы клинических лабораторий от 1988 г. (U.S. Government Printing Office, published annually) определены минимальные требования к квалификации и должностным обязанностям при проведении лабораторных исследований умеренной и высокой степени сложности. Перечень должностей, для которых существуют национальные профессиональные стандарты, представлен в таблице 1.

Таблица 1

### Перечень должностей сотрудников клинико-диагностической лаборатории. Усовершенствованные профессиональные стандарты, 1988 г.

Специализированные микроскопические исследования	Простые исследования	Сложные исследования
Руководитель лаборатории	Руководитель лаборатории	Руководитель лаборатории
Лабораторный персонал (сотрудники лаборатории, проводящие исследования)	Технолог - консультант Клиницист-консультант Лабораторный персонал (сотрудники лаборатории, проводящие исследования)	Технолог - контролер Клиницист-консультант Руководитель группы клинических лабораторных исследований Лабораторный персонал (сотрудники лаборатории, проводящие исследования) Руководитель группы цитологических исследований Специалист-цитолог

В случае необходимости руководство лаборатории должно обеспечивать постоянное профессиональное обучение или повышение квалификации персонала. Колледжем американских патологов были разработаны квалификационные требования, должностные обязанности, права и ответственность руководителя лаборатории, клиницистов-консультантов и технологов-консультантов (которые оцениваются при периодических проверках деятельности лаборатории) (College of American Pathologists; 2006). Все квалификационные требования и обязанности и ответственность персонала должны быть прописаны в должностных инструкциях сотрудников лаборатории; каждый сотрудник должен знать конкретную сферу своей деятельности и нести за нее ответственность. Каждый вновь принимаемый в лабораторию сотрудник обязан пройти вводный инструк-

таж и ознакомиться с соответствующей должностной инструкцией. Примерный перечень основных вопросов программы вводного инструктажа:

- Политика лаборатории в области качества;
- Направленность деятельности лаборатории;
- Ценность и значение проводимых исследований;
- Цели и задачи лаборатории;
- Должностные обязанности, требования к знаниям и квалификации;
- Основные правила работы в клинико-диагностической лаборатории.

Независимо от предыдущего опыта работы, все сотрудники лаборатории обязаны пройти соответствующее обучение всем основным видам и процедурам клинического исследования в соответствии с возложенными на

них обязанностями. Критерии аттестации уровня компетентности сотрудников (базового уровня подготовки, переподготовки и повышения квалификации) приведены ниже (College of American Pathologists; 2006; U.S. Government Printing Office, published annually):

- Непосредственное наблюдение за выполнением рутинных операций (процессов и процедур);
- Непосредственное наблюдение за состоянием (исправностью) оборудования и контроль за его функционированием;
- Мониторинг регистрации данных и отчетов о результатах исследований;
- Составление аналитического отчета по результатам исследований;
- Выявление затруднений и проблем в приобретении практических навыков;
- Правила обращения со специальными образцами, такими как сохраненные образцы, образцы сравнения для межлабораторных исследований и поврежденные образцы.

Для поддержания высокого уровня профессиональной компетентности сотрудников лаборатории постоянно должно проводиться обучение по программам дополнительного профессионального образования и повышения квалификации (ISO standard 15189 International - Organization for Standardization; 2003; College of American Pathologists; 2006). По результатам прохождения профессиональной переподготовки и повышения квалификации (внутри или вне лаборатории) специалисты получают документ (диплом); сведения вносятся в личные дела сотрудников. Кроме того, руководитель лаборатории должен взаимодействовать с вышестоящими организациями по вопросам организации и проведения иммунизации сотрудников, оплаты больничных листов, расчета и начисления заработной платы.

#### *Оборудование*

Для правильного проведения исследований, определенной областью аккредитации лаборатории, она должна быть оснащена собственным оборудованием, средствами измерений, а также расходными материалами (химическими реактивами, веществами и др.) Процессы, программы и процедуры, описанные в ОСК, определяют порядок оснащения лабораторий основным оборудованием, инструментарием, аналитическими системами, компьютерной техникой и программным обеспечением. Специалистов лаборатории необходимо привлекать к рассмотрению вопросов о приобретении необходимого (особенно дорогостоящего) оборудования, поиску надежных производителей и поставщиков оборудования. При закупке оборудования необходимо знать технологические и эксплуатационные возможности лаборатории: удобство размещения, наличие в помещении электрических сетей и системы вентиляции, возможность поддержания необходимого температурного режима, соблюдения требований, предъявляемых к качеству воды, и других специальных условий. После поставки оборудования (до начала монтажных работ) каждая единица оборудования, предназначенного для исследования или измерения, должна быть зарегистрирована. В регистрационных документах (лист, карта, формуляр и др.) должны указываться определенные характеристики (модель оборудования, серийный (заводской) номер, дата изготовления, инвентарный но-

мер), наличие эксплуатационной документации (паспорт, гарантийный талон), дата получения и ввода в эксплуатацию, состояние на момент получения. До начала проведения клинических лабораторных исследований оборудование должно быть проверено на предмет готовности к работе в реальных условиях. Необходимо также обеспечить условия гарантийного сервисного обслуживания оборудования и четко прописать его условия в договоре. С этой целью заключается официальное соглашение, где определяются обязанности каждой стороны. При необходимости соглашение может обновляться, в соответствии с потребностями лаборатории и возможностями поставщика. В лаборатории должны быть составлены планы-графики эксплуатационного (профилактического) обслуживания оборудования в соответствии с инструкциями производителя, графики проведения проверок средств измерений, сведения о которых регистрируются в специальных журналах. В журналах необходимо также регистрировать сведения о выявленных неисправностях, проведенном ремонте (в том числе капитальном) и техническом обслуживании оборудования. Любые возможные изменения каждой единицы оборудования должны быть прослежены в процессе эксплуатации (от момента его приобретения) и отражены в журналах, что необходимо для определения амортизации и списания оборудования в будущем.

#### *Обеспечение (снабжение) расходными материалами и инвентарем*

До того как какой-либо новый вид исследования или этап (операция) технологического процесса будут внедрены в повседневную практику лаборатории, необходимо обеспечить снабжение лаборатории всеми необходимыми расходными материалами и реактивами. Система обеспечения качества клинических лабораторных исследований требует создания эффективной системы поставок и сервиса. Лаборатория должна своевременно снабжаться необходимыми расходными материалами в соответствии с утвержденным планом их поставки. В лаборатории всегда должен быть запас реактивов и расходных материалов в соответствии с ее функциями и уровнем, что важно для обеспечения гарантии качества проводимых исследований.

### **Основные элементы системы качества**

#### *Управление процессами*

Внутрилабораторный контроль качества предполагает контроль на всех этапах лабораторного исследования: преаналитическом, аналитическом и постаналитическом. Процесс контроля качества начинается с определения, описания и документирования основных лабораторных операций. В статье приводится краткий обзор лабораторных операций с примерами (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004).

Составленные должным образом структурные блок-схемы лабораторного процесса наглядно демонстрируют последовательность действий персонала, необходимых для выполнения должностных обязанностей. Такой подход к организации лабораторных исследований ускоряет процесс документирования отдельных процедур. В целом, организация процесса и документирование процедур формируют базу для создания руководств (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006).



До начала практического воплощения в жизнь какого-либо нового процесса исследования должно быть проведено планирование мероприятий по обеспечению качества клинических лабораторных исследований в соответствии с нормативной документацией.

Все испытания, проводимые персоналом лаборатории, должны выполняться в соответствии с утвержденными методиками. Внедряемые в практику аналитические методики также должны быть аттестованы (валидированы). Полученные результаты испытаний должны оформляться документально с тщательной проверкой всех внесенных данных. Все расчеты должны тщательно проверяться. Кроме того, в клинической лаборатории должен проводиться входной контроль лабораторных тестов, оборудования, расходных материалов и методик работы персонала на соответствие установленным требованиям (сертификатам соответствия производителей). Некоторые руководящие принципы и их методы призваны помочь лабораториям в организации проведения такого рода проверок (Clinical and Laboratory Standards Institute; 2002 - 2006).

Основная цель программ контроля качества - обеспечение контроля качества клинических лабораторных исследований на должном уровне. В лаборатории должны соблюдаться установленные требования к качеству методов исследования; причем как требуемый минимум контроля качества (Centers for Medicare and Medicaid Services, Department of Health and Human Services), так и требования производителей.

Использование методов и инструментов статистического анализа позволяет визуально оценить качество проводимого исследования, а также предпринять своевременные действия для предотвращения проблем (ISO standard 15189, 2003).

#### *Документы и отчеты*

В основе СМК лаборатории лежит политика в области качества, документирование процессов и процедур, ведение отчетности, что обеспечивает получение объективных данных по функционированию СМК. Зачастую в ходе проведения аудитов выявляется, что в документации и отчетах лаборатории информация отражается не в полной мере или иногда содержится устаревшая или неверная информация; все эти проблемы могут приводить к ошибкам, влияющим на качество и безопасность лабораторных услуг. Управление документами и записями (отчетами) в лаборатории в настоящее время должно включать следующие процессы (ISO standard 15189, 2002; Laboratory Accreditation Program, College of American Pathologists; 2006; AABV; 2006):

- Элементы управления (контроля) документацией
- Идентификация документа
- Создание, согласование и утверждение новых документов
- Основные папки документов
- Внесение изменений в ранее утвержденный документ, согласование и утверждение в соответствующем порядке
- Периодический просмотр неизменившихся документов
- Проведение индексации документов
- Классифицирование документов
- Архивирование, хранение и утилизация устаревших документов
- Элементы управления записями
- Идентификация записей
- Создание, точность и полнота записей

Ознакомление с записями (отчетами, протоколами)

Проведение индексации записей

Доступ к записям (отчетам)

Внесение изменений в записи (отчеты)

Накопление и хранение записей

Размещение записей (отчетов, протоколов)

Приемлемо оформление документов на бумажном и/или электронном носителех при условии, что документы будут доступны для всех сотрудников в случае служебной необходимости.

#### *Информационный менеджмент*

В ОСК лабораторий определены требования к структуре и функционированию информационной системы, включающей порядок создания и ведения записей на бумажном и электронном носителях. Базы данных содержат полный набор демографических данных пациентов, результаты диагностических осмотров, сведения о дате проведения и результатах лабораторных и других исследований, их интерпретацию и другую персональную информацию о пациентах. Лаборатория должна соблюдать конфиденциальность медицинской информации о пациентах, ограничивать доступ к персональным данным, обеспечить безопасность при обмене информацией (в письменном и электронном виде), а также обеспечить сохранность этих данных. Также в лаборатории должна быть предусмотрена возможность получения результатов анализов (и другой информации) при отключении компьютерной техники.

Кроме того, в ОСК содержатся требования, касающиеся предотвращения финансовых злоупотреблений и страхового мошенничества, в том числе среди лиц, пользующихся льготами в рамках государственных программ медицинского страхования (например, "Медикэр" и "Медикэйд").

#### **Система оценки и контроля качества**

Контроль качества клинических лабораторных исследований - это создание и регулярное осуществление системы мероприятий для выявления и предотвращения недопустимых погрешностей, которые могут проявиться в процессе выполнения лабораторных исследований. Система контроля качества основана на принципах стандартизации всех этапов лабораторного исследования и анализе результатов внутрилабораторного контроля качества и внешней оценки качества.

#### *Внешняя оценка качества исследований и внутрилабораторный контроль качества*

Повысить качество лабораторных услуг (клинических лабораторных исследований) невозможно без изменения повседневной рутинной работы. Внешняя и внутренняя части оценки качества проводимых исследований дают объективную информацию о работе лаборатории и определяют степень соответствия поставленным целям. Лаборатории должны использовать три типа процедур при осуществлении внешней оценки (контроля) качества исследований:

- 1) лицензирование или аккредитация,
- 2) профессиональное тестирование,
- 3) межлабораторные исследования.

Во-первых, участие лабораторий в системе внешней оценки качества учитывается при лицензировании и аккредитации (например, такими лицензирующими агент-



ствами, как центры медицинского обслуживания "Медикэр" и "Медикэйд", в соответствии с положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA), 1988 или аккредитующими организациями, такими как экспертная организация в области здравоохранения "Joint Commission International (JCI)", Колледж американских патологов или Комиссия по управлению аккредитацией лабораторий (COLA)). Эти организации оценивают лаборатории на соответствие определенным требованиям, идентифицируют проблемы и несоответствия, которые требуется устранить для получения лицензии или аккредитации лаборатории. Второй тип внешней оценки качества - профессиональное тестирование, при котором проводятся процедуры независимой оценки технической компетентности лабораторий путем сравнения результатов, полученных при межлабораторных исследованиях идентичных "слепых" тестовых материалов (контрольных лабораторных тестов или образцов исследуемых материалов), подготовленных или присланных внешней (экспертной) организацией. Полученные результаты сравнивают с результатами исследований других лабораторий, использующих аналогичные методы и оборудование (Centers for Medicare and Medicaid Services, Department of Health and Human Services; Code of Federal Regulations).

Третий тип внешней оценки качества предусматривает проведение межлабораторных сравнительных испытаний, при которых проводят сравнение результатов исследований двух или нескольких лабораторий (аналогичных по сфере деятельности, объему выполняемых исследований и условиям работы) в соответствии с заранее установленными условиями. Колледж американских патологов использует две таких программы - Q-PROBES и Q-TRACKS.

Обычно лаборатории практикуют два типа внутрилабораторного контроля качества: контроль за качественными характеристиками процесса измерения и лабораторный аудит. Качественные характеристики процесса измерения отслеживаются с использованием графических инструментов, таких как диаграммы контроля. В идеале, лаборатория идентифицирует один (или более) показатель, чтобы определить критерии качества преаналитического, аналитического и постаналитического этапов работы. Существует достаточно много примеров определения лабораторных показателей (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004; Laboratory Accreditation Program, College of American Pathologists; 2006).

Лабораторный (внутренний) аудит проводится для определения соответствия деятельности лаборатории требованиям системы качества и представляет собой процесс проверки (оценки) соответствия фактических условий установленным нормативам, подготовку и представление заключения по результатам проверки руководству (American Society for Quality Press; 2006). В лабораторной практике любой этап исследования (преаналитический, аналитический, постаналитический) или процесс управления может быть проверен с целью определения соответствия установленной политики лаборатории в области качества (всех процессов и процедур) требованиям аккредитации и технического регулирования. Колледж американских патологов использует методы необъявленных проверок лабораторных процессов, которые носят название "следование за образцом" (Laboratory Accreditation Program, College of American Pathologists;

2006). В результате проведения аудита выявляются основные проблемы (несоответствия), требующие корректирующих действий.

#### *Клиентский сервис*

Лаборатория оказывает пациентам (клиентам) услуги по забору крови для анализа, проводит ее тестирование, получает результаты, интерпретирует их и сообщает результаты исследований врачам-клиницистам, ведущим этих пациентов. Обеспечение адекватных методов контроля качества работы лаборатории и качества измерений требует установления активной обратной связи с потребителями (пациентами), которая основывается на отзывах клиентов и определяется степенью их удовлетворенности оказанными лабораторными услугами (Laboratory Accreditation Program, College of American Pathologists; 2006). Кроме того, центральная лаборатория может сотрудничать с другими лабораториями, выступающими в качестве внешних клиентов. Центральная лаборатория обычно проводит оценку удовлетворенности клиентов этих лабораторий с использованием информационно-справочных служб. Также при помощи механизма обратной связи должна периодически оцениваться удовлетворенность сотрудников лаборатории своей работой.

#### *Процесс совершенствования*

Оценка и контроль процесса лабораторной работы открывает большие возможности для его совершенствования. Использование разнообразных методов контроля качества (профессиональное тестирование, оценка внештатных ситуаций, внешняя и внутренняя оценки качества, межлабораторные сравнительные исследования, лабораторный аудит и механизм обратной связи по изучению удовлетворенности клиентов) дает возможность наиболее полно оценить преаналитический, аналитический и постаналитический этапы исследований и выявить имеющиеся несоответствия (проблемы) или потенциальные источники несоответствий, которые могут возникнуть, если не предпринимать профилактических мер.

Информацию о деятельности лаборатории необходимо регулярно предоставлять в вышестоящий орган с целью разработки мероприятий для решения проблем и установления приоритетов при распределении ресурсов для решения этих проблем и задач. Должны быть созданы рабочие группы по подготовке предложений по совершенствованию процессов и решению выявленных проблем, назначены ответственные лица. Существует несколько инструментов контроля качества для того, чтобы определить первопричину различных проблем и возможные варианты их решения. На основе инструментов контроля качества немедицинской (производственной) сферы были разработаны инструменты контроля качества для учреждений здравоохранения, в том числе "Анализ видов и последствий потенциальных отказов", "Без излишеств" и "Шесть сигм". Метод "Анализ видов и последствий потенциальных отказов" - инструмент, используемый для анализа действий в процессе работы, обнаружения "слабых мест", потенциальных и фактических рисков или отказов. Оценка риска производится в отношении "слабых" (уязвимых) мест процесса по совокупности показателей, определяющих вероятность появления и серьезность последствий потенциальных отказов, после вычисления которых расставляют приоритеты. Регулирование процесса способно уменьшить или устранить риски и улучшить результаты (Stamatis DH, 2003).

"Без излишеств" или "Бережливое производство" (Lean) - метод снижения ненужных трат, который сначала применен, а позже сформулирован в Toyota Production System (в Системе производства компании Toyota, которая является одной из самых успешных систем менеджмента качества в мире) (Liker J., 2004). Компании - производители медицинского оборудования и бизнес-консультанты предлагают консалтинговые услуги по применению метода "Без излишеств и потерь" в лабораториях, и многие понимают, что более эффективная пропускная способность означает увеличение способности лаборатории к большому количеству исследований, часто без привлечения дополнительных ресурсов (Condel JL, Sharbaugh DT, Raab SS, 2004; McDowell J, 2005; Joseph TP, 2006).

Методология "Шесть Сигм" - это методология, служащая для измерения и повышения производительности предприятия посредством определения и выявления дефектов в процессе деятельности или предоставления услуг. "Шесть Сигм" использует доказательные статистические методы - качественный и количественный анализ - для уменьшения варибельности процессов и ошибок; "шесть сигм" - таков уровень эффективности процесса, при котором на каждый миллион возможностей или операций приходится всего 3,4 дефекта. При этом дефектом считается все, что не согласуется с требованиями и важными факторами удовлетворенности потребителя (Brasard M, Finn L, Ginn D, et al., 2002). Пять основных этапов (шагов) концепции "Шесть Сигм" (определение, измерение, анализ, совершенствование и контроль), включающих измерение, статистический анализ и контроль качества, позволяют отслеживать связи между уровнем качества, уровнем затрат и уровнем управления (степенью ответственности). Методология "Шесть Сигм" вначале была успешно применена в автоматизированной лаборатории охраны окружающей среды (Riebkling N, Tria L, 2005), а в дальнейшем во всей системе здравоохранения в целом (Barry R, Murcko AC, Brubaker CE, 2002). Комбинация методов "Без излишеств" и "Шесть Сигм" была применена как в системе здравоохранения, так и в медицинской лаборатории (Daley AT, 2007; Caldwell C, Brexler J, Gillem T., 2005). По данным медицинских журналов и периодических изданий по лабораторной медицине, применение комбинации этих методов продолжает расти. Заинтересованным сотрудникам лабораторий доступны многочисленные возможности ознакомления с методами "Без излишеств" и "Шесть Сигм", в том числе и информация, представленная в Интернете.

#### Инструменты в системе менеджмента качества.

Двенадцать разделов ОСК включают систематический подход к управлению качеством, что гарантирует ежедневное выполнение сотрудниками лаборатории всех необходимых действий на преаналитическом, аналитическом и постаналитическом этапах исследований. К сожалению, встречается мнение, что использование "Анализ характера и последствий отказов", "Без излишеств" или только "Шесть Сигм" может повысить качество оказываемых лабораторией услуг. Однако они просто являются единственными инструментами для того, чтобы улучшить процесс работы в каком-то конкретном случае. Все три разновидности этих инструментов могут и должны приме-

няться в управлении процессами и качеством, когда лаборатория осваивает новые методы исследования. Большинство лабораторий использует эти инструменты в системе качества только для идентификации проблем, упуская, таким образом, возможность первоначально спроектировать, утвердить и осуществить процессы наиболее оптимально, разработав возможные варианты решения проблем до процесса практического внедрения нового метода. Аналогично, ни одно из положений Всеобщего управления качеством (TQM), непрерывного повышения качества (CPI), программы "Планируй-делай-выполни-измеряй-улучшай" (PDCA), популярной в 1990-е годы, не решило проблем медицинских ошибок, повлекших за собой ухудшение здоровья или смерть пациента. Можно утверждать, что причина этих неудач была не в самих инструментах (использование должным образом вышеупомянутых инструментов по повышению качества действительно приводит к усовершенствованию процесса), а скорее в том, что эти инструменты использовались по отдельности, вместо того, чтобы быть включенными в систему качества. Недостаток многих лабораторий - отсутствие фундаментального подхода к СМК, когда уровень требований к качеству работы определен для каждого лабораторного процесса, при котором (Landek D., 2007; Berte LM., 2004):

- Все существующие требования необходимо использовать постоянно;

- Измерение и мониторинг контроля качества обеспечивают объективные данные о работе;

- Лабораторный менеджмент предусматривает активное представление руководству отчетов о проделанной работе;

- Лабораторный менеджмент предполагает выполнение определенных действий для устранения причин ошибок.

Процессный и системный подход, наиболее успешно объединяющий все регулирующие требования, требования аккредитации, безопасности пациента, организации процесса измерения, контроля и совершенствования, является основой для формирования и функционирования СМК, которая используется на всех этапах лабораторного исследования - преаналитическом, аналитическом и постаналитическом. Эта модель является всеобщей и приемлемой для лабораторий любого уровня и объема проводимых исследований где-либо в мире. Эта модель может использоваться также и в африканских странах в рамках реализации президентского Чрезвычайного плана по борьбе со СПИДом. Многие лаборатории США и Канады успешно внедрили эту модель для осуществления управления качеством, улучшения процесса исследования, обеспечения безопасности пациентов и оценки работы лабораторий. Эти лаборатории сообщили о существенном уменьшении числа отказов в аккредитации и уменьшении количества допускаемых ошибок, сделанных, например, при получении образца для исследования (Sutter Health Sacramento-Sierra region and University of Alberta, Edmonton, personal communications, May 2007).

#### Поддержание культуры качества в медицинской (клинической) лаборатории.

Как показывает анализ деятельности компаний-лидеров мировой экономики, все наиболее эффективные модели управления качеством тем или иным образом связаны с управлением процессами и культурой постоянного совершенствования.

Лидерство высшего звена руководства - основной фактор в организации повышения качества услуг и продукции. Руководство определяет политику и формирует общую культуру качества в любой организации.

В большинстве лабораторий существует два типа руководства: медицинское и административное. Оба необходимы для поддержания культуры управления качеством в сфере медицинских лабораторных исследований. Основное внимание административного руководства лаборатории должно быть сосредоточено на определении политики и процедур для ОСК, устранении препятствий, мешающих эффективному выполнению соответствующих задач. Одновременно немаловажная роль отводится медицинскому руководству. Оно должно гарантировать, что политика и процедуры преаналитического, аналитического и постаналитического этапов исследований отвечают техническим требованиям и обеспечивают результаты, адекватные клиническим задачам, что необходимо для определения дальнейшей тактики лечения больных.

ОСК и осуществление корректного технологического процесса требуют постоянного взаимодействия административного и медицинского руководства. Модель СМК, описанная в данной статье и схематично представленная на рис.2, рассматривает направление, в котором это взаимодействие может обеспечить существенный вклад лаборатории в повышение качества и безопасности медицинского обслуживания пациентов.

#### **45/478 Референсные интервалы: практические аспекты.**

Reference intervals: practical aspects.

G.L. Horowitz

eJIFCC, 2008;19(2):1-11.

PMID: нет

Вероятно, одним из наиболее важных элементов лабораторного исследования является референсный интервал, значения, помогающие клиницистам интерпретировать результаты лабораторных тестов. Интересно, однако, что лаборанты тратят удивительно мало времени, формально подходя к вопросу определения референсных интервалов. В основном они принимают значения, предоставляемые им разработчиками тестов, не устанавливая данные интервалы самостоятельно и даже не верифицируя возможность применения их у своих пациентов. В дополнение к этому для многих аналитов нормальные (условные) референсные интервалы, отражающие показатели центрального 95%-ного диапазона значений у здоровых лиц, были заменены на decision limits "пределы, по которым принимаются решения". Но, опять же, некоторые лаборатории редко проводят верификацию, насколько применяемые ими методы позволяют получать точные результаты, хотя это является требованием в случае применения decision limits.

В связи с этим в настоящей статье особое внимание уделено 3 вопросам:

1. Как лаборатории могут (и должны) устанавливать точность значений (результатов) тестов, имеющих так называемые decision limits (холестерол, гликозилированный гемоглобин, неонатальный билирубин);
2. Как лаборатории могут (и должны) проводить верификацию применимости (пригодности) референсных интервалов, полученных ими из других источников;
3. Как лаборатории могут устанавливать (рассчиты-

вать) собственные референсные интервалы.

#### **Установление референсных интервалов**

По многим причинам наиболее часто рекомендуемыми методами установления референсных интервалов является группа непараметрических методов. Во-первых, в этом случае не имеет значения природа распределения значений в исследуемой выборке. Во-вторых, не требуется статистической экспертизы; исследователь просто располагает полученные значения по рангам в зависимости от концентрации (ранг 1 - наиболее низкая концентрация, ранг 2 - следующее значение и т.д.), и центральный диапазон в  $n\%$  принимается за референсный интервал. В дополнение, из этих же данных могут подобным образом быть приняты доверительные пределы конечных точек интервала.

Принято, что 120 единиц наблюдения достаточно для определения 95%-ного центрального диапазона распределения и для определения 90% доверительных пределов обоих конечных точек. Таким образом, при 120 единицах наблюдения ранг 3 соответствует 2,5-му перцентилю; ранг 118 - 97,5-му перцентилю; ранги 1 и 7 определяют 90%-ный доверительный интервал для 2,5-ного перцентиля; ранги 114 и 120 определяют 90%-ный доверительный интервал для 97,5-ного перцентиля.

Для каждой индивидуальной категории (например, пол, возрастные группы, раса) требуется 120 единиц наблюдения. Естественно, что в том или ином случае исследователь может доказать отсутствие необходимости установления отдельных референсных интервалов для определенных групп. Для этого он должен собрать данные по каждой выборке и показать отсутствие статистически значимых различий между ними.

Сбор таких данных требует времени и усилий, однако отсутствие их может иметь серьезные последствия, как это было показано в недавнем исследовании (L.M. Brewster и соавт., 2007). Авторы провели большую и трудоемкую работу по определению референсных интервалов с использованием непараметрических методов. Они получили образцы от 1444 человек, входящих в испытываемую группу. Критериями исключения из исследования были прием препаратов, снижающих уровень холестерина, и значительная физическая нагрузка в течение 3 дней до получения образцов сыворотки крови. У авторов была возможность разделить всю выборку на категории в зависимости от пола и происхождения (расы) испытуемых, в каждой категории (подгруппе) насчитывалось более 120 единиц наблюдения. В результате исследования авторы сделали вывод, что верхний предел референсного интервала (97,5-ный перцентиль) варьировал от 201 до 841 МЕ/л в зависимости от подгруппы, что приблизительно в 1,6-4,6 раза превышает значения верхнего предела, заявленные производителем. То есть в зависимости от подгруппы от 8 до 62% испытуемых должны были быть отнесены в категорию с аномально повышенными значениями холестерина (больше 97,5-ного перцентиля). По общему мнению, практически ни одна лаборатория не в состоянии самостоятельно провести подобное исследование, но для какого количества лабораторий было проблемой провести верификацию референсных значений, предложенных производителем, хотя бы на выборке из 20 человек? Как

было отмечено авторами исследования, поражает факт, что по причине некорректно установленных референсных интервалов многим пациентам не были назначены необходимые им медицинские препараты.

### Выводы

Большинство, если не все, используемые в клинических лабораториях методы более чем адекватны с точки зрения аналитической перспективы. Наоборот, референсные интервалы, которые обязательно сопровождают результаты исследований, заслуживают более внимательного изучения. Для тестов, где важной является точность, лаборатории должны участвовать в специальных исследованиях и добиваться соответствующей точности. Для других тестов лаборатории должны проводить верификацию с использованием выборки минимум из 20 человек, выявляя уместность (возможность, адекватность) применяемых референсных интервалов. Естественно, что установление, в отличие от верификации, референсных интервалов является более сложным процессом по причине требования слишком большого объема выборки. Однако суммирование данных из разных лабораторий, использующих одни методики и современные статистические методы, дает возможность значительно облегчить решение данной проблемы.

### 46/479 Выбор и оценка референсных интервалов в клинической лаборатории.

Neill R. Carey

Peninsula Regional Medical Center, Salisbury, Maryland, USA

Клиническая лабораторная диагностика, 2007, 9:42

Правильно выбранные, надежные референсные интервалы необходимы для клинической интерпретации результатов лабораторных исследований. Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI, бывший NCCLS) разработал руководство для разработки и оценки референсных интервалов. Документ CLSI C28-A2 "How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guideline—Second Edition" рекомендует исследовать 120 проб "здоровых" доноров и, обработав результаты методами непараметрической статистики, установить референсный интервал. Несомненно, создание надежных референсных интервалов потребует несравнимо больших усилий. Тем не менее, есть подходы, которые позволяют лаборатории оценить адекватность референсных интервалов, разработанных другими организациями, и адаптировать их для использования.

В соответствии с документом CLSI C28-A2, выбранные (предварительно установленные) референсные интервалы могут быть проверены с минимальными затратами, если демографически и географически популяция пациентов, которых обслуживает лаборатория, а также преаналитические и аналитические процессы в лаборатории совпадают с таковыми у разработчика референсных интервалов (например, производитель аналитической системы или другая лаборатория). Чтобы провести такую оценку, лаборатория может исследовать только 20 человек из референсной группы. Если не более двух результатов выходят за выбранные референсные интервалы, лаборатория может их использовать. Если же этот эксперимент был неудачным, следует продолжить исследования.

Если лаборатория может провести параллельное исследование проб своим (внутренним) методом и методом, который был использован при разработке референсных интервалов, то она может использовать данные регрессионного анализа для того, чтобы получить референсные интервалы для внутреннего метода, взяв, таким образом, за основу интервалы, полученные для другого метода.

В некоторых случаях референсные интервалы могут быть получены и/или проверены на основе исследования проб пациентов с использованием разных статистических методов, таких, например, как построение частотного распределения и его "нормализация" (Hoffmann). Эти методы особенно хорошо работают, когда большинство данных пациентов соответствуют таковым у нормальных здоровых индивидуумов.

И наконец, лаборатория может использовать референсные интервалы из надежных литературных источников или документов без исследований референсной популяции. Руководитель лаборатории обязан убедиться, что характеристики референсной популяции и уровень выполнения аналитических процедур в лаборатории и в используемом источнике сопоставимы. Последнее может быть подтверждено с помощью параллельного измерения проб пациентов. Такой подход оправдан в ситуациях, когда лаборатория не может собрать достаточную референсную группу. В частности, это касается проб спинномозговой жидкости, детских референсных групп, проб из популяции со специфическими заболеваниями. В докладе представлены примеры, иллюстрирующие практические аспекты проверки адекватности выбранных референсных интервалов, и подходы к выбору этих интервалов, а также примеры, как лучше представлять информацию о референсных интервалах клиницистам.

### 47/480 Теория референсных значений.

J.C. Boyd

Department of Patology, University of Virginia Health System, Charlottesville, VA, USA

Клиническая лабораторная диагностика, 2007, 9:41

Результаты клинических лабораторных исследований чаще всего интерпретируют, сравнивая их с референсными интервалами. Разработка референсных интервалов классически опирается на общие представления, сформулированные экспертной комиссией по референсным значениям Международной Федерации Клинической Химии (IFCC) в 80-е годы - получение образцов от здоровой популяции, состоящей минимум из 120 доноров, с последующей непараметрической обработкой результатов и определением 2,5 и 97,5 перцентилей для выявления центральных 95% распределения. Однако при меньшем размере популяции или при наличии "выпадающих" результатов точность таких оценок может страдать, особенно при использовании параметрических методов статистической обработки. В последние годы были разработаны новые методы для обнаружения "выпадающих" результатов и надежной оценки перцентилей в референсной популяции, контаминированной нездоровыми индивидуумами. Были также выработаны критерии, помогающие принять решение о делении референсной популяции на подгруппы, при выявлении различий в субпопуляциях. Если такое деление оправдано, для каждой подгруппы определяются соб-

ственные референсные интервалы. Уточнение референсных интервалов может быть осуществлено с помощью методов регрессионного анализа. В докладе представлены статистические подходы к выработке, разделению и уточнению референсных интервалов. Также проведен обзор последних разработок ретроспективного определения референсной группы. Такой подход, если он оправдан, может

позволить использовать существующие базы данных для выработки референсных интервалов. Серьезной проблемой в разработке и переносе референсных значений является контроль аналитической вариации. Предпринимаемые в настоящее время усилия, направленные на разработку прослеживаемых и сопоставимых калибраторов, помогут решить эту проблему для многих анализов.

## Пояснительные уведомления ООО "НПО "Диагностические системы"

В соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 13485-2004 "Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования", ООО "НПО "Диагностические системы" начало выпускать пояснительные уведомления (СТП-18-08 "Выпуск и применение пояснительных уведомлений"). Некоторые из них достаточно информативны и могут оказаться полезными нашим постоянным и новым клиентам.

### Определение концентрации простатспецифического антигена в сыворотке крови (от 17.04.09).

В последние годы ООО "НПО "Диагностические системы" активно развивает новые направления в своей деятельности, в том числе разработку и промышленный выпуск диагностических тест-систем для определения уровня общего и свободного простатспецифического антигена (ПСА) "ДС-ИФА-ПСА-общий" и "ДС-ИФА-ПСА-свободный". Тест-системы имеют государственную регистрацию, прошли все этапы лабораторных и клинических исследований, а также сравнительные испытания на кол-

лекции, включающей более 1000 образцов, аттестованных на хемилюминесцентном анализаторе Abbott Architect, коэффициент корреляции составил около "1".

Каждая серия наборов проходит многоступенчатый контроль качества на аналитические характеристики, стандартность, соответствие тестам других производителей (рис.1), хранение, аттестовывается на Международных стандартах, контрольных образцах производства компании "Bio-Rad" и внутренних панелях сывороток.

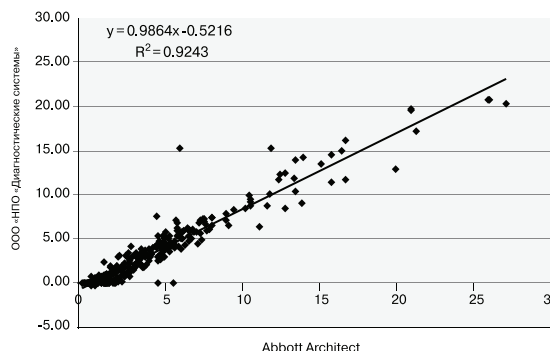
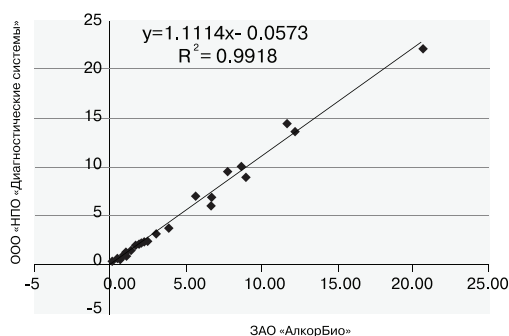


Рис.1. Корреляции результатов определения ПСАобщ. в тестах производства ООО "НПО "Диагностические системы", ЗАО "Алкор-Био" и Abbott

Стандартные калибровочные пробы, содержащие известные концентрации общего ПСА, аттестованы в соответствии с Первым международным стандартом

ВОЗ 96/670, ПСА свободного - в соответствии с Первым международным стандартом ВОЗ 96/668 (рис. 2).

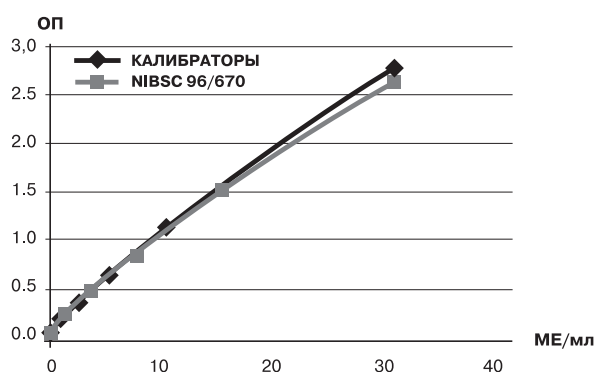
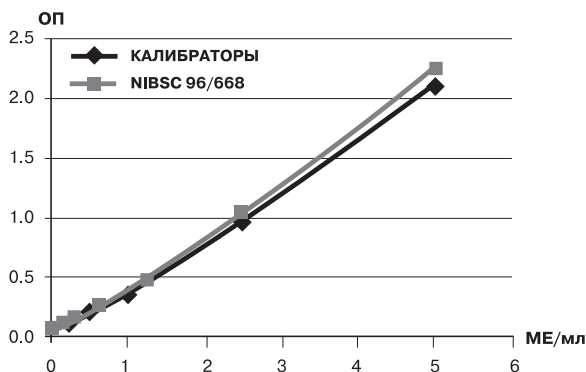


Рис.2. Кривые титрования международных стандартов ВОЗ (NIBSC 96/668 и 96/670) и калибровочные кривые коммерческих тестов для определения ПСАобщ. и ПСАсвоб.

Наборы "ДС-ИФА-ПСА-общий" и "ДС-ИФА-ПСА-свободный" производства ООО "НПО "Диагностические системы" позволяют определять концентрацию аналитов не только в интервалах, заданных стандартными калибровочными пробами (до 30 нг/мл для ПСА общего и до 5 нг/мл для ПСА свободного), но и в образцах с гораздо более высокими концентрациями антигена. Для этого рекомендуется повторное исследование образца, разведенного в 10 раз "Калибратором 0". Возможность определения сверхвысоких концентраций ПСА общего и свободного с использованием способа разведения образцов с последующим расчетом концентраций с учетом разведения предоставляют большинство отечественных и зарубежных производителей, в том числе и СЕ маркированные наборы производства ООО "Хема Медика", ЗАО "Вектор Бест", Monobind Inc. (USA), Adaltis (Italia), CanAg (Sweden), DBC

Inc. (Canada), Anogen (Canada), Izotop (Hungary).

Современные подходы к определению концентрации ПСА в сыворотке крови.

Нормальным считается содержание общего ПСА менее 4 нг/мл, повышение уровня ПСА более 4 нг/л уже является показанием для проведения детального обследования для исключения рака простаты даже при нормальных данных пальцевого исследования прямой кишки (ПРИ).

Однако пороговый уровень 4 нг/мл не может однозначно считаться пороговым, при превышении которого пациента следует считать больным, а ниже которого - здоровым.

Во-первых, с возрастом отмечается повышение уровня ПСА, что объясняется увеличением объема предстательной железы за счет роста аденомы простаты. Следовательно, при интерпретации результатов необходимо учитывать возрастной фактор (табл. 1).

Таблица 1

Возрастные нормы уровня ПСА (Oesterling et al., 1993).

Возраст (годы)	Значение нормы ПСАобщ. (нг/мл)
40 - 49	0 - 2,5
50 - 59	0 - 3,5
60 - 69	0 - 4,5
70 - 79	0 - 6,5

Кроме того, нельзя забывать о том, что ни один из онкомаркеров не обладает 100% "чувствительностью" и "специфичностью", то есть нет порогового значения cut-off, при превышении которого в 100% случаев имела бы место патология, а ниже которого пациент был бы здоров (рис.3). Следовательно, уровень ПСА, равный 4 нг/мл, является ориентировочным, поскольку есть вероятность как

ложнонегативных, так и ложнопозитивных результатов. Поэтому снижение уровня cut-off при интерпретации результатов приведет к увеличению "чувствительности" исследования и числа ложнопозитивных результатов, а повышение уровня - к увеличению "специфичности" при снижении "чувствительности".

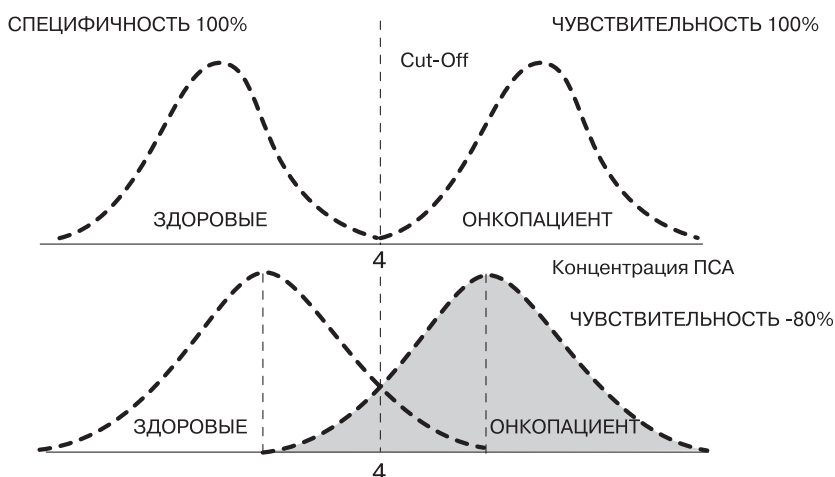


Рис.3. Сравнительная характеристика "идеального" и реальных онкомаркеров



Учитывая вышесказанное, при получении результата теста на ПСАобщ. следует иметь в виду следующее:

- Результат может быть в пределах нормы
- Для мужчин в возрасте до 40 лет верхняя граница нормы 2,5 нг/мл;
- В США рекомендованный уровень cut-off ПСА составляет 2,5 нг/мл (G. De Angelis et al., 2007);
- Снижение cut-off с 4 до 3 нг/мл привело к увеличению частоты выявляемости РПЖ на 24% у мужчин в возрасте от 50 до 76 лет (Бабиченко И.И. и соавт., 2007).

В случае, когда уровень ПСАобщ. находится в диапазоне от 4 до 10 нг/мл, необходимо помнить следующее:

- При уровне ПСА 4-10 нг/мл у большинства мужчин (75%) диагностируют доброкачественные заболевания предстательной железы;
- Прогностическая ценность в отношении РПЖ составляет лишь 25%;
- Подавляющее большинство случаев локализованного рака приходится на так называемую "серую зону", когда значения ПСА находятся в промежутке 4-10 нг/мл;
- Повышение уровня ПСА более 4 нг/л уже является показанием для проведения детального обследования для исключения наличия рака простаты даже при нормальных данных ПРИ.

Тест на ПСА становится высокочувствительным только при значениях более 20 нг/мл. Для проведения радикального лечения рака простаты необходимо выявление этого заболевания на ранних стадиях, а подавляющее большинство случаев локализованного рака приходится на так называемую "серую зону" (уровень ПСА 4-10 нг/мл). С целью повышения диагностической ценности теста ПСА, особенно в случае диагностического поиска ранних стадий опухоли, используется следующий ряд индексов: отношение свободный/общий ПСА (f/t ПСА), отношение ПСА к объему предстательной железы (ПСА D), скорость прироста ПСА (ПСА V) и некоторые другие параметры.

В дополнение к оценке уровня общего ПСА сыворотки крови определение различных форм ПСА несет полезную дополнительную информацию, особенно в случае повышения общего ПСА в пределах "серой шкалы" с учетом индивидуальных особенностей каждого пациента. Уровень общего ПСА сыворотки крови определяется сложением показателей свободного ПСА и ПСА, связанного с белками плазмы. Соотношение уровня свободного ПСА к уровню общего ПСА (f/t ПСА), выраженное в процентах, обозначается, как процент свободного ПСА. Этот показатель вычисляется по формуле:

$$f/t \text{ ПСА} = (\text{ПСА свободный} / \text{ПСА связанный}) \times 100 \%$$

Для мужчин, у которых показатель f/t ПСА менее 15%, рекомендуется выполнение биопсии простаты, при значении f/t ПСА более 15% риск наличия РПЖ ниже и иногда биопсия простаты может быть отсрочена или совсем не выполняться. Прогностическая ценность соотношения f/t ПСА увеличивается с ростом уровня общего ПСА и становится наибольшей при уровне общего ПСА больше 6-8 нг/мл.

Другой источник при определении соотношения свободного и общего ПСА предлагает учитывать возраст и анамнез: так, у мужчин до 60 лет данное соотношение рекомендуется определять при уровне ПСАобщ. выше 4 нг/мл; следует иметь в виду, что существенное - выше 15 нг/мл - повышение уровня ПСАобщ. может наблюдаться не только при злокачественном перерождении ткани

простаты, но и при простатите и массаже предстательной железы (до 20 нг/мл и 80 нг/мл, соответственно), а также при эякуляции накануне исследования. У мужчин старше 60 лет, когда доброкачественная гиперплазия наблюдается практически у каждого пациента данной группы, уровень ПСАобщ. до 10 нг/мл целесообразно рассматривать как нормальный, а соотношение ПСАсв. к ПСАобщ. определять начиная с 10 нг/мл.

Учитывая принципы международных современных подходов к диагностике и лечению злокачественных новообразований предстательной железы, является актуальной необходимость в точной регистрации значений концентрации ПСА в сыворотке крови, в том числе высоких и очень высоких.

Уровень содержания ПСА, его динамика в сыворотке крови во многом определяют не только диагностику новообразований предстательной железы, но и подходы к лечению.

Так, по данным литературы, высокий уровень ПСА с высокой достоверностью свидетельствует об экстракапсулярном распространении опухоли (свыше 10 нг/мл), а также о метастазах в тазовых лимфатических узлах или об отдаленных метастазах, в первую очередь в костную ткань (свыше 40 нг/мл).

По данным других авторов, уровень общего ПСА более 50 нг/мл указывает на эстракапсулярную инвазию в 80% случаев и поражение регионарных узлов у 66% больных. Результат ПСА более 100 нг/мл указывает на 100% метастазирование (регионарное или отдаленное). По данным, полученным тайваньскими учеными, рак простаты при уровне сывороточного ПСА > 20 нг/мл имеет высокий риск прогрессирования после радикальной простатэктомии. Группа пациентов с ПСА > 50 нг/мл имела более негативный прогноз, чем группа с ПСА 20,1-50 нг/мл. В первой группе биопсия по классификации Глисона, а также послеоперационный уровень ПСА были достоверно выше, чаще встречались эстракапсулярная инвазия и метастазы в регионарных узлах. В исследовании В.Н. Комарцева (2001 г.) у 35% больных РПЖ концентрация ПСА в сыворотке крови находилась в диапазоне 50-100 нг/мл, а у 14% - превышала уровень 100 нг/мл.

При раке предстательной железы уровень ПСАобщ. в сыворотке крови может значительно повышаться и достигать сотен и даже 3-5 тысяч нг/мл, концентрация ПСАсвоб. - до 300 нг/мл. По данным американских исследователей, определение уровня ПСА свыше 1000 нг/мл не является неожиданностью. У одного пациента в 1991 году обнаружена концентрация ПСАобщ. в сыворотке крови 3552 нг/мл, в 1992 году уровень ПСА поднялся до 12600 нг/мл. После успешно проведенной операции уровень ПСА в 1999 году снизился до 109 нг/мл. Уровень ПСА активно используется химиотерапевтами и урологами для оценки противоопухолевого эффекта гормонов или химиопрепаратов. Значимым считается снижение содержания данного маркера на 75-80%. При проведении клинических испытаний тест-систем производства ООО "НПО "Диагностические системы" были проанализированы образцы с высоким содержанием ПСА - до 1832 нг/мл. Тестирование разведенных образцов показало корректные результаты. Клинические испытания на базе ВОГУЗ "Областная Клиническая больница" г. Владимир показали хорошую корреляцию для образцов с повышенным содер-

жанием ПСА общего при сравнении тестов ООО "НПО "Диагностические системы" и ООО "Хема Медика": 103 и 110 нг/мл, 30 и 37 нг/мл, соответственно.

Данные, полученные из ГУЗ "Архангельский областной клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД и ИЗ", приведены ниже:

№	Диагноз	"Диагностические системы"		"Вектор Бест"	
		ПСА общий, нг/мл	ПСА свободный, нг/мл	ПСА общий, нг/мл	ПСА свободный, нг/мл
1	ГПЖ III, РПЖ?	314,5	45,4	295,7	25,8
2	ГПЖ III, РПЖ?	245,7	15,8	295,9	7,1
3	ГПЖ III, РПЖ?	134	7,5	84,1	7,6
4	ГПЖ III, РПЖ?	806,0	41,6	805,8	49,8
5	ГПЖ III, РПЖ?	96,9	62,4	116,4	53,4

#### Основные источники информации:

1. Бормотин А.В., Говоров А.В., Пушкарь Д.Ю., Алгоритм ранней диагностики рака предстательной железы // Русский медицинский журнал. 2003 - №8 ([http://www.rmj.ru/articles\\_612.htm](http://www.rmj.ru/articles_612.htm))
2. Григорьев М.Э., Кравец А.А. Диагностическая и прогностическая ценность простатического специфического антигена и тканевого специфического полипептида у больных раком предстательной железы (обзор литературы). // Современная онкология. 2005 - том 07, №4.
3. Комарцев В.Н. Скрининг-диагностика рака предстательной железы // Онкология. 2001 - №2-3: с.160-162
4. Матвеев Б.П., Бухаркин Б.В. Современные возможности лечения гормонорезистентного рака предстательной железы. // Современная онкология. 2003 - том 05, №3.
5. Матвеев Б.П. Химиотерапия гормонорезистентных форм рака предстательной железы. // Практическая онкология. 2001 - №2(6).
6. Anai S., West S., Chang M., Nakamura K., Pendleton J., Rosser C.J. Outcomes of men who present elevated serum PSA (> 20 ng/ml) to an Inner-City Hospital. // Jour of the Nation. Med. Assoc. 2007 - vol.99, № 8.
7. Gontero P., Joniau, Van Poppel H. Radical prostatectomy for PSA? 100 ng/ml prostate cancer. // European Urology. - vol. 54, N 4 - p. 957-958.
8. Yen-Chuan Ou, Jung-Ta Chen, Chen-Li Cheng, Hao-Chung Ho, Chi-Rei Yang Radical Prostatectomy for Prostate Cancer Patients with Prostate-specific Antigen >20 ng/ml. // Japanese Journal of Clinical Oncology, 2003, 33:574-579.
9. [www.prostatecancerwatchfulwaiting.co.za/PSA101.html](http://www.prostatecancerwatchfulwaiting.co.za/PSA101.html)

#### Биохимический скрининг маркерных белков: риск ВПР и интерпретация результатов (от 19.05.09).

Общепринятым обозначением отклонений уровня маркерных сывороточных белков (МСБ) является отношение величины содержания МСБ в крови конкретной женщины к величине содержания данного белка (медиане), наиболее часто встречающейся у женщин этого срока при нормальной беременности. Кратность медиане выражается в единицах МоМ (multiples of median).

Медианой называется среднее геометрическое ряда чисел, то есть если результаты расположить в порядке возрастания, то медиана будет лежать посередине для нечетного числа значений или являться средним арифметическим двух соседних центральных значений для четного числа измерений.

Частота выявления пороков развития плода зависит от выбранного предельного значения, называемого пороговым уровнем (cut-off). Например, врожденные пороки развития (ВПР) плода выявляются у 3-7% беременных, имеющих уровень АФП в 2,5 раза выше нормального (2,5 МоМ), у 18% - если в 3 раза (3 МоМ) и у 45-70%, если выбрать порог в 5 раз (и более) выше нормы (5 МоМ и более). Смысл порогового уровня маркера легко понять из рисунка 1, где показано распределение уровня АФП среди всех обследованных беременных в норме и при дефектах зародка нервной трубки (ДЗНТ) у плода. Медиана (1 МоМ) встречается у большинства беременных, однако, некоторые пациентки могут иметь очень высокие (до 5 МоМ) или очень низкие (0,3 МоМ) значения АФП при нормальном состоянии плода, но таких беременных мало. С другой стороны, часть женщин с патологией (графики 2 и 3 на рис. 1) может также иметь нормальный уровень АФП (около 1 МоМ). То есть существует вероятность как отсутствия патологии при аномальных показателях АФП, так и наличия ВПР в случаях, когда уровень АФП находится в норме. Следовательно, чем выше порог (cut-off), тем меньше беременных с нормальным плодом будет отобра-

но в группу риска - выше "специфичность" данного показателя, с другой стороны, не все беременные с пороками развития плода будут направлены на дополнительное обследование - ниже "чувствительность", возможность пропуска патологии. Оптимальным для скрининга ВПР считается пороговый уровень АФП 2,5 МоМ.

По данным Т.К. Кащеевой (2008), уровень АФП и ХГч при синдроме Дауна (СД, трисомия 21) у плода составляет 0,7 и 2,32 МоМ, соответственно; при синдроме Эдвардса (трисомия 18) - 1,05 и 0,39 МоМ, соответственно.

Чувствительность скрининга во II триместре (т.е. способность выявлять патологию) по данным разных авторов варьирует от 60 до 75%. Это означает, что из всех обследованных во втором триместре беременных с СД у плода в

группу пациенток с высоким риском войдет около 70%. Отрицательный результат скрининга не гарантирует отсутствие СД у плода, хотя и сильно снижает такую вероятность.

Важно понимать, что если при отборе группы высокого риска использовать предельные значения маркеров (например, АФП ниже 0,5 МоМ и ХГч выше 2 МоМ), то количество ЛПР составит около 30% от числа обследованных, при этом будут пропущены случаи, когда уровень АФП находится в диапазоне 0,5-0,7 МоМ. В то же время увеличение порогового значения АФП до 0,7 МоМ приведет к дальнейшему росту числа ЛПР с назначением инвазивных процедур таким пациенткам, что влечет определенный риск прерывания беременности.

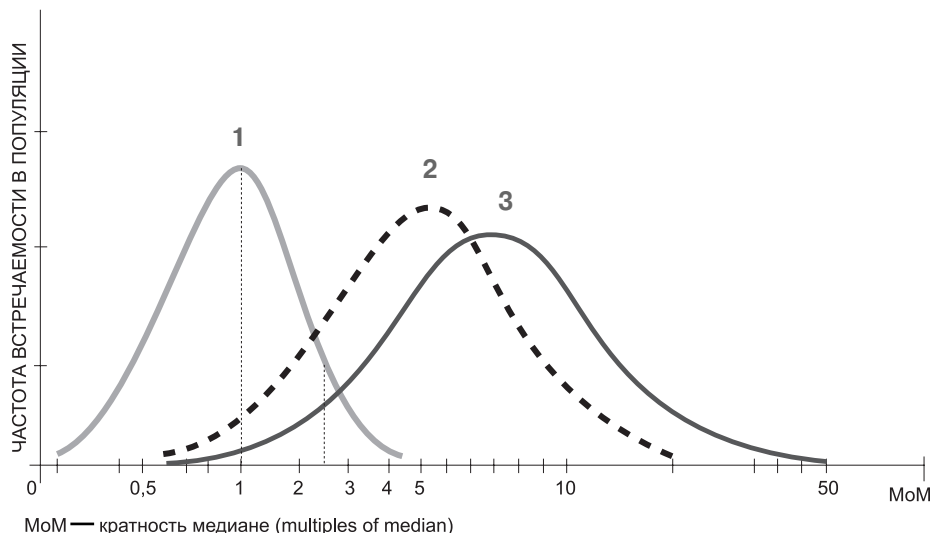


Рис. 1. Распределение уровня АФП при нормальной беременности (1), спинномозговой грыже (2) и анэнцефалии (3) у плода.

Существуют альтернативные методики проведения пренатального скрининга, включающие использование:

- Дополнительных биохимических маркеров: в I триместре - β-субъединица ХГч, РАРР-А (ассоциированный с беременностью белок), во II триместре - неконъюгированный эстриол, ингибин А;
- УЗИ-маркеров: толщина воротникового пространства, длина нижней конечности;
- Компьютерных программ по расчету риска ВПР, ис-

пользующих данные о сроке беременности, результаты УЗИ и определения биохимических маркеров в I и II триместрах, вес пациентки, некоторые анамнестические данные.

Факторы, влияющие на результаты исследования на АФП и ХГч, представлены в таблице 1. Если у беременной с отклонениями уровня МСБ нет высокого риска по результатам скрининга или других показаний к проведению инвазивной пренатальной диагностики, то она нуждается в повышенном внимании ведущего акушера-гинеколога.

№	Фактор	АФП	ХГч
1	Увеличение массы тела	↓	↓
2	Негроидная раса		↑ на 15-20%
3	Курение во время беременности	на 3-10%	↓ на 20%
4	Тяжелая почечная патология и гемодиализ		↑↑↑ до 5-18 МоМ
5	Многоплодная беременность	2,53 МоМ	2,14 МоМ
6	Диабет 1-го типа	↓	↑
7	Миома матки	↑	
8	Увеличение числа беременностей		↓
9	Rh-сенсбилизация		↑
10	Анемия	↑	
11	ВИЧ-инфекция		↓

Необходимо помнить, что каждая лаборатория, начинающая исследования, должна наработать свои собственные нормативные значения уровня всех МСБ, используемых в скрининге. Производители тест-систем предлагают лишь ориентировочные значения медиан и референсных интервалов, указывая на необходимость уточнения концентраций маркеров, соответствующих нормальным значениям для конкретной территории. С другой стороны, п. 5.5.5 ГОСТ Р ИСО 15189 "Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности" содержит следующие требования: **"Биологические референтные интервалы следует периодически пересматривать. Если лаборатория имеет основания полагать, что данный референтный интервал больше не соответствует референтной популяции, должны быть предприняты исследования с дальнейшими, при необходимости, коррективами. Пересмотр биологических референтных интервалов также должен иметь место, когда лаборатория изменяет аналитические и преаналитические процедуры"**.

### Методика расчета референсных интервалов

В силу различных причин непараметрический метод является оптимальным при расчете референсных интервалов. Во-первых, при этом не имеет значения природа распределения значений в исследуемой выборке, во-вторых, не требуется проведения никакой статистической экспертизы. Исследователю достаточно расположить полученные индивидуальные значения выборки по возрастанию от меньшего к большему, и центральные  $p\%$  наблюдений будут искомым референсным интервалом. Таким образом, последовательность действий представляется следующей:

1. Сбор данных: необходимо набрать достаточное число образцов сывороток пациенток с нормально протекающей беременностью. Коллекция должна быть собрана по каждому сроку беременности, на которые будут рассчитываться референсные интервалы. Оптимальным

объемом выборки следует считать 120 образцов.

2. Расположить образцы в порядке возрастания - провести ранжирование (минимальное значение - 1-ый ранг, следующее за минимальным - 2-ой и т.д., максимальное значение - 120-ый ранг).

3. Определить нижнюю границу референсного интервала - 2,5-й перцентиль. При объеме выборки 120 образцов ему будет соответствовать 3-ий ранг.

4. Определить верхнюю границу референсного интервала - 97,5-й перцентиль. При объеме выборки 120 образцов ему будет соответствовать 118-ый ранг.

5. Медианным значением выборки при объеме 120 образцов будет являться среднее арифметическое 60-го и 61-го ранга.

Следует обратить внимание, что абсолютные значения медиан и границ референсных интервалов, рассчитанные в тест-системах разных производителей, могут не совпадать.

Первая причина несовпадений заключается в том, что ХГч состоит из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц. Диагностическое значение имеют свободная  $\beta$ -субъединица, а также полная молекула ХГч, состоящая из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц. Таким образом, диагностикумы могут определять только свободную  $\beta$ -субъединицу, интактный ХГч (молекулу ХГч, состоящую из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц) и тотальный ХГч (полная молекула ХГч определяется вместе со свободной  $\beta$ -субъединицей). Из отечественных производителей тест-системы для определения интактного ХГч предлагают компании ЗАО "Вектор-Бест" и ООО "Хема-Медика", а тотального ХГч - компании ООО "НПО "Диагностические системы" и ЗАО "Алкор-Био".

Второй возможной причиной несовпадений результатов является различная номинация калибраторов, входящих в состав набора. Производитель указывает в инструкции к набору и паспорте к серии стандарт, по которому аттестуются калибровочные пробы. Одним из требований к набору является метрологическая прослеживаемость, то есть соответствие данных стандартов и номинируемых от серии к серии калибраторов (рис. 2).

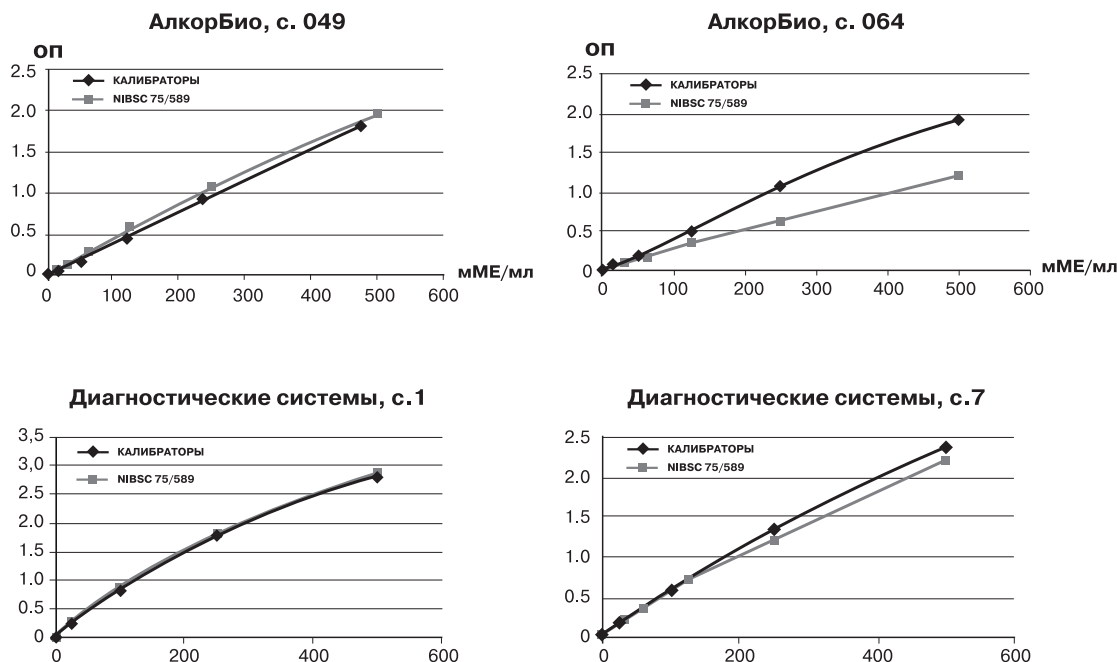


Рис.2. Кривые титрования 4 международного стандарта ВОЗ (NIBSC 75/589) и калибровочные кривые коммерческих тестов для определения ХГч (результаты эксперимента ООО "НПО "Диагностические системы")

Результаты постоянного мониторинга тест-систем, представленных на рынке, показали, что не всегда производителям удается выдерживать совпадение значений калибраторов и используемых стандартов. В приведенном на рисунке 2 примере набор производства "Алкор-Био" при значениях ОП выше 0,5 демонстрирует завышенные значения калибраторов, что, соответственно, приводит к заниженным значениям ХГч.

Этим могут объясняться и несовпадения нормальных значений маркерных белков по разным срокам беременности у разных производителей. Поэтому при интерпрета-

ции результатов исследований на АФП и ХГч целесообразно пользоваться медианными значениями, полученными при использовании наборов того же производителя, и результаты выдавать не в абсолютных значениях, а в единицах МоМ. Ими же рекомендуется оперировать и при сравнении результатов двух тестов.

Специалистами ООО "НПО "Диагностические системы" на основании результатов совместных исследований с рядом нижегородских клиник разработаны собственные нормативные значения МСБ для сроков беременности (табл. 2 и 3).

Таблица 2

### Ориентировочные значения уровня ХГч у беременных при использовании набора "ДС-ИФА-Гонадотропин-ХГч"

№	Срок беременности, нед	Медиана	95-ый референсный интервал	
			Нижний предел (2,5-й перцентиль)	Верхний предел (97,5-й перцентиль)
1	1-3		50	15 000
2	3-4		1 200	30 000
3	4-5	33 800	2 500	85 000
4	5-6	67 200	8 500	155 000
5	6-7	108 100	12 000	215 000
6	7-8	132 900	35 000	255 000
7	8-9	149 200	40 000	280 000
8	9-10	137 800	35 000	250 000
9	10-11	114 600	30 000	205 000
10	11-12	100 600	16 000	195 000
11	13-14	60 400	16 000	165 000
12	15-16	35 000	9 500	100 000
13	17-21	30 100	7 000	75 000

По данным Т.К. Кашеевой (2008), содержание ХГч достигает максимума к 8-10 неделе беременности, резко снижается после 10 недели в результате дифференци-

ации цитотрофобласта и образования плаценты, остается примерно на одном уровне до родов с небольшим повышением на 33-35 неделе.

Таблица 3

### Ориентировочные значения уровня АФП у беременных при использовании набора "ДС-ИФА-АФП".

№	Срок беременности (недели)	Медиана	95-ый референсный интервал	
			Нижний предел (2,5-й перцентиль)	Верхний предел (97,5-й перцентиль)
1	14	26,8	14,95	53,80
2	15	32,59	15,89	60,50
3	16	36,78	21,66	79,64
4	17	37,42	22,58	69,91
5	18	38,81	24,96	86,61
6	19	46,25	30,56	104,09
7	20	58,19	31,20	137,55
8	21	52,56	33,90	135,63

## СПИСОК АББРЕВИАТУР

<b>АФП</b>	альфа-фетопротеин	<b>ППЗ</b>	положительное прогнозируемое значение
<b>АТ-ТПО</b>	антитела к тиреоидной пероксидазе	<b>ПРИ</b>	пальцевое ректальное исследование
<b>ВА</b>	врожденные аномалии	<b>ПСА</b>	простатаспецифический антиген
<b>ВИЧ (HIV)</b>	вирус иммунодефицита человека	<b>ПЦР</b>	полимеразная цепная реакция
<b>ВГВ (HBV)</b>	вирус гепатита В	<b>РИФабс.</b>	реакция иммунофлуоресценции с абсорбцией
<b>ВГС (HCV)</b>	вирус гепатита С	<b>РПГА</b>	реакция прямой гемагглютинации
<b>ВПГ (HSV)</b>	вирус простого герпеса	<b>РПЖ</b>	рак предстательной железы
<b>ВПр</b>	врожденные пороки развития	<b>РШМ</b>	рак шейки матки
<b>ВЭБ (EBV)</b>	вирус Эпштейна-Барр	<b>СД</b>	синдром Дауна
<b>ГГ</b>	генитальный герпес	<b>СМЖ</b>	спинномозговая жидкость
<b>ДГПЖ</b>	доброкачественная гиперплазия предстательной железы	<b>СМК</b>	система менеджмента качества
<b>ДИ</b>	доверительный интервал	<b>СХУ</b>	синдром хронической усталости
<b>ДНТ</b>	дефект нервной трубки	<b>Т4</b>	тироксин
<b>ЗВРП</b>	задержка внутриутробного развития плода	<b>ТГ</b>	тиреоглобулин
<b>ЗНО</b>	злокачественные новообразования	<b>ТВП</b>	толщина воротникового пространства
<b>ИМ</b>	инфекционный мононуклеоз	<b>ТПО</b>	тиреоидная пероксидаза
<b>ИФА</b>	иммуноферментный анализ	<b>ТТГ</b>	тиреотропный гормон
<b>КНС</b>	коагулазонегативные стафилококки	<b>ФСГ</b>	фолликулостимулирующий гормон
<b>ЛГ</b>	лютеинизирующий гормон	<b>ХГЧ</b>	хорионический гонадотропин человека
<b>МБК</b>	минимальная бактерицидная концентрация	<b>ЦМВ</b>	цитомегаловирус
<b>МСБ</b>	маркеры сывороточных белков	<b>ЦМВИ</b>	цитомегаловирусная инфекция
<b>МИК</b>	минимальная ингибирующая концентрация	<b>ЦНС</b>	центральная нервная система
<b>НЭ</b>	неконъюгированный эстриол	<b>ASCO</b>	American Society of Clinical Oncology—Американское общество клинической онкологии
<b>ОР</b>	относительный риск	<b>CDC</b>	Centers for Disease Control—Центр по контролю и профилактике заболеваний, США
<b>ОСК</b>	основы системы качества	<b>FDA</b>	Food and Drug Administration—Управление по контролю продуктов и лекарств, США
<b>ОШ</b>	отношение шансов	<b>NCCLS</b>	National Committee for Clinical Laboratory Standards—Национальный комитет по клиническим и лабораторным стандартам, США
<b>ПЖ</b>	предстательная железа	<b>CLS</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute—Институт клинических и лабораторных стандартов