

Выводы

1. Проведенное анкетирование показало, что среднестатистический курильщик — это мужчина, средний возраст — $40,5 \pm 0,9$ (для обоих полов) года, средний стаж курения — 13,4 года.

2. Установлено, что главными причинами, мешающими изменить свой образ жизни в отношении табакокурения, является следующее: у мужчин физическая и психическая зависимость почти в 3 раза чаще, чем у женщин, что согласуется с тем, что и удовлетворение, получаемое от процесса курения, мужчины отмечают в 7 раз чаще, нежели женщины.

3. Несмотря на эффективность реализуемой политики государства и общества в отношении борьбы с табакокурением, что отметили только 13% респондентов, которые изменили свой образ жизни, по-прежнему только сам человек может управлять пове-

денческими факторами риска. Реализация Федеральных проектов «Укрепление общественного здоровья», «Здравоохранение» и др. направлена на формирование системы мотивации граждан к здоровому образу жизни, включая отказ от вредных привычек. Основным из путей информирования и обучения населения по вопросам профилактики выбран Интернет и современные коммуникационные системы, и особая значимость принадлежит правильно сформированной целевой аудитории. В данном случае предлагаем выбрать в качестве группы риска табакокурения мужчин в возрасте 37,4 года (средний возраст курящих мужчин), 17% из которых вообще не хотят бросить курить. Таким образом, необходимо предусмотреть правильный подход к работе с данной аудиторией по пропаганде здорового образа жизни и правильного отказа от табакокурения.

Литература

1. Государственная программа РФ «Развитие здравоохранения Российской Федерации до 2020 года», утвержденная Распоряжением Правительства РФ № 2511-п от 24 декабря 2012 г.
2. Прогноз социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2024 года.
3. Cost-effectiveness analysis of the first-line therapies for nicotine dependence / J. Cornuz, C. Pinget, A. Gilbert et al. // Eur J Clin Pharmacol. – 2003. – № 59. – P. 201–206. – Doi: 10.1007/s00228-003-0610-6.
4. Г. Я. Масленникова, Р. Г. Органов. Медицинский и социально-экономический ущерб, обусловленный курением табака в Российской Федерации: болезни системы кровообращения. 2011.

Сведения об авторах

М.С. Благодарева — ассистент кафедры эпидемиологии, социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы, Уральский государственный медицинский университет.

Адрес для переписки: m@blagodareva.info.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА НА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИ БЛАГОПОЛУЧНОЙ ТЕРРИТОРИИ

УДК 616.94-093/-098

Л.Г. Боронина

*Уральский государственный медицинский университет,
г. Екатеринбург, Российская Федерация*

В статье представлен случай микробиологической и серологической диагностики бруцеллеза на эпидемиологически благополучной территории. Пациент из Северной Осетии поступил в стационар г. Екатеринбурга с жалобами на субфебрильную лихорадку, которая длится в течение одного месяца. В связи с ведущей жалобой — лихорадкой для исключения инфекционной природы заболевания, — проведен трехкратный посев крови и определены антитела к бруцелле. Описание данного случая направлено на привлечение внимания клиницистов к возможной встрече с данным заболеванием вне эпидемиологических регионов и бактериологов к возможному выделению возбудителя на первоначальном этапе, в обычной лаборатории клинической микробиологии.

Ключевые слова: бруцеллез, микробиологическая диагностика, бактериемия.

L.G. Boronina

FEATURES MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS IN EPIDEMIOLOGICALLY SAFE TERRITORY

Ural state medical university, Yekaterinburg, Russian Federation

The article presents a case of microbiological and serological diagnosis of brucellosis in the epidemiologically safe territory. A patient from North Ossetia entered the hospital of Ekaterinburg with complaints of subfebrile fever, which lasted for one month. In connection with the leading complaint — fever to exclude the infectious nature of the disease, a threefold blood culture was performed and antibodies to brucella were determined. The description of this case is aimed at attracting the attention of clinicians to a possible meeting with this disease outside the epidemiological regions and bacteriologists to the possible isolation of the pathogen at the initial stage, in a conventional laboratory of clinical microbiology.

Keywords: brucellosis, microbiological diagnostics, bacteremia.

Введение

Бруцеллез (лихорадка мальтийская, средиземноморская, гибралтарская, кипрская, ундулирующая, тифомаларийная, болезнь Банга) — опасная, карантинная, зоонозная инфекционная болезнь, вызываемая бактериями, объединенными под общим названием *Brucella*, с высокой потенциальной возможностью перехода в хроническую форму, характеризующейся системным поражением органов и систем с преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, нервной и урогенитальной систем [1; 7]. Бруцеллез передается от животных людям посредством потребления инфицированных продуктов, прямого контакта с инфицированными животными или ингаляцией аэрозолей. Заболевание распространено повсеместно, особенно в Средиземноморском бассейне, Арабском заливе, Индийском субконтиненте, Мексике, Центральной и Южной Америке, Восточной Азии, Африке [2]. К наиболее неблагополучным регионам в РФ относится Северо-Кавказский федеральный округ. В Южно-Казахстанской области Республики Казахстан эпидемиологическая обстановка по бруцеллезной инфекции сохраняется напряженной; в 2013 году показатели заболеваемости на 100 000 населения у взрослых составил 16,12 и 8,46 — у детей до 14 лет, что вдвое выше среднереспубликанских; наиболее часто болеют мужчины (78,3%), средний возраст больных составляет $36,2 \pm 12$ лет [3; 5].

Возбудитель бруцеллеза относится к семейству *Brucellaceae*, роду *Brucella*, который включает в себя 10 самостоятельных видов, различающихся по биохимическим, метаболическим, антигенным и вирулентным характеристикам: *B. melitensis* (3 биовара), *B. abortus* (7 биоваров), *B. suis* (5 биоваров), *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti*, *B. inopinata*. К патогенным для человека бруцеллам, способным вызывать заболевание, относятся: *B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis* [8]. Клинические проявления бруцеллеза неспецифичны, характерна полисистемность и полиорганность поражений, а также вариабельность и атипичность клинических форм; на этапе диагностики заболевания до установления диагноза пациенты могут попадать к специалистам различного профиля [5].

Для лабораторной диагностики бруцеллеза у людей применяются три группы методов: первая — тесты, позволяющие выявить возбудителя заболевания и его растворимые антигены (бактериологический, биологический, иммунологические и молекулярно-генетические); вторая — методы определения специфических антител (пластинчатая реакция агглютинации — реакция Хеддлсона, реакция агглютинации в пробирках — реакция Райта, антиглобулиновая проба — реакция Кумбса, реакция непрямой гемагглютинации, иммуноферментный анализ (ИФА), непрямой иммунофлуоресцентный метод; третья — тесты, свидетельствующие о сенсибилизации организма (кожно-аллергическая проба Бюрне, реакция лизисов лейкоцитов, аллергодиа-

гностика методом проточной цитофлуориметрии) [8].

Задачей данной работы явилось описать случай микробиологической диагностики бруцеллеза на эпидемиологически благополучной территории, что направлено на привлечение внимания клиницистов к возможной встрече с данным заболеванием вне эпидемиологических регионов и бактериологов к возможному выделению возбудителя на первоначальном этапе, в обычной лаборатории клинической микробиологии.

Случай микробиологической диагностики бруцеллеза на эпидемиологически благополучной территории

Мужчина, 49 лет. В июле 2018 года обратился в одну из больниц г. Екатеринбурга с жалобами на слабость и лихорадку до 38°C , которая длится один месяц. Был госпитализирован для обследования и лечения. При опросе выяснено, что он житель Северной Осетии, приехал в Екатеринбург два месяца назад. При обследовании установлен диагноз «Многоузловатый эндемический зоб 1 ст. Объем щитовидной железы — 25,2 см³. Эутириоз. Алимтарно-конституциональное ожирение 1 ст. Индекс массы тела — 32». Для исключения инфекционной природы заболевания и в связи с лихорадкой был сделан трехкратный посев крови в течение двух дней, подозрений на бруцеллезную природу инфекции не было.

Посев трех проб крови произведен во флаконы Becton Dickinson (BD): первые два образца забраны в один день — в 19.20 при температуре у больного $37,6^{\circ}\text{C}$ и в 20.00 при температуре у больного $38,6^{\circ}\text{C}$; третий образец крови забран на следующий день при температуре у больного 39°C . Все флаконы доставлены в лабораторию клинической микробиологии одновременно и помещены в анализатор гемокультур ВАСТЕС («Becton Dickinson», США) в день забора третьей крови. Один образец прорастает на третьи сутки в 17.55; другие два образца прорастают на четвертые сутки: один в 8.00, другой в 17.00.

Применение анализатора гемокультур ВАСТЕС для выделения *Brucella* из крови не требует субкультивирования, и рост микроорганизмов возможен до окончания инкубации (5 суток). В то время как при использовании анализаторов гемокультур ESP и VacTAlert, когда бруцеллез подтвержден клинически, требует инкубации флаконов с кровью в них минимум 21 день [10].

При микроскопии мазков гемокультур из флаконов BD, окрашенных по Граму: разрушенные клетки крови, зернистость или граммотрицательные коккобациллы. Сделан высев на 5% кровяно-сывороточный и шоколадный агар (с лошадиной кровью), инкубация при 37°C : 5% кровяно-сывороточный агар в условиях обычной атмосферы, шоколадный агар в CO_2 инкубаторе. На первые сутки: в 8.00 роста нет, в 15.00 пылевидные колонии без гемолиза, на вторые сутки — серо-белые мелкие колонии без гемолиза (рис. 1, 2).

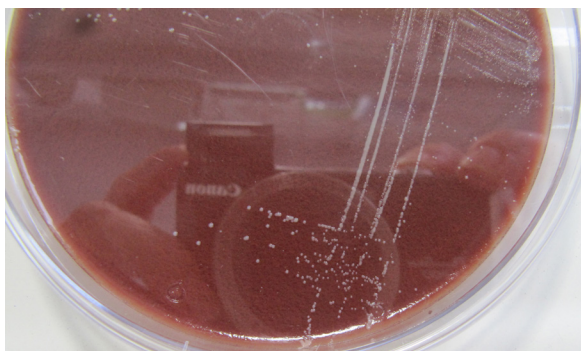


Рис. 1. Рост *Brucella* spp. на шоколадном агаре

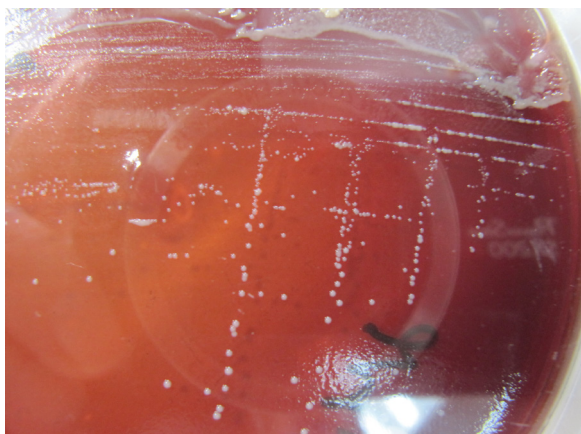


Рис. 2. Рост *Brucella* spp. на 5% кровяно-сывороточном агаре

При микроскопии мазка из культуры — грамотрицательные коккобациллы. Проведен тест Грегерсена: в капле 3%-ного водного раствора КОН на предметном стекле эмульгируют бактериальную массу, взятую с плотной среды. Спустя несколько секунд после перемешивания за петлей тянутся слизистые нити, что указывает на принадлежность исследуемой колонии к грамотрицательному виду. Грамположительные бактерии слизистые нити не образуют. Исследуемая культура в тесте Грегерсена положительная, а также тесты оксидазы и каталаза положительны. Произведена первичная идентификация: Клиглер не ферментирует лактозу и глюкозу, H₂S не образует; цитрат Симмонса не разлагает; среда для теста на окисление-ферментацию (среда Хью-Лейфсона, О/Ф) +/- щелочение; мочевина по Заксе+ (сработала в течение 30 мин.); подвижность (рис. 3); индол-; фенилаланиндезаминаза-; растет на мясопептонном агаре и сывороточном косяке.

На этом этапе идентификации микроорганизм определен как неферментирующий и отнесен к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ).

При идентификации культуры на Combo 44 для автоматического Microscan Walkaway 96 («Siemens», Германия) и ID 32 GN для полуавтоматического анализатора ATB Expression («Bio Merieux», Франция). Результат:

1) Combo 44 низкая вероятность идентификации: *Bergeyella (Weksella) zoohelcum* — 63,59%; *Oligella ureolytica* — 21,09%; *Moraxella* spp. — 10,93%; *Vibrio* sp. SF — 4,40%; 2) ID 32 GN — *Moraxella lacunata* — 93,3%, *Myroides*

spp. — 6,2% (идентификация не действительна ранее, чем через 48 часов). В реестре микроорганизмов автоматического анализатора Microscan Walkaway 96 («Siemens», США) и полуавтоматического анализатора ATB Expression («Bio Merieux», Франция) *Brucella* spp. отсутствует.

Bergeyella (Weksella) zoohelcum является грамотрицательной, палочковидной, аэробной, неподвижной бактерией рода *Bergeyella*. В основном встречается в верхних дыхательных путях собак, кошек и других млекопитающих. Известно, что *B. zoohelcum* вызывает у людей целлюлит, тенозинвит, абсцесс ноги и септицимию, обусловленное укусами животных [9]. При росте только в одном флаконе можно было заподозрить контаминацию. Таким образом, на этом этапе не удалось достоверно провести идентификацию грамотрицательной бактерии.

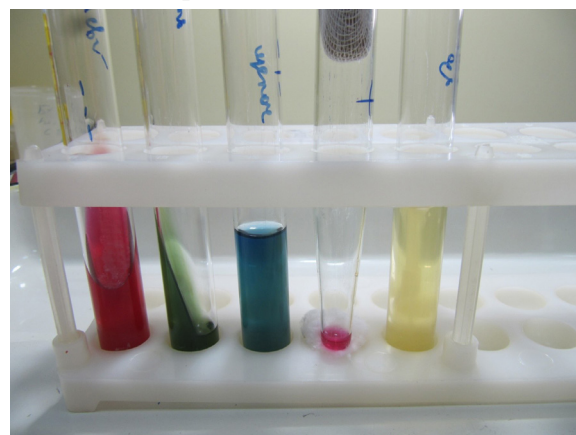


Рис. 3. Рост *Brucella* spp. на средах. Среда расположена слева направо: Клиглер, цитрат Симмонса, О/Ф, мочевина по Заксе, подвижность

Для определения рода выделенной гемокультуры проведена дифференциация между неферментирующими грамотрицательными коккобациллами (табл. 1) [10].

При дифференциации с другими неферментирующими грамотрицательными бактериями заподозрена *Brucella* spp. (табл. 2) [4; 10].

В это же время была исследована сыворотка крови от больного — реакции Райта и Хеддлсона положительные, выявлены антитела к бруцелле, титр 1:400 (400 МЕ/мл).

Согласно нормативной документации, исходя из клинических признаков и эпидемиологического анамнеза при подозрительном или вероятном случае заболевания бруцеллеза, лабораторная диагностика включает метод флуоресцирующих антител (МФА), ИФА, ПЦР, в лаборатории работающих с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности), и только при положительном результате проводится бактериологический (культуральный) метод — выделение штаммов *Brucella* spp. и биологический метод — выделение штаммов *Brucella* spp. от биопробных животных [6]. Идентификация *Brucella* spp. включает: отношение к избыточному содержанию углекислоты в воздухе; способность к образованию

сероводорода; редуцирующая активность в отношении красителей (тионин, основной фуксин); агглютинация моноспецифическими бруцеллезными сыворотками (anti-abortus, anti-melitensis); чувствительность к бруцеллезным бактериофагам; ПЦР с родовыми и видовыми праймерами; антибиотикограмма. Генетическое типирование — мультилокусное типирование областей генома с переменным числом tandemных повторов (MLVA). Серологическая диагностика: реакция Хеддельсона; реакция агглютинации; реакция непрямой ге-

магглютинации; ИФА [6].

В данном случае диагноз «Бруцеллез» у пациента был поставлен на основании: 1) исследования сыворотки крови от больного — реакции Райта и Хеддельсона положительные, выявлены антитела к бруцелле, титр 1:400 (400 МЕ/мл); 2) подтверждения лаборатории, работающей с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности), что выделенные гемокультуры относятся к *Brucella* spp. на основании обнаружения антигена *Brucella* методом иммунофлуоресценции и обнаружения ДНК *Brucella* spp. методом ПЦР.

Таблица 1

Дифференциация между грамотрицательными коккобациллами

Тест	<i>Brucella</i> sp.	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	<i>Oligella ureolytica</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
Оксидаза	+*	+	-	+	+	+
Подвижность	-	+	-	-	+/-	-
Уреаза	+	+	+/-	+	+	+/-
Редукция нитрата	+	+	-/+	+	+	непригодный
Рост на кровяном агаре	+	+	+	+	+	-
Морфология при окраске по граму	крошечные слабоокрашенные коккобациллы	маленькие палочки и коккобациллы, окрашены ярко	большие коккобациллы, окрашены ярко	коккобациллы, окрашены ярко	крошечные коккобациллы	маленькие коккобациллы
Агглютинация с <i>Brucella</i> антисыворотками	+*	-	-	-	-	-

Прим.:* *Brucellacanis* вариабельна по оксидазе и не агглютинирует с *Brucella* антисыворотками.

Ключевые характеристики изолятов *Brucella*

Таблица 2

Тест	<i>B. abortus</i>	<i>B. melitensis</i>	<i>B. suis</i>	<i>B. canis</i>
Чувствительность к красителю: - основному фуксину - тионину	резистентный чувствительный	резистентный резистентный	резистентный резистентный	резистентный резистентный
Гидролиз мочевины	> 90 мин.	> 90 мин.	< 90 мин.	< 90 мин.
Продукция H ₂ S	2-5 дней	нет	1-6 дней	нет
Лизис Tb фагом	+	-	-	-
Потребность в CO ₂	+/-	-	-	-

Заключение

В Свердловской области в течение нескольких десятилетий не регистрируются собственные случаи бруцеллеза, кроме завозных, поэтому пациент с лихорадкой может обратиться в любое лечебное учреждение. Диагностика лихорадки неясной этиологии, помимо общеклинических лабораторных тестов показателей крови, должна начинаться с определения возбудителя. Данный случай демонстрирует необходимость клиницистам и бактериологам быть настороженными и проводить дифференциальную диагностику, в том числе с особо опасными инфекциями, у пациентов без специфической клинической симптоматики. При дифференциальной диагностике с бруцеллезом важным методом исследования является реакция Хеддельсона и реакция Райта для выявления специфических

антител в сыворотке крови. Бактериологическая (культуральная) диагностика бруцеллеза хотя и является «золотым стандартом», в неспециализированной лаборатории затруднена в связи со сложностями идентификации и должна проводится в лаборатории, имеющей разрешение с микроорганизмами 2 группы патогенности. Существенное диагностическое значение при идентификации культуры *Brucella* spp. имеет метод флуоресцирующих антител и ПЦР. Микробиологическая диагностика лихорадки неясной этиологии вызывает затруднения, прежде всего, с недостаточной информированностью и настороженностью врачей, а также из-за биологических свойств возбудителя, являющегося труднокультивируемым и относящимся к группе неферментирующих грамм-отрицательных бактерий (НГОБ).

Литература

1. Бруцеллез (клиника, диагностика, лечение, организация медицинской помощи) : метод. пособие для врачей-инфекционистов и врачей общей практики / И. В. Санникова, П. Н. Попов, О. М. Павлова [и др.]. – Ставрополь : Издательство СтГМУ, 2015. – 84 с.
2. Бруцеллез у взрослых. Клинические рекомендации // Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов», 2014. – 71 с.
3. Клинико-эпидемиологические проявления бруцеллеза у детей в Южно-Казахстанской области / Ф. А. Бердалиева, Б. З. Долтаева, М.М. Оразова [и др.] // Журнал инфектологии. Материалы Третьего конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – 2014. – Т. 6. – № 2. – С. 19.
4. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий (аэробных и факультативно анаэробных) / Р. Вейант, У. Мосс, Р. Уивер [и др.] / пер. с англ. А. М. Деминой и др.; под ред. В. А. Курчавова, Г. А. Осипова. – М. : Мир, 1999. – 790 с.
5. Павлова, О. М. Трудности диагностики бруцеллеза. Как не пропустить инфекцию [Электронный ресурс] / О. М. Павлова, О. Г. Голубь, Д. А. Дейнека // Материалы III Всероссийской научно-практической конференции «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания». – Сочи, 2016. – Режим доступа: <http://iia-ru.ru/upload/iblock/537/53712a02033d7d243828c01f88f7fca1.pdf>.
6. Порядок эпидемиологической и лабораторной диагностики особо опасных, «новых» и «возвращающихся» инфекционных болезней : метод. указания. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. – 48 с.
7. Урогенитальные проявления бруцеллеза / Д. Р. Ахмедов, Б. И. Отараева, Г. Р. Гипаева [и др.] // Журнал инфектологии. Материалы Третьего конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – 2014. – Т. 6. – № 2. – С. 13.
8. Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллеза : метод. Указания. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017. – 60 с.
9. Bacteremia caused by *Bergeyellazoohehelcumin* an infective endocarditis patient: case report and review of literature / Y. Chen, K. Liao, Lu Ai [et al.] // BMC Infect Dis. – 2017. – Vol. 17. – P. 271.
10. Manual of clinical microbiology / editor in chief Pю R. Murray. – 7th ed. – Washington, 1999. – 1773 p.

Сведения об авторе

Л.Г. Боронина — д-р мед. наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии, Уральский государственный медицинский университет.

Адрес для переписки: boroninalg@mail.ru.

КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА У ДЕТЕЙ: УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ И ПЕРЕНЕСШИХ РЕЗЕКЦИЮ КИШЕЧНИКА

УДК 616-093/-098.34-089.87

Л.Г. Боронина^{1,2}, Е.В. Саматова², Г.В. Федотова¹

¹ Уральский государственный медицинский университет,

г. Екатеринбург, Российская Федерация;

² Областная детская клиническая больница,

г. Екатеринбург, Российская Федерация.

Статья посвящена культуральному исследованию кишечной микробиоты у детей первого года жизни. У детей, перенесших резекцию кишечника (n=47), по сравнению с условно здоровыми (n=121), более высокие уровни факультативно-анаэробной условно патогенной флоры, в частности группы *Enterobacteriaceae* (*E. coli* лактозонегативная и гемолитическая; *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) и группы *Morganellaceae* (*Proteus* spp.), а также *Staphylococcus aureus*, при меньшем содержании анаэробов.

Ключевые слова: кишечная микробиота, дети, культуральное исследование, резекция кишечника.

INTESTINAL MICROBIOTES IN CHILDREN: CONDITIONALLY HEALTHY AND WHO UNDERWENT INTESTINAL RESECTION

L.G. Boronina^{1,2}, E.V. Samatova²

¹ Ural state medical university, Yekaterinburg, Russian Federation;

² Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation.

The article is devoted to the cultural research of the intestinal microbiota in children of the first year of life. In children who underwent intestinal resection (n=47), in comparison with conditionally healthy (n=121), higher levels of facultative-anaerobic conditionally pathogenic flora, in particular the *Enterobacteriaceae* group (*E. coli* lactose-negative) and hemolytic, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) and group *Morganellaceae* (*Proteus* spp.), as well as *Staphylococcus aureus*, with a lower content of anaerobes.

Keywords: intestinal microbiota, children, culture, intestinal resection.

В настоящее время важная роль при оценке влияния как на текущее, так и на будущее состояние здоровья человека отводится микробиоте кишечника с учетом особенностей

ее формирования, начиная с периода новорожденности [1]. Микробиота человека представляет собой совокупность множества видов микроорганизмов. Индивидуальность