

(ФИ:  $p = 0,001$ ; ФЧ:  $p = 0,00003$ ). Следует отметить, что способность нейтрофильных гранулоцитов к продукции АФК значимо не изменялась.

Таким образом, у обследуемых с рожей и рожистым воспалением наблюдаются изменения в функциональной активности нейтрофилов, которые носят разнонаправленный характер.

### **Выводы**

1. У пациентов рожей способность нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей кислород-зависимым и кислород-независимыми путями превышает аналогичные показатели здоровых лиц ( $p < 0,005$ ).

2. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с рожей и рожистым воспалением снижена в сравнении с контрольной группой (ФИ:  $p = 0,001$ ; ФЧ:  $p = 0,00003$ ).

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Особенности клиники и дифференциальной диагностики рожи. Обзор / В. А. Кадышев [и др.] // Архивь вунтрянней медуцины. – 2017. – № 7. – С. 327–339.
2. Хаитов, Р. М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 328 с.
3. Инструкция по применению метода диагностики нарушений фагоцитарного звена иммунитета по оценке потенциальной бактерицидной активности нейтрофилов: утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 18. 06. 2015. – Гомель: ГГМУ, 2015 – 9 с.
4. Yipp, B. G. NETosis: how vital is it? / B. G. Yipp, P. Kubes // Blood. – 2013. – Vol. 12, № 16. – P. 2784–2794.

**УДК [616.98:579.852.13]:616.34-008.314.4-07**

**А. С. Мартинчик**

*Научные руководители: к.б.н., доцент Н. И. Шевченко*

*Учреждение образования*

*«Гомельский государственный медицинский университет»*

*г. Гомель, Республика Беларусь*

## **РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ CLOSTRIDIODES DIFFICILE**

### **Введение**

Известно, что *Clostridioides difficile* – это один из возбудителей внутрибольничной диареи у пациентов, получавших антимикробную терапию. Сама распространенность инфицирования *C. difficile* становится все более актуальной для экономически развитых стран, где больницы широко используют антибиотики широкого спектра действия при лечении пациентов [1, 2]. По литературным данным, в США ежегодно возникает свыше 250 000 случаев *C. difficile*-ассоциированной диареи, экономический ущерб от которых ежегодно составляет около 1 млрд долл. США [3, 4]. Антибиотико-ассоциированная диарея, вызванная *C. difficile*, характеризуется быстрым развитием клинической симптоматики, тяжестью клинического течения, угрожающими жизни пациента осложнениями. В совокупности это не только затрудняет ее лечение, но и ведет к огромным затратам организаций здравоохранения, связанных с диагностикой и профилактикой данной патологии [3, 4, 5]. Отдельно стоит отметить еще и сложности в диагностике, так как не все лаборатории способны в полном объеме провести необходимые диагностические мероприятия. Все это вынуждает врачей искать новые методы диагностики клостридиальной инфекции, а также методы лечения, что обуславливает актуальность проблемы.

*C. difficile* – грамположительный облигатный анаэроб семейства *Peptostreptococcaceae*, который является представителем нормальной микрофлоры кишечника у детей до

15 лет и у пожилых людей в возрасте старше 65 лет [6, 7]. Микроорганизм имеет свою специфику метаболизма, что обуславливает полирезистентность к основным группам antimicrobных препаратов. Кроме того, в процессе жизнедеятельности штаммы микроорганизмов продуцируют токсины А и В (А/В), бинарный токсин (*Clostridioides difficile transferase*), которые являются родоспецифическими и обладают выраженным цитопатическим действием. Токсины секретируются при активном размножении возбудителя. Все вырабатываемые *C. difficile* токсины обладают синергичным действием, разрушают плотные межклеточные контакты и *lamina propria* слизистой оболочки, способствуют дезорганизации цитоскелета клетки, выработке провоспалительных медиаторов колоноцитами, макрофагами, дендритными и тучными клетками с последующей инфильтрацией слизистой оболочки нейтрофилами и их проникновением в просвет толстой кишки. Кроме того, *C. difficile* выделяет особые факторы, одним из которых является глутаматдегидрогеназа (ГДГ) – родоспецифический фермент, который катализирует превращение глуманина в  $\alpha$ -кетоглутарат. Он имеется у многих эукариот и прокариот, включая ряд видов рода *Clostridium*, в том числе *C. difficile*. ГДГ кодируется геном *Glud* и присутствует у всех штаммов *C. difficile* вне зависимости от выработки токсинов. ГДГ начинает выделяться микроорганизмом в процессе размножения, а во всех случаях образование вегетативных форм происходит при нарушении микробиоты кишечника, характеризующимся снижением количества представителей типа Firmicutes и Bacteroides и снижением колонизационной резистентности против *C. difficile*. Фермент глутаматдегидрогеназа обладает высокой чувствительностью для диагностики клостридиальной инфекции и имеет прогностическую ценность. Вместе с токсинами А и В является наиболее значимыми маркерами клостридиальной инфекции [8, 9].

Для диагностики клостридиальной инфекции разработаны и используются различные методы: культуральный метод, анализ нейтрализации цитотоксичности культуры клеток, ИФА/ИХА для определения токсинов А и В, определение антигена глутаматдегидрогеназы (ГДГ), тесты амплификации нуклеиновых кислот NAAT (ПЦР), каждый из которых обладает рядом преимуществ и недостатков [4, 6]. Актуальна диагностика с использованием иммунохроматографического теста для определения токсинов А/В непосредственно «у постели больного» (point of care)

Выделение чистой культуры *C. difficile* – хоть и признано золотым стандартом диагностики, занимает не менее 48 часов и требует больших материальных затрат, связанных с созданием строгих анаэробных условий для культивирования. Кроме того, дополнительно после получения роста микроорганизмов необходимо определить продукцию ими токсинов, что значительно снижает эффективность культурального метода. Молекулярно-генетический метод также имеет ряд недостатков – метод не позволяет установить токсин-продуцирующие штаммы микроорганизмов, определяет ДНК не только жизнеспособных, но и погибших бактерий [11].

На сегодняшний день наибольшее практическое использование имеют тесты, выполняемые в автоматическом режиме с использованием различных анализаторов по определению токсинов А/В, а также антигена ГДГ, причем, последний недостаточно активно используется в качестве диагностического теста.

### **Цель**

Установить частоту встречаемости антигена глутаматдегидрогеназы и токсина А/В *C. difficile* у пациентов с синдромом диареи, получающих антибактериальную терапию.

### **Материал и методы исследования**

Проанализированы результаты исследований клинического материала (фекалии) от 80 пациентов с синдромом диареи, получавших антибактериальную терапию. Средний

возраст пациентов составил 47 лет  $\pm$  11, среди них женщин – 37, мужчин – 44. Определение антигена глутаматдегидрогеназы и токсинов А и В одновременно выполняли в группе бактериологических исследований лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» с использованием иммунофлюоресцентного анализатора «Vidas». Оценка результатов исследований выполнялась качественно по величине флюоресценции, которая прямо пропорциональна определяемому показателю: токсины А / В *C. difficile* в стуле – отрицательный  $< 0,13$ , сомнительный  $\geq 0,13 - < 0,37$ , положительный  $\geq 0,37$ ; антиген глутаматдегидрогеназа – отрицательный  $< 0,10$ , положительный  $\geq 0,10$ .

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

В таблице 1 представлены полученные результаты исследования.

Таблица 1 – Результаты тестирования комбинации тестов для идентификации антигена глутаматдегидрогеназы *C. difficile* и его токсинов

Всего образцов	Определяемые параметры		
	ГДГ+ А/В-	ГДГ+ А/В+	ГДГ- А/В-
80	13	18	49

Как видно из таблицы, из 80 исследованных образцов 49 оказались отрицательными (61,3 %), что указывает на неклостридиальную этиологию диареи у таких пациентов. Положительные результаты тестов распределились следующим образом: в клиническом материале 18 пациентов обнаружены и токсины, и антиген глутаматдегидрогеназа (22,5 %). Активное размножение *C. difficile* с детекцией ГДГ без продукции токсинов А/В отмечено для 13 пациентов (16,3 %).

Токсины А/В отдельно, без ГДГ не определялись, так как, согласно данным исследований, цитотоксическое воздействие токсина проявляется себя в течение 24 часов с момента поступления токсина в клетку. Это обусловлено сложностью механизма действия токсинов. Соответственно, активация механизма апоптоза в клетке происходит постепенно, после запуска токсином ряда реакций, сопряженных с активацией каспаз. Поэтому, появление токсина в исследуемом материале наблюдается уже после фазы активного размножения микроорганизма [12, 13]. Результаты, где обнаруживаются только токсины А/В, признаются сомнительными, а биологический материал от пациентов забирается повторно, на новое исследование. Точно такой же порядок действий рекомендуют производители оборудования, на котором и проводились исследования

Колонизация *Clostridioides difficile* характеризуется идентификацией патогена (положительные результаты GDH) при отсутствии симптомов инфекции и отсутствии выделения токсинов (отрицательных результатах ИФА на токсины А и В). Исходя из этого, фермент ГДГ определяется доступными методами раньше, когда результаты исследований на токсины еще дают сомнительные результаты.

#### **Выводы**

Дискордантные результаты анализов на наличие *Clostridioides difficile* и её токсинов у пациента с диарейным синдромом требуют тщательной клинической оценки и принятия решения об эмпирической антиклостридиальной терапии в случае высокой вероятности клостридиальной инфекции даже при отрицательных результатах ИФА на токсины А и В, а также исключения других причин диарейного синдрома. Поэтому, последние алгоритмы диагностики клостридиальной инфекции, включающие определение антигена глутаматдегидрогеназы, позволяют повысить прогностическую ценность положительного результата для диагностики синдрома диареи, связанного с приемом антимикробных препаратов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections / S. S. Magill [et al.] // N Engl J Med. – 2014. – Vol. 370. – P. 1198–208.
2. Rupnik M., Wilcox M. H., Gerding D. N. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis // Nat Rev. – 2009. – № 7. – P. 526–36.
3. Kyne L., Hamel M.B., Polavaram R., Kelly C.P. health care costs and mortality associated with nosocomial diarrhea due to clostridium difficile. clin. Infect. dis. – 2002. – № 34. – P. 346–53.
4. Wilkins, T. D. Clostridium difficile testing: after 20 years, still challenging / T. D. Wilkins, D. M. Lyster // J. clin. Microbiol. – 2003. – № 41. – P. 531–4.
5. Desai, K., Gupta, S.B., Dubberke, E.R., Prabhu, V.S., Browne, C., Mast, T.C. Epidemiological and economic burden of Clostridium difficile in the United States: estimates from a modeling approach. BMC Infect. Dis. – 2016. – № 16. – P. 303.
6. Rivera EV, Woods S. Prevalence of asymptomatic Clostridium difficile colonization in a nursing home population: a cross-sectional study // J Gend Specif Med. – 2003. – № 6(2). – P. 27–30.
7. Zakharova NV, Fil TS. Microbiological and clinical features of the infection of Clostridium difficile [Микробиологические и клинические особенности инфекции Clostridium difficile] // Инфекционные болезни. – 2015. – № 13 (3). – P. 81–86.
8. Benedek, O. Laboratory experience with the liaison analyzer in the diagnosis of Clostridium difficile – associated diarrhea / O. Benedek, A. Podbielski, P. Warnke // European Journal of Microbiology and Immunology. – 2016. – № 6. – P. 215–218.
9. Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. (2014). Clostridium difficile binary toxin CDT: Mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes, 5, 1-13.
10. Cohen S.H., Gerding D.N., Johnson S., Kelly C.P., Loo V.G., McDonald L.C. et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA).
11. Bartlett J.G., Gerding D.N. Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. clin. Infect. dis. – 2008; 46 (Suppl. 1). – S12-8.
12. Gieseemann T., Egerer M., Jank T., Aktories K. Processing of Clostridium difficile toxins // J. Med. Microbiol. – 2008. – № 57. – P. 690–6.
13. Jank T., Gieseemann T., Aktories K. Rho-glucosylating Clostridium difficile toxins A and B: new insights into structure and function. glycobiology. – 2007. – № 17 (4). – P. 15S–22.

УДК 577.175.328:612.6-092-053.2

**Т. А. Плотникова<sup>1</sup>, В. В. Сыругина<sup>2</sup>**

*Научный руководитель: старший преподаватель К. С. Макеева*

*<sup>1</sup>Учреждение образования*

*«Гомельский государственный медицинский университет»,*

*<sup>2</sup>Государственное учреждение здравоохранения*

*«Гомельская центральная городская детская клиническая поликлиника»*

*г. Гомель, Республика Беларусь*

## **АНАЛИЗ УРОВНЯ ПРОЛАКТИНА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**

### ***Введение***

В настоящее время репродуктивное здоровье молодых людей вызывает серьезную озабоченность у медицинского сообщества. По данным Всемирной организации здравоохранения, более 60 % подростков страдают от проблем с репродуктивной системой [1]. В подростковом возрасте дети особенно восприимчивы к воздействию целого ряда негативных факторов медико-социального, психологического и экологического характера. В результате отсутствия должного внимания к здоровью в подростковом возрасте каждая третья женщина имеет проблемы в активном репродуктивном периоде жизни. В последние годы интерес привлекают заболевания и синдромы, связанные с нарушением секреции пролактина [1]. Избыточная секреция пролактина, которому ранее отводилась лишь скромная роль в регуляции лактации, довольно часто служит причиной нарушений менструальной и генеративной функций. Частота гиперпролактинемии в популяции со-