

## Сравнительная оценка уровня резистентности микрофлоры в отделении гематологии

Ю.В. Шатохин, Л.И. Дятчина, И.В. Снежко, Г.Ю. Нагорная, А.Г. Саватеева, Г.А. Семиколенова, Е.А. Телеснин

ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Росздрава, кафедра гематологии и трансфузиологии Факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, кафедра гастроэнтерологии и эндоскопии Факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов с курсом клинической фармакологии, Ростов-на-Дону

**Введение.** Необходимость мониторинга микрофлоры в гематологических отделениях определяется высокой частотой резистентных штаммов микроорганизмов, видовыми изменениями в составе микрофлоры на фоне частого применения антибактериальных препаратов. Целью работы явился рациональный выбор антибактериальных препаратов и повышение эффективности антибактериальной терапии с учетом приобретенной резистентности выделенных госпитальных штаммов микроорганизмов.

**Материалы и методы.** Проведено изучение состояния микробиоценоза верхних дыхательных путей, зева и мокроты гематологических больных с определением чувствительности микрофлоры к антибиотикам за период с 2008 по 2011 г. Общее количество бактериологических исследований составило 522. Забор материала проводили через 48–72 ч после поступления пациента в отделение. Сравнительный анализ данных проводили с результатами микробиологических исследований за период 2002–2004 гг. и 2005–2008 гг.

**Результаты и обсуждение.** По результатам исследования доля грамположительной микрофлоры составила 54,8%, грамотрицательной – 28,4%, грибы – 13%, прочая микрофлора – 4,5%. Среди грамположительных микроорганизмов чаще высевались стафилококки и стрептококки. Доля выделенных штаммов стрептококков составила 20,5% (зеленячий – 14,4%, гемолитический – 6,1%). Определение чувствительности выделенных штаммов стрептококков к пенициллинам показало рост устойчивости к ним данных возбудителей до 25%, с сохранением чувствительности к ванкомицину. Доля выделенных штаммов стафилококков составила 17,8%. Золотистый стафилококк высевался в 6,1% случаев, т.е. в 2,6 раза реже, чем эпидермальный (12,8%;  $p \leq 0,01$ ). Стафилококки сохраняли чувствительность к оксациллину и ванкомицину. Доля выделенных штаммов энтерококка увеличилась и составила 16,5%, преимущественно выделялся *Enterococcus faecalis* (14,9% случаев), *Enterococcus faecium* встречался редко (1,6% случаев). Среди грамотрицательных возбудите-

лей чаще высевались неisserии, реже гемофильная палочка и представители группы *Enterobacteriaceae* – клебсиеллы (*Klebsiella pneumoniae*), кишечная палочка, реже протей. Все выделенные штаммы гемофильной палочки (4,4%) и неisserии (14,2%) были чувствительны к защищенным аминопенициллинам, нетилмицину, ципрофлоксацину. Выделенные штаммы *Enterobacteriaceae* сохраняли чувствительность к цефалоспорином III и IV поколений и карбапенемам. Более низкая чувствительность определялась к фторхинолонам (ципрофлоксацину). Грамотрицательные возбудители нередко выделялись в виде микста с грамположительными возбудителями и грибами. Было выделено 9 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, удельный вес возбудителя составил 1,7%. Уровень грибковой микрофлоры, преимущественно за счет грибов рода *Candida*, составлял 13%. Отмечался рост устойчивых к амфотерицину В и флуконазолу штаммов не только за счет выделения *C. krusei*, но и *C. albicans*, резистентных к системным антимикотикам. Таким образом, сравнение данных, полученных в 2008–2011 гг., с результатами мониторинга микрофлоры 2002–2004 гг. и 2005–2007 гг. показало преобладание грамположительной микрофлоры. При этом отмечался рост резистентности выделенных штаммов стрептококков к пенициллину и энтерококков к ампициллину. В то же время все выделенные штаммы (стрептококки, стафилококки и энтерококк) сохраняли чувствительность к ванкомицину, а энтерококки к аминогликозидам (нетилмицину). Грамотрицательные возбудители сохраняли высокую чувствительность к цефалоспорином III и IV поколений, карбапенемам, меньшую – к фторхинолонам (ципрофлоксацину).

**Заключение.** Учитывая высокую частоту выделения стафилококков и энтерококков при проведении эмпирической терапии фебрильной нейтропении, лечение следует начинать с защищенных пенициллинов (пиперациллина/тазобактама и тикарциллина/клавуланата) и цефалоспоринов (цефоперазон/сульбактам) в виде монотерапии или в комбинации с аминогликозидами.

## Экспрессия белка Ki-67 гемопоэтическими клетками периферической крови у больных хроническим миелоидным лейкозом, получающих терапию ингибиторами тирозинкиназы

Е.В. Шороп, А.И. Гордиенко, Т.П. Перехрестенко, Н.Н. Третяк

ГУ Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины, Киев, Украина

**Введение.** У больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) с разным ответом на терапию ингибиторами тирозинкиназы (ТКИ) изучали особенности экспрессии гемопоэтических клетками периферической крови внутриядерного негистонного белка Ki-67.

**Материалы и методы.** Экспрессию гемопоэтическими клетками белка Ki-67, являющегося маркером пролиферации, анализировали на проточном лазерном цитофлюориметре FACSScan (BD, США) после окраски моноклональными антителами из набора PE Mouse Anti-Human Ki-67 Set (BD Pharmingen, США). Сбор данных осуществляли в программе LYSYS-II Ver. 1.1 (BD, США), а их анализ с помощью компьютерной программы freeFCS-reader (Е. Шороп, авт. св. №38745 от 23.06.11). Результаты выражали в виде процента позитивных клеток ( $M \pm m$ ). Статистическую значимость различий изучаемых показателей между группами больных определяли по *t*-критерию Стьюдента. В зависимости от ответа на ТКИ больные были разделены на две группы. В 1-ю группу вошли больные ХМЛ в хронической фазе ( $n = 16$ ) с оптимальным ответом на терапию ТКИ I–II поколения; во 2-ю группу ( $n = 9$ ) – пациенты резистентные к этой терапии. Также были обследованы больные ХМЛ в хронической фазе ( $n = 9$ ), не принимавшие ТКИ.

**Результаты и обсуждение.** Обнаружено, что в группе больных ХМЛ с оптимальным ответом на терапию ТКИ в среднем статистически значимо ( $p < 0,05$ ) снижено в 3 раза количество гемопоэтических клеток крови, экспрессирующих белок Ki-67 по сравнению с аналогичным показателем в группе пациентов, резистентных к проводимой терапии –  $2,6 \pm 0,6\%$  против  $7,9 \pm 2,6\%$ . При этом у больных с оптимальным ответом на терапию ТКИ число гемопоэтических клеток, экспрессирующих Ki-67, было меньше ( $p < 0,05$ ), чем у больных, не получавших указанной терапии  $10,2 \pm 2,4\%$ . Кроме того, полученные результаты сравнивали с показателем экспрессии белка Ki-67 гемопоэтическими клетками периферической крови практически здоровых лиц контрольной группы ( $n = 7$ ), у которых он в среднем составлял  $0,7 \pm 0,3\%$ . Так, выявлено, что содержание в крови гемопоэтических клеток, несущих белок Ki-67 у больных ХМЛ с оптимальным ответом на терапию ТКИ, статистически значимо ( $p < 0,05$ ) превышало в 3,7 раза контрольное значение. Тогда как у пациентов ХМЛ резистентных к терапии количество гемопоэтических клеток, экспрессирующих белок Ki-67, было в среднем статистически значимо ( $p < 0,01$ ) выше в 13,1 раза, чем в контрольной группе.

**Заключение.** У больных ХМЛ с оптимальным ответом на

терапию ТКИ, в отличие от пациентов резистентных к этой терапии, в крови уменьшалось количество гемопоэтических

клеток, экспрессирующих белок Ki-67, что свидетельствует о снижении их пролиферативной активности.

### Выявление ложной HLA идентичности в реакции MLC при генотипическом подборе доноров костного мозга

А.П. Шпакова, Т.И. Булычева, Л.Л. Головкина, Р.М. Кутьина, Б.Б. Хасигова, Т.Д. Пушкина, Л.С. Любимова, Л.А. Кузьмина  
ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

**Введение.** В работе представлены результаты по обнаружению в реакции смешанной культуры лимфоцитов – MLC "ложной HLA идентичности" донора (D) и реципиента (R) по негенотипированным в PCR генам и аллелям локусов HLA при подборе доноров сибсов для трансплантации костного мозга (ТКМ).

**Материалы и методы.** Подбор осуществляли с помощью HLA-генотипирования в реакции PCR-MSSP методом (реактивы "ДНК технология") локуса DRB1 по низкому разрешению, DQB1 по высокому разрешению и определения совместимости D и R в реакции MLC по включению 3Н-тимидина в пролиферирующие лимфоциты. За отсутствие пролиферативного ответа (ПО) принимали RR (Relative Response)  $\leq 15\%$ . При выявлении HLA геноидентичности, но при наличии пролиферативного ответа в MLC проводили генотипирование всех имеющихся сибсов и родителей в семьях. При этом дополнительно типировали PCR-SSP методом (реактивы "Protrans") по высокому разрешению локусы DRB1, DQA1 и DPB1. Подбор осуществлен 230 больным с гематологическими заболеваниями с их 243 сибсами.

**Результаты и обсуждение.** Из всех обследованных больных 3 реципиента оказались несовместимыми в реакции MLC с их 7-ю HLA-DRB1, -DQB1 идентичными D: 5 D были гаплоидентичными и 2 D – HLA-неидентичными по двум С6 хромосомам с R. В семье Я. при генотипировании была определена HLA-идентичность D и R на аллельном уровне по всем трем локусам: DRB1, DQA1 и DQB1, однако в реакции MLC имелся пролиферативный ответ, который составил: R vs D = 26,4% и D vs R = 36,2%. Как оказалось, ПО был вызван различиями гаплоидентичного D с R всего по одному гену нетипированного локуса DPB1. В семье А. была выявлена идентичность двух D с R по двум генам DRB1 и двум аллелям DQB1, но пролиферативный ответ в

MLC составил: R vs D1 = 65,1%, D1 vs R = 42,1%; R vs D2 = 68,5%, D2 vs R = 55,1%. ПО был вызван в этом случае различиями гаплоидентичных доноров с R по одному аллелю DRB1, одному аллелю DQA1 и одному гену DPB1. В семье Г. была определена идентичность D1 и D2 с R по двум генам DRB1 и по двум аллелям DQB1, однако в MLC наблюдали следующий результат: R vs D1 = 63,1%, R vs D2 = 14,2%, D1 vs R = 22,3%; D2 vs R = 28,6%, ПО был вызван отличиями гаплоидентичных D1 и D2 с R по одному аллелю DRB1 и одному гену DPB1 различающихся материнских хромосом. У D3 и D4 этой семьи была определена идентичность с R по двум генам DRB1 и по двум генам DQB1, однако в MLC наблюдали следующий результат: R vs D3 = 23,6%, R vs D4 = 9,5%, D3 vs R = 17,4%; D4 vs R = 22,1%, ПО при этом был вызван отличиями HLA генотипически неидентичных D3 и D4 с R по одному аллелю DRB1 и одному гену DPB1 различающихся материнских хромосом и по одному аллелю DQB1 различающихся отцовских хромосом. Причиной изначально "ложной HLA идентичности" гаплоидентичных сибсов с больными по HLA класса II различающихся хромосом С6 в семьях Я., А. и Г. оказалась гомозиготность генов и аллелей HLA класса II гомологичных хромосом С6 одного из родителей сибсов. Особенно интересным оказалось, что причиной "ложной HLA идентичности" по HLA класса II HLA неидентичных D3 и D4 в семье Г. оказалась гомозиготность генов и аллелей HLA класса II гомологичных хромосом С6 обоих родителей.

**Заключение.** Проведенные исследования свидетельствуют о зависимости пролиферативного ответа в MLC от генетической неидентичности пары донор – реципиент по HLA класса II, что указывает на информативность реакции MLC и на необходимость включения ее в комплекс методов при подборе HLA-идентичного донора.

### Инфекции мочевыводящих путей в отделении реанимации гематологического стационара

Е.М. Шулуто, Т.Е. Глухова, К.В. Яцков, И.Н. Шлыкова

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

**Введение.** Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) занимают второе место среди всех нозокомиальных инфекций у пациентов отделений интенсивной терапии. Они, хотя и не часто, могут приводить к уросепсису, что ведет к повышению летальности. 95% случаев ИМП наблюдаются у пациентов с длительной катетеризацией мочевого пузыря. Одним из критериев ИМП, наряду с другими клиническими и лабораторными данными, является клинически значимая бактериурия ( $\geq 10^3$ ). Учитывая, что другие клинические критерии, такие как лихорадка, дизурия и им подобные неспецифичны для ИМП или их оценка затруднена в условиях отделения реанимации гематологического профиля, клинически значимая бактериурия (БУ) представляется наиболее значимым критерием в диагностике ИМП. Цель исследования – оценка частоты, этиологии и факторов риска развития клинически значимой бактериурии в отделении реанимации гематологического профиля.

**Материалы и методы.** Ретроспективный анализ результатов микробиологического исследования мочи пациентов, находившихся на лечении в отделении анестезиологии и реаниматологии (ОАР) Гематологического научного

центра в период с 01.01.2009 по 01.10.2011. В исследовании включены пациенты, наблюдавшиеся в ОАР 7 и более суток, которым была выполнена длительная катетеризация мочевого пузыря и сделан хотя бы один микробиологический анализ мочи. По данным критериям мы отобрали 76 пациентов (38 мужчин и 38 женщин), средний возраст – 55 лет (от 18 до 88 лет), средняя продолжительность пребывания в ОАР – 30 дней.

**Результаты и обсуждение.** Данным пациентам был выполнен 171 микробиологический анализ мочи, при этом культура микроорганизмов получена в 43 посевах (25,1%), не получена – в 128 (74,9%). В положительных посевах преобладали грибы рода *Candida* (26 посевов – 60,5% от положительных посевов), из них *Candida albicans* – 30,7%, *Candida non-albicans* – 53,7%. В 4 посевах вид не определяли (15,6%). Далее по распространенности следуют грамположительные бактерии (24 посева – 55,8%). Среди них преобладают *Enterococcus* spp. – 46,5%, при этом в одном случае выявлен ванкомицин-резистентный штамм. Реже грамположительная микрофлора представлена *Staphylococcus* spp. – 9,3%. Грамотрицательные бактерии выявлены