

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.157-053.2-078-074:543.42.062

Крыжановская О.А.¹, Лазарева А.В.¹, Пономаренко О.А.¹, Катосова Л.К.¹, Тепаев Р.Ф.^{1,2}, Карасева О.В.³, Чеботарь И.В.¹

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ КРОВотоКА: ОПЫТ В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

¹Научный центр здоровья детей, 119991, Москва, Ломоносовский пр., 2, стр. 1;

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8;

³НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, ул. Большая Полянка, 22

Быстрая диагностика инфекций кровотока является актуальной задачей современной педиатрии. Представлены данные сравнительного анализа двух способов идентификации микроорганизмов в крови от детей с подозрением на инфекцию кровотока – рутинного микробиологического исследования и MALDI-TOF-масс-спектрометрии. Результаты, полученные при помощи масс-спектрометрического (MALDI-TOF) метода идентификации микроорганизмов в гемокультурах от детей с инфекциями кровотока, содержащих один микроб-возбудитель, имеют высокую степень соответствия результатам классического микробиологического исследования (каппа Коэна 0,97, $p < 0,001$). MALDI-TOF-масс-спектрометрическая идентификация возбудителей инфекций кровотока может быть рекомендована в качестве дополнительного метода диагностики, направленного на сокращение времени анализа.

Ключевые слова: инфекции кровотока; бактерии; микроскопические грибы; диагностика; MALDI-TOF-масс-спектрометрия.

Kryzhanovskaya O. A.¹, Lazareva A. V.¹, Ponomarenko O. A.¹, Katosova L. K.¹, Tepaev R. F.^{1,2}, Karaseva O. V.³, Chebotar' I. V.¹

MASS SPECTROMETRIC IDENTIFICATION OF CAUSATIVE PATHOGENS OF BLOODSTREAM INFECTIONS: EXPERIENCE IN PEDIATRIC PRACTICE

¹Scientific Centre of Child Healthcare, 2, bld. 1, Lomonosov avenue, Moscow, Russian Federation, 119991

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Trubetskaya st., 8 I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8-2, Trubetskaya Str., Moscow, Russian Federation, 119991

³Clinical and Research Institute of Emergency Children's Surgery and Trauma, 20, Bolshaya Polyanka Str., Moscow, Russian Federation, 119180

Rapid diagnosis of bloodstream infections is an urgent task of modern pediatrics. There are presented data of the comparative analysis of two methods of identification of microorganisms in the blood of children with suspected bloodstream infections - routine microbiological examination and MALDI-TOF-mass spectrometry. The results obtained by mass spectrometry MALDI-TOF method for identification of microorganisms in blood cultures from children with bloodstream infections containing the one causative microbial pathogen, have a good match with the results of classical microbiological examination (Cohen's kappa 0.97, $p < 0.001$). MALDI-TOF-mass spectrometric identification of causative pathogens in blood flow may be recommended as an auxiliary diagnostic method aimed at reducing the analysis time.

Key words: bloodstream infections, bacteria, microscopic fungi, diagnostics, MALDI-TOF-mass spectrometry.

Инфекции, связанные с системой кровообращения, или инфекции кровотока (англ. bloodstream infections) являются актуальной проблемой современной медицины. Они регистрируются у 15% пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии и заканчиваются летально в 12–25% случаев [1, 2]. В педиатрической практике госпитальная летальность от наиболее тяжелого проявления инфекций кровотока – сепсиса составляет в

среднем 10,3% [3]. Эффективность лечения инфекций кровотока во многом определяется своевременной и верной диагностикой. Необходимо акцентировать внимание на необходимом условии ее развития – присутствии в крови живых бактерий (бактериемия) и/или грибов (фунгемия). Бактериемия и фунгемия – это состояния, которые не только являются патогенетической основой инфекций кровотока, но и используются в качестве важнейших критериев для постановки диагноза. Микробиологическая диагностика инфекций кровотока должна отвечать на два главных вопроса: присутствуют ли в крови микроорганизмы и, если присутствуют, к каким видам они принадлежат. Клинически доступные способы диагностики

Для корреспонденции (correspondence to): Чеботарь Игорь Викторович, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. микробиологии ФГБНУ НИЦЗД, e-mail: nizarnn@yandex.ru

реализуются на базе трех методических подходов [4–6]. Исторически первый и самый распространенный метод основан на классическом микробиологическом культивировании. При условии корректного исполнения он обладает достаточной чувствительностью и специфичностью, но имеет важный недостаток – длительность выполнения (от 48 до 96 ч). Второй подход связан с обнаружением в крови генетических маркеров того или иного вида возбудителя – специфических нуклеотидных последовательностей. Преимуществом генетической диагностики является быстрота получения результата. Но и этот способ не лишен принципиального недостатка. Положительный результат говорит не о наличии в крови живого возбудителя, а о присутствии нуклеиновых кислот, которые могут быть дериватами погибших микробов, что приводит к ложноположительным диагнозам [7].

Настоящая работа посвящена оценке третьего методического подхода к диагностике инфекций кровотока, основанного на сочетании микробиологической подготовки образца крови (культивирование в инкубаторе) и масс-спектрометрической идентификации возбудителя по его протеомному профилю. Масс-спектрометрию проводили по технологии времяпролетной регистрации масс-спектров, полученных при помощи матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации протеинов образца, – MALDI-TOF (от англ. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, Time-Of-Flight).

Цель исследования – провести сравнительный анализ двух способов идентификации микроорганизмов в крови от детей с подозрением на инфекцию кровотока – рутинного микробиологического исследования и MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

Материалы и методы

Объектами исследования были образцы крови, полученные от детей из стационаров Научного центра здоровья детей и НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы. Критерием включения в исследование было подозрение на инфекцию кровотока и сопряженную с ней бактериемию. Все образцы крови, инокулированные во флаконы для гемокультивирования, инкубировали в анализаторе гемокультур ВАСТЕС 9050 (Becton Dickinson) до момента регистрации микробного роста. Критерием исключения было отсутствие роста в инкубаторе ВАСТЕС. Немедленно после регистрации микробного роста из гемокультуры проводили забор материала, который разделяли на две части. Первую часть использовали для посева на плотные питательные среды для выделения чистой культуры возбудителя по традиционным микробиологическим методикам. Для идентификации изолятов применяли микроскопическое исследование, посев на селективные и хромогенные питательные среды, иммунохимические и биохимические методы, включая использование автоматического бактериологического анализатора Vitek 2 (BioMerieux). Вторую часть использовали для масс-спектрометрического определения таксономической принадлежности изолята,

которое выполняли согласно отработанному ранее протоколу [8]. Методика включала 4 этапа. На первом этапе, соблюдая условия стерильности, из флакона для гемокультивирования отбирали аликвоты для экстракции микробных протеинов. Экстракцию микробных протеинов проводили на втором этапе, используя многократное центрифугирование и последовательную обработку образца деионизированной воды, 0,1% раствором додецилсульфата натрия, 70% этанолом, 70% муравьиной кислотой и ацетонитрилом. Итогом второго этапа было получение супернатанта, содержащего микробные рибосомальные протеины. На третьем этапе осуществлялось нанесение экстракта протеинов на мишень масс-спектрометра и связывание протеинов с матрицей (α -циано-4-гидроксикоричная кислота), обеспечивающей выполнение MALDI-TOF-масс-спектрометрии. На четвертом этапе выполнялось собственно масс-спектрометрическое исследование образцов и компьютерная обработка полученных масс-спектров с помощью базы данных Biotyper 3 (Bruker). На этом этапе проводили определение принадлежности протеинов из образца к той или иной таксономической группе на масс-спектрометре MicroFlex (Bruker) [9]. Для повышения достоверности каждый образец тестировали в триплетах. Снятие спектров проводилось в автоматическом режиме (режим детекции – MBT-FC), диапазон спектра – 2–20 кД. С каждого образца получали 240 спектров. Степень достоверности идентификации оценивали по полученным значениям Score. Случаи со Score < 1,7 рассматривались как недостоверные и не учитывались в качестве случаев успешного определения таксономической принадлежности изолята [9].

Для сравнения эффективности указанных методов идентификации возбудителей инфекций кровотока применяли стандартный статистический прием, направленный на определение степени парной согласованности результатов. Для этого была использована каппа Коэна – мера согласованности, которая имеет максимум 1 при полной согласованности, и равна 0 в том случае, если согласованность между оценками (тестами) наблюдается не чаще, чем можно было бы ожидать при случайном совпадении. Значения > 0,75 считаются достаточной степенью согласованности [10].

Результаты и обсуждение

При помощи классического микробиологического исследования тестировано 85 гемокультур, из которых было выделено 103 изолята. Спектр идентифицированных микроорганизмов включал 19 видов бактерий и 2 вида дрожжеподобных грибов (*Candida albicans* (3 изолята), *Candida parapsilosis* (13 изолятов)). Среди бактерий было найдено 7 грамположительных видов: *Staphylococcus aureus* (3 изолята), *Staphylococcus epidermidis* (13 изолятов), *Staphylococcus haemolyticus* (8 изолятов), *Staphylococcus hominis* (6 изолятов), *Enterococcus faecalis* (5 изолятов), *Enterococcus faecium* (1 изолят) и *Streptococcus vestibularis* (1 изолят). 12 идентифицированных грамотрицательных видов были представле-

ны *Acinetobacter baumannii* (8 изолятов), *Klebsiella pneumoniae* (19 изолятов), *Pseudomonas aeruginosa* (9 изолятов), *Pseudomonas putida* (1 изолят), *Stenotrophomonas maltophilia* (5 изолятов), *Enterobacter aerogenes* (1 изолят), *Enterobacter cloacae* (2 изолята), *Enterobacter kobei* (1 изолят), *Escherichia coli* (1 изолят), *Chryseobacterium indologenes* (1 изолят), *Serratia marcescens* (1 изолят) и *Neisseria meningitidis* (1 изолят).

В 72 случаях гемокультуры содержали только по одному виду микроорганизма и являлись монокультурами. В монокультурах обнаружено 16 видов бактерий и 2 вида грибов. В 13 образцах идентифицирована ассоциация микроорганизмов. Поэтому принципиальным для анализа результатов было разделение всех результатов на 2 группы. В 1-ю группу вошли результаты, полученные при исследовании гемокультур, содержащих один вид микроорганизма (табл. 1). Во 2-ю группу были включены данные для гемокультур, содержащих более одного вида микроорганизмов, – полимикробных культур (табл. 2).

Результаты, полученные для монокультур методом MALDI-TOF, соответствовали классической идентификации в 70 (97,2%) случаях из 72 (см. табл. 1). Два несоответствия между методами идентификации касались грамположительных бактерий: в одном случае *S. haemolyticus* был определен методом MALDI-TOF как *Staphylococcus warneri*, в другом случае *S. vestibularis* был ошибочно идентифицирован как *S. salivarius*. Все положительные результаты масс-спектропии характеризовались высокой степенью достоверности: значения Score для бактерий находилось в пределах от 1,91 до 2,39, для *Candida* spp. – от 2,08 до 2,27. Степень согласованности результатов, полученных двумя методами, была очень высокой – значение каппы Коэна составило 0,97 ($p < 0,001$).

Результаты исследования полимикробных гемокультур суммированы в табл. 2. В 6 (46,2%) образцах из 13 полимикробных гемокультур методом MALDI-TOF с достоверным уровнем Score не идентифицирован ни один вид. Для остальных 7 (53,8%) гемокультур определение вида с достоверным Score регистрировалось только для одного из возбудителей, входящего в ассоциацию. Совпадение результатов MALDI-TOF-масс-спектрометрии и классического микробиологического исследования наблюдалось лишь для 7 (22,6%) видов из 31 вида полимикробных культур. Степень согласованности результатов двух методов была статистически недостоверной (каппа Коэна составляла 0,70; $p > 0,05$).

Полученные нами данные свидетельствуют о двух уровнях соответствия результатов микробиологической и масс-спектрометрической диагностики. Первый уровень касался моногемокультур. Для

Таблица 1
Результаты видовой идентификации микроорганизмов из гемокультуры, содержащей один вид микроорганизма

Идентификация при помощи классического микробиологического исследования		Идентификация методом MALDI-TOF	
идентифицированный вид	количество случаев	идентифицированный вид	количество верно идентифицированных случаев
<i>A. baumannii</i>	3	<i>A. baumannii</i>	3
<i>C. albicans</i>	3	<i>C. albicans</i>	3
<i>C. indologenes</i>	1	<i>C. indologenes</i>	1
<i>C. parapsilosis</i>	11	<i>C. parapsilosis</i>	11
<i>E. cloacae</i>	1	<i>E. cloacae</i>	1
<i>E. coli</i>	1	<i>E. coli</i>	1
<i>E. faecalis</i>	3	<i>E. faecalis</i>	3
<i>E. kobei</i>	1	<i>E. kobei</i>	1
<i>K. pneumoniae</i>	14	<i>K. pneumoniae</i>	14
<i>N. meningitidis</i>	1	<i>N. meningitidis</i>	1
<i>P. aeruginosa</i>	7	<i>P. aeruginosa</i>	7
<i>P. putida</i>	1	<i>P. putida</i>	1
<i>S. aureus</i>	2	<i>S. aureus</i>	2
<i>S. epidermidis</i>	9	<i>S. epidermidis</i>	9
<i>S. haemolyticus</i>	5	<i>S. haemolyticus</i> (4)*	
		<i>S. warneri</i> (1)	4
<i>S. hominis</i>	3	<i>S. hominis</i>	3
<i>S. maltophilia</i>	5	<i>S. maltophilia</i>	5
<i>S. vestibularis</i>	1	<i>S. salivarius</i>	0
Всего...	72		70

Примечание. * – в 4-х образцах наблюдалось полное совпадение результатов бактериологического и спектрометрического методов, в 1-м случае результат MALDI-TOF-исследования был ошибочным, свидетельствуя о присутствии в образце *S. warneri*.

грамотрицательных бактерий и грибов результаты идентификации совпадали в 100%. Моногемокультуры с грамположительными возбудителями демонстрировали неполное (91,3%), но достаточно высокое совпадение (каппа Коэна 0,89), что согласуется с полученными ранее данными у взрослых и новорожденных детей [11]. В целом соответствие результатов идентификации микробов из моногемокультур было высоким и статистически доказанным.

К сожалению, результаты масс-спектрометрического исследования полимикробных гемокультур оказались менее оптимистичными. Статистическая обработка данных подтвердила невозможность полноценной идентификации возбудителей, присутствующих в ассоциации. Лишь в 53,8% методом MALDI-TOF определялся один из присутствующих возбудителей. В литературе имеются и более позитивные результаты MALDI-TOF-диагностики полимикробных инфекций кровотока. Например, в работе Т. Gray и соавт. [12], где было проанализировано 26

Таблица 2
Результаты видовой идентификации микроорганизмов из гемокультуры, содержащей более одного вида микроорганизмов

Гемокультура	Идентификация при помощи классического микробиологического исследования (идентифицированные виды)	Идентификация методом MALDI-TOF	
		идентифицированные виды	верная идентификация/количество видов
1	<i>C. parapsilosis</i>	Не идентифицирован	1/3
	<i>S. epidermidis</i>	Не идентифицирован	
	<i>S. hominis</i>	<i>S. hominis</i>	
2	<i>A. baumannii</i>	Не идентифицирован	0/2
	<i>P. aeruginosa</i>	Не идентифицирован	
3	<i>S. aureus</i>	Не идентифицирован	1/2
	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	
4	<i>E. faecalis</i>	Не идентифицирован	1/3
	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	
	<i>S. hominis</i>	Не идентифицирован	
5	<i>C. parapsilosis</i>	Не идентифицирован	1/2
	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	
6	<i>E. aerogenes</i>	Не идентифицирован	1/2
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	
7	<i>A. baumannii</i>	Не идентифицирован	1/3
	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>	
	<i>S. epidermidis</i>	Не идентифицирован	
8	<i>E. faecium</i>	Не идентифицирован	0/2
	<i>S. haemolyticus</i>	Не идентифицирован	
9	<i>S. haemolyticus</i>	Не идентифицирован	1/2
	<i>S. hominis</i>	<i>S. hominis</i>	
10	<i>A. baumannii</i>	Не идентифицирован	0/2
	<i>K. pneumoniae</i>	Не идентифицирован	
11	<i>A. baumannii</i>	Не идентифицирован	0/3
	<i>E. faecalis</i>	Не идентифицирован	
	<i>K. pneumoniae</i>	Не идентифицирован	
12	<i>A. baumannii</i>	Не идентифицирован	0/3
	<i>K. pneumoniae</i>	Не идентифицирован	
	<i>P. aeruginosa</i>	Не идентифицирован	
13	<i>K. pneumoniae</i>	Не идентифицирован	0/2
	<i>S. marcescens</i>	Не идентифицирован	
Всего...	31 вид		7 видов

случаев полимикробных инфекций кровотока, один из возбудителей с достаточным уровнем Score был идентифицирован в 96,2%. В 30,8% случаев программное обеспечение указывало на высокую вероятность присутствия других микробов. Конечно, это тоже было недостаточным для постановки полноценного микробиологического диагноза, но соответствие между результатами масс-спектрометрии и другими методами идентификации в работе T. Gray

и соавт. [12] оказалось выше, чем в нашем исследовании. Вероятно, это было связано с отбором образцов для анализа. T. Gray и соавт. работали только с гемокультурами, в которых первоначально при помощи световой микроскопии обнаружены грамотрицательные бактерии (хотя другими возбудителями в ассоциации могли быть и грамположительные бактерии). Как упоминалось выше, вероятность верной MALDI-TOF-идентификации для грамотрицательных микроорганизмов является более высокой, чем для грамположительных микробов. Специального отбора образцов с грамотрицательными бактериями для наших экспериментов не проводилось.

По-видимому, главная причина, с которой связаны негативные результаты идентификации микробов из смешанных культур, связана не принципиальными недостатками времяпролетной масс-спектрометрии, а с несовершенством программного обеспечения существующих масс-спектрометров. Разработка методов идентификации микробов в миксткультурах требует создания колоссальных протеомных библиотек и совершенствования программ для обработки результатов. Работы в этом направлении ведутся, и скоро мы станем пользователями новых спектрометрических решений, позволяющих проводить идентификацию микробов в сложных ассоциациях [13].

Негативные результаты, полученные при анализе полимикробных гемокультур, не означают полного отказа от использования MALDI-TOF-диагностики инфекций кровотока. Полимикробная этиология выявляется лишь у 4,6% пациентов с инфекциями кровотока в детских отделениях реанимации и интенсивной терапии и у 4,4% новорожденных с инфекциями кровотока [14, 15]. Как показано, в педиатрической практике полимикробные ассоциации составляют незначительную часть от всех причин инфекций кровотока. А значит, они не могут существенно снизить диагностическую значимость MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

В целом полученные нами данные показали перспективность применения масс-спектрометрической идентификации возбудителя в мономикробной ге-

мокультуре. Конечно, MALDI-TOF-идентификация не может рассматриваться как абсолютная альтернатива общепринятым способам идентификации возбудителя. Применение этого метода может быть оправдано в качестве дополнительного исследования, позволяющего сократить время идентификации на 24–48 ч, а следовательно, ускорить применение адекватных антимикробных препаратов с учетом природной (видовой) резистентности возбудителя. Нужно помнить, что каждый час промедления назначения адекватной терапии при инфекциях кровотока снижает выживаемость пациента на 8% [16]. Поэтому необходимо использовать любую возможность ускорения постановки микробиологического диагноза.

Таким образом, результаты, полученные при помощи масс-спектрометрического (MALDI-TOF) метода идентификации микроорганизмов в гемокультурах от детей с инфекциями кровотока, содержащих один микроб-возбудитель, имеют высокую степень соответствия данным классического микробиологического исследования. MALDI-TOF-масс-спектрометрическая идентификация возбудителей инфекций кровотока может быть рекомендована в качестве дополнительного метода диагностики, направленного на сокращение времени анализа.

ЛИТЕРАТУРА

- Vincent J.L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D. et al. EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009; 302: 2323–9.
- Al Mohajer M., Darouiche R.O. Sepsis syndrome, bloodstream infections, and device-related infections. *Med. Clin. North Am.* 2012; 96 (6): 1203–23.
- Hanna W., Wong H.R. Pediatric sepsis: challenges and adjunctive therapies. *Crit. Care Clin.* 2013; 29 (2): 203–22.
- Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Ильин А.Г., Булгакова В.А., Антонова Е.В., Смирнов И.Е. Научные исследования в педиатрии: направления, достижения, перспективы. *Российский педиатрический журнал*. 2013; 5: 4–14.
- Чеботкевич В.Н., Кайтанджан Е.И., Бурyleв В.В., Щетинкина Е.Е. Современные методы лабораторной диагностики сепсиса. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013; 15 (4): 295–300.
- Jordana-Lluch E., Gimenez M., Quesada M.D., Ausina V., Martro E. Improving the diagnosis of bloodstream infections: PCR coupled with mass spectrometry. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 501214.
- Schrenzel J. Clinical relevance of new diagnostic methods for bloodstream infections. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2007; 30: S2–6.
- Ломинадзе Г.Г., Семенова Е.А., Мотузова О.В., Калакуцкая А.Н., Балабанов А.С., Лазарева А.В. и др. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов в гемокультурах пациентов с подозрением на сепсис. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2013; 5 (2): 28–32.
- Маянский Н.А., Калакуцкая А.Н., Мотузова О.В., Ломинадзе Г.Г., Крыжановская О.А., Катосова Л.К. MALDI-TOF масс-спектрометрия в рутинной работе микробиологической лаборатории. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2011; 3 (5): 20–5.
- Fleiss J.L. *Statistical methods for rates and proportions*. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1981.
- Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р., Бурменская О.В., Непша О.С., Никитина И.В., Любасовская Л.А. и др. Использование методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и количественной ПЦР для быстрой диагностики септических состояний. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16 (1): 4–9.
- Gray T.J., Thomas L., Olma T., Iredell J.R., Chen S.C. Rapid identification of Gram-negative organisms from blood culture bottles using a modified extraction method and MALDI-TOF mass spectrometry. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2013; 77 (2): 110–2.
- Croxatto A., Prodhom G., Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol. Rev.* 2012; 36 (2): 380–407.
- Babay H.A., Twum-Danso K., Kambal A.M., Al-Otaibi F.E. Bloodstream infections in pediatric patients. *Saudi Med. J.* 2005; 26 (10): 1555–61.
- Tsai M.H., Chu S.M., Hsu J.F., Lien R., Huang H.R., Chiang M.C. et al. Polymicrobial bloodstream infection in neonates: microbiology, clinical characteristics, and risk factors. *PLoS One*. 2014; 9 (1): e83082.
- La Scola B. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry-based approaches for the diagnosis of bloodstream infections. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2011; 11 (3): 287–98.

REFERENCES

- Vincent J.L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D. et al. EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009; 302: 2323–9.
- Al Mohajer M., Darouiche R.O. Sepsis syndrome, bloodstream infections, and device-related infections. *Med. Clin. North Am.* 2012; 96 (6): 1203–23.
- Hanna W., Wong H.R. Pediatric sepsis: challenges and adjunctive therapies. *Crit. Care Clin.* 2013; 29 (2): 203–22.
- Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Ilin A.G., Bulgakova V.A., Antonova E.V., Smirnov I.E. Scientific research in pediatrics: directions, achievements, prospects. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2013; 5: 4–14. (in Russian)
- Chebotkevich V.N., Kaytandzhan E.I., Burylev V.V., Shchetinkina E.E. Modern methods for laboratory diagnosis of sepsis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2013; 15 (4): 295–300. (in Russian)
- Jordana-Lluch E., Gimenez M., Quesada M.D., Ausina V., Martro E. Improving the diagnosis of bloodstream infections: PCR coupled with mass spectrometry. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 501214.
- Schrenzel J. Clinical relevance of new diagnostic methods for bloodstream infections. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2007; 30: S2–6.
- Lominadze G.G., Semenova E.A., Motuzova O.V., Kalakutskaya A.N., Balabanov A.S., Lazareva A.V. et al. Application of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of microbial agents in blood cultures from patients with suspected sepsis. *Voprosy diagnostiki v pediatrii*. 2013; 5 (2): 28–32. (in Russian)
- Mayanskiy N.A., Kalakutskaya A.N., Motuzova O.V., Lominadze G.G., Kryzhanovskaya O.A., Katosova L.K. MALDI-TOF mass spectrometry in the clinical microbiology laboratory everyday work. *Voprosy diagnostiki v pediatrii*. 2011; 3 (5): 20–5. (in Russian)
- Fleiss J.L. *Statistical methods for rates and proportions*. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1981.
- Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р., Бурменская О.В., Непша О.С., Никитина И.В., Любасовская Л.А. et al. Use of MALDI-TOF mass-spectrometry and Quantitative PCR for rapid diagnosis of sepsis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2014; 16 (1): 4–9. (in Russian)
- Gray T.J., Thomas L., Olma T., Iredell J.R., Chen S.C. Rapid identification of Gram-negative organisms from blood culture bottles using a modified extraction method and MALDI-TOF mass spectrometry. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2013; 77 (2): 110–2.
- Croxatto A., Prodhom G., Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol. Rev.* 2012; 36 (2): 380–407.
- Babay H.A., Twum-Danso K., Kambal A.M., Al-Otaibi F.E. Bloodstream infections in pediatric patients. *Saudi Med. J.* 2005; 26 (10): 1555–61.
- Tsai M.H., Chu S.M., Hsu J.F., Lien R., Huang H.R., Chiang M.C. et al. Polymicrobial bloodstream infection in neonates: microbiology, clinical characteristics, and risk factors. *PLoS One*. 2014; 9 (1): e83082.
- La Scola B. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry-based approaches for the diagnosis of bloodstream infections. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2011; 11 (3): 287–98.

Поступила 04.06.14
Received 04.06.14

Сведения об авторах:

Крыжановская Ольга Андреевна, мл. науч. сотр. лаб. микробиологии ФГБНУ НИЦЗД, e-mail: o-kryzhanovskaya@yandex.ru; Ла-

зарева Анна Валерьевна, канд. мед. наук, зав. лаб. микробиологии ФГБНУ НЦЗД, e-mail: annalaz71@mail.ru; *Пономаренко Ольга Александровна*, мл. науч. сотр. лаб. микробиологии ФГБНУ НЦЗД, e-mail: olga99alex@yandex.ru; *Катосова Любовь Кирилловна*, доктор биол. наук, проф., главн. науч. сотр. лаб. микробиологии ФГБНУ НЦЗД, e-mail: SSL36@yandex.ru; *Теплаев Рустэм Фаридович*, доктор мед. наук, проф. каф. педиатрии и детской ревматологии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, зав.

отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБНУ НЦЗД, teraev@nczd.ru; *Карасева Ольга Витальевна*, доктор мед. наук, зам. директора по науч. работе, руководитель отд-ния сочетанной травмы НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения города Москвы, e-mail: karaseva.o@list.ru; *Чеботарь Игорь Викторович*, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. микробиологии ФГБНУ НЦЗД, e-mail: nizarnn@yandex.ru.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 614.2:616-053.3-084

Райский Д.В.¹, Джумагазиев А.А.¹, Джальмухамедова Э.И.², Вайнер А.Е.²

ОСОБЕННОСТИ ЗАТЯЖНОЙ АДАПТАЦИИ ДЕТЕЙ В ДОМАХ РЕБЕНКА

¹Астраханская государственная медицинская академия Минздрава России, 414000, Астрахань, Бакинская, 121; ²ГКУЗ АО «Специализированный дом ребенка "Звездочка"», Астрахань

Представлены данные обследования 156 детей – воспитанников домов ребенка, рассмотрены динамические изменения показателей 285 иммунограмм у детей с нарушенной адаптацией к новым социальным условиям. Проведены параллели между продолжительностью воспитания детей-сирот в условиях закрытого учреждения и становлением их иммунитета. Сопоставлены показатели иммунной системы на различных этапах адаптации.

Ключевые слова: адаптация; дома ребенка; дети-сироты; иммунная система.

Rayskiy D.V.¹, Dzhumagaziev A.A.¹, Dzhal'mukhamedova E.I.², Vayner A.E.²

FEATURES A PROLONGED ADAPTATION OF NURSELINGS IN ORPHANAGES

¹Astrakhan State Medical Academy, 121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Russian Federation, 414000

²Specialized Orphanage "Zvezdochka", 43, bld. 2, Zvezdnaya Str., Astrakhan, Russian Federation, 414022

There are presented data of the examination of 156 children - nurselings of the orphanage. There are considered the dynamic changes in indices of 285 immunograms in children with impaired adaptation to the new social conditions. There have been drawn parallels between the duration of care of orphans in conditions of a closed institution and development of their immunity. Indices of the immune system at different stages of adaptation have been compared

Key words: adaptation; orphanage; orphans; the immune system.

Приоритетная задача домов ребенка – выживание, сохранение жизни и преумножение здоровья их воспитанников [1]. Первоочередность этой задачи связана с возрастными особенностями и особенностями альтернативного жизнеустройства сирот и социальных сирот. В возрастном диапазоне от рождения до 2–3 лет жизнь ребенка напрямую зависит от степени внимания, которое ему уделяют взрослые, обеспечивающие базовые витальные потребности, необходимые для выживания. Дефицит внимания к нуждам ребенка со стороны родителей (гипоопека) может наблюдаться даже во внешне благополучных семьях, а клинические проявления отклонений здоровья гипоопекаемого ребенка разнообразны. У гипоопекаемых детей отмечают: нарушения физического и психомоторного развития без очевидной связи с врожденной или хронической патологией и изменения резистентности, при которых острые заболе-

вания регистрируются в первом полугодии жизни и могут повторяться с интервалом в 1–2 мес.

У социальных сирот нарушения резистентности сохраняются длительное время даже после их разлучения с социопатической семьей и помещения ребенка в условия закрытого учреждения с режимом повышенной противоэпидемической готовности. Среднемесячная инцидентность респираторных заболеваний у детей домов ребенка превышает таковую у детей от 0 до 4 лет, воспитывающихся в семьях, а статистические величины годичной заболеваемости детей домов ребенка по ряду показателей устойчиво превышают средние популяционные. В структуре патологии детей домов ребенка доминируют острые заболевания верхних дыхательных путей, острые бронхиты и осложнения этих заболеваний [4]. Наибольшая частота перечисленных заболеваний соответствует первым месяцам пребывания ребенка в условиях закрытого учреждения – адаптационному периоду. В современных условиях изменения спического состава воспитанников Астраханских домов ребенка столь динамичны, что только менее четверти социальных сирот остаются не устроенными в семьи на протяжении двух лет с момента разлучения с биологическими родителями, и такая же часть покидает

Для корреспонденции (Correspondence to): *Райский Дмитрий Валериевич*, канд. мед. наук, докторант каф. поликлинической и неотложной педиатрии ГБОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия, Астрахань, Детская городская поликлиника № 1, 414000, ул. Кирова, 47, e-mail: dm_edem@pochtamt.ru