

Высокие показатели резистентности к различным АБП характеризовали и выделенные штаммы *E. cloacae*. Резистентностью к цефтазидиму обладали 50% изолятов, цефтазидиму – 43,1%, цефоперазону – 56,8%, цефепиму – 32,3%, гентамицину – 69,4%, ципрофлоксацину – 36,9% и амикацину – 15,0%. Все выделенные штаммы *E. cloacae* были чувствительны к карбапенемам.

Среди штаммов *K. pneumoniae* частота резистентности составила к цефоперазону – 84,5%, цефотаксиму – 66,3%, цефтазидиму – 59,9%, цефепиму – 38,45%, гентамицину – 73,3%, ципрофлоксацину – 38%, амикацину – 32%, при сохранении у них чувствительности к карбапенемам.

Показатели резистентности к АБП у изолятов *P. mirabilis* были ниже, к ампициллину – 55,7%, цефтазидиму – 16,5%, цефтриаксону – 12,3% и не обнаружено резистентных штам-

мов к цефепиму, амикацину, ципрофлоксацину, имипенему и меропенему.

Следует также отметить, что среди множественно-резистентных к АБП штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* не было выявлено ни одного устойчивого к меропенему и имипенему.

Высокие показатели устойчивости к цефалоспорином у *E. coli* (30,2–47%), *E. cloacae* (32,3–56,8%), *K. pneumoniae* (38,45–84,5%), *P. mirabilis* (12,3–16,5%) свидетельствуют о широком распространении БЛРС штаммов энтеробактерий и их значимости при инфекциях мочевыводящих путей. Препаратами выбора для проведения антибактериальной терапии при ИМП, вызванных энтеробактериями являются карбапенемы, так как у всех выделенных штаммов (857) сохранена чувствительность к этим препаратам.

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ И ПРАКТИКА МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА

**Б.Б. Дзантиев. Мультиплексные методы анализа в клинической диагностике.** Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

В современной клинико-диагностической практике все чаще возникает необходимость экспрессного и одновременного определения содержания большого числа соединений – как в стационарных клинических лабораториях, так и при проведении анализа по месту лечения (point of care диагностика). В докладе представлены сведения о современных разработках систем мультиплексного анализа, включая различные типы автоматических анализаторов, микрочиповые технологии, мембранные тест-системы и др. Анализируются возможности применения иммунохимического распознавания в мультипараметрической медицинской диагностике, способы экспрессной (5–15 мин) диагностики. Рассматриваются варианты приборного обеспечения, позволяющие проводить одновременное автоматическое определение большого числа соединений, приемы, направленные на повышение информативности мультиплексного анализа и снижение расхода реагентов. Обсуждаются возможности прямой детекции формирования иммунных комплексов в гомогенных аналитических системах, методические решения, позволяющие снизить пределы обнаружения иммунохимических тест-систем, в том числе переход к новым нанодисперсным маркерам, реализация различных вариантов усиления сигнала в ходе анализа. Представлены новые подходы к автономной реализации мультиплексного анализа, в том числе во внелабораторных условиях. Отдельное внимание уделяется способам обработки результатов мультиплексного анализа для принятия диагностических решений. Дается характеристика степени внедрения новых разработок в практику, сравнительная оценка преимуществ и ограничений различных подходов, предлагаемых для клинической диагностики.

**C.P. Бундер (Steven R. Binder). Автоматизированный мультиплексный анализ для серологической диагностики инфекционных болезней.** Bio-Rad Laboratories, США

Мультиплексное исследование отличается от мультианалитного исследования – при истинном мультиплексном исследовании осуществляется измерение многих аналитов, используя всего одну пробу, в одном месте и применяя одну технологию для их обнаружения. В течение многих лет на основе хроматографического разделения диагностические лаборатории получали мультиплексные результаты при исследовании аминокислот, противосудорожных лекарств, аномальных гемоглобинов и т. п. За время коммерческого использования зондовых технологий в течение последних пятнадцати лет концепция мультиплексных технологий была многосторонне изучена, и в настоящее время они ис-

пользуются для рутинного анализа белков, ДНК, РНК. Масс-спектрометрия и секвенирование сегодня являются наиболее продвинутой технологией детекции, лежащими в основе мультиплексного анализа высокого уровня.

В клинических условиях мультиплексное исследование белков может предоставить различные преимущества по сравнению с анализами, которые измеряют одномоментно всего один белок.

1. Множественные специфические белки могут служить индикаторами многих взаимосвязанных клинических ситуаций. Поскольку для индивидуальных белков могут быть установлены пороги решений для того, чтобы максимально повысить специфичность, эти методы дают меньше ложноположительных результатов, чем такие методы, как ИФА, который связан со слабо определенной реакцией клеток.

2. Контроль качества может улучшить качество результатов, проверяя более редкие клинические ситуации, которые могут влиять на диагностические результаты. Например, отсутствие IgA антител к ТТГ и DAG является полезным для исключения целиакии; если в пробе определяется IgA – анализ контроля качества для IgA может идентифицировать пациентов, у которых не вырабатывается этот изотип.

3. Тесты, которые обычно назначают вместе как часть программы скрининга, удобно назначить как один тест. При серологическом скрининге на токсоплазмоз, краснуху и цитомегаловирус (ToRC) использование общих калибраторов, контрольных материалов и проб малого объема позволяет сократить расходы, а также сделает исследование более удобным для лаборатории.

Наша группа разработала многие уникальные методы для исследования серологии инфекционных болезней, используя мультиплексную детекцию антител. Наш метод для определения IgG при сифилисе, благодаря его высокой специфичности в сочетании с блестящей чувствительностью, принят многими интенсивно работающими лабораториями. Опубликованные результаты исследований указывают на способность метода выявить пациентов с сифилисом в анамнезе даже при отрицательных результатах таких референтных методов, как RPR и TPRA.

Недавно мы разработали уникальный метод для скрининга ВИЧ, в котором объединены обнаружение в одной пробе антигена p24 со многими важными антителами анти-ВИЧ. При этом подходе осуществляется идентификация инфекций ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также выявление пациентов с активной инфекцией в прошлом.

Новый проект посвящен обнаружению антител к *Borrelia*. В настоящее время нет методов с чувствительностью, достаточной для раннего выявления болезни, в сочетании со

специфичностью, необходимой для предотвращения получения ложноположительных результатов, которые часто ведут к дорогостоящим методам последующего наблюдения.

В данной презентации будут рассмотрены последние данные по выполнению мультиплексного анализа болезни Лайма с детекцией *Borrelia* у пациентов в США и Европе.

**О.Б. Выливанная. Практический опыт мультиплексной диагностики инфекций TORCH-группы.** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Диагностический центр (Центр лабораторных исследований) Департамента здравоохранения г. Москвы»

В 1971 г. ВОЗ объединила наиболее опасные врожденные инфекции в TORCH-комплекс – группу вирусных, бактериальных инфекций, вызывающих стойкие структурные изменения организма. Как правило, в группу TORCH-инфекций включают следующие заболевания: Т – токсоплазмоз (*Toxoplasmosis*), О – другие инфекции (*others*), R – краснуху (*rubella*), С – цитомегаловирусную инфекцию (*Cytomegalovirus*), Н – герпес (*herpes simplex virus*). Группа О – другие инфекции (*others*) подразумевает такие, влияющие на плод инфекции, как хламидиоз, гепатит В, гепатит С.

Опасность первичного заражения TORCH-инфекциями в период беременности состоит том, что, протекая бессимптомно, они могут оказывать пагубное действие на все системы и органы плода, особенно на его центральную нервную систему, повышают риск выкидыша, мертворождения и врожденных уродств ребенка, формирования пороков его развития, вплоть до инвалидности.

Новая неинвазивная унифицированная технология анализа сыворотки или плазмы пациента на широкий спектр врожденных инфекционных заболеваний, основанная на применении уникального анализатора БиоПлекс 2200 и реализованной на нем технологии мультиплексного анализа, разработана ведущими учеными компании Био-Рад (США) и утверждена Министерством здравоохранения РФ в 2010 г. (№ ФСЗ 2010/07728).

БиоПлекс 2200 – первый и единственный на сегодняшний день на рынке полностью автоматический анализатор, основанный на мультиплексной технологии с возможностью непрерывного и свободного доступа. Принцип мультиплексного анализа реализован с помощью запатентованной технологии с использованием магнитных наночастиц. В рамках каждого набора частицы покрыты лигандом (например, антиген, ан-

титело, анализ), специфичным для каждого конкретного анализа. Затем наборы частиц смешиваются в единый реагент. Это позволяет одновременно выявлять несколько анализов в одном образце.

В рамках централизованной лаборатории анализатор БиоПлекс 2200 активно используется для диагностики инфекций TORCH-группы, вируса Эпштейн–Барр, детских инфекций (корь, краснуха, паротит, ветряная оспа). Ежедневный поток анализов составляет 500–700 проб пациентов с назначениями анализов на TORCH-инфекции, из них 300–400 пациентов и большая часть скрининговых исследований приходится на беременных женщин на разных сроках беременности, детей первого года жизни и на женщин, готовящихся к беременности.

В таблице представлены результаты по исследованию

Показатель	Всего	IgM(+)	Авидность < 60%	Авидность ≥ 60%
CMV	676	24	5	19
Toxoplasma	667	46	5	41
Rubella	612	28	1	27
EBV	650	59	32	27

сывороток пациентов на анализаторе БиоПлекс 2200 на антигена класса IgM к ToRC, EBV и результаты подтверждающих тестов при положительных или сомнительных результатах.

Из приведенных в таблице данных путем несложных расчетов получается, что процент ложноположительных определений составляет:

CBV – 2,8%; *Rubella* – 4,4%; *Toxoplasma* IgG – 6,1%; EBV – 4,1%.

Необходимо отметить, что чаще всего такие результаты встречаются у беременных женщин в 1–2 триместре.

Использование анализатора БиоПлекс 2200 повышает эффективность технологического процесса, сокращает время ручной подготовки и время получения результата анализа, увеличивает пропускную способность лаборатории. Данные преимущества позволяют наиболее эффективно диагностировать инфекционные заболевания, и, что немаловажно, значительно сократить общую стоимость обследования пациентов.

## ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ПАТОЛОГИЙ

**О.В. Галкина. Роль биомаркеров в диагностике заболеваний почек.** Лаборатория биохимического гомеостаза организма НИИ нефрологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, кафедра КЛД ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Традиционные маркеры почечного повреждения, используемые в нефрологии, отражают функциональные изменения, которые являются более поздними по отношению к нарушению структуры различных компартментов нефрона. В свою очередь, биопсия почки, являясь «золотым» стандартом диагностики в нефрологии, остается дорогостоящей инвазивной методикой. Данное обстоятельство предопределило необходимость изучения биомаркеров повреждения почек, обоснованность использования которых уже получила подтверждение в диагностике острого повреждения почек (ОПП). На протяжении длительного времени для оценки течения хронической болезни почек (ХБП) в клинической практике используются такие параметры как уровень креатинина крови, протеинурия, микроальбуминурия, определение скорости клубочковой фильтрации различными методами. Однако эти показатели, отражая в определенной степени изменения гломерулярного аппарата, не несут информации о повреждении тубулоинтерстиция, фиброзирование которого, как это было установлено в многочисленных клинкомиорфологических исследованиях, определяет прогрессию

почечной дисфункции, а следовательно, и прогноз болезни. В течение последних лет широко обсуждается возможность диагностики ОПП и ХБП с помощью определения концентрации молекул, являющихся «свидетелями» и не всегда участниками патологического процесса, так называемых биомаркеров. В настоящее время имеется доказательная база, подтверждающая целесообразность определения концентрации в крови и моче таких веществ как цистагин-С, нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин (NGAL), связывающий жирные кислоты протеин-печеночного типа (L-FABP), молекула почечного повреждения (KIM-1), интерлейкин-18. В зависимости от места локализации патологического процесса в моче возрастает концентрация соответствующих маркеров повреждения почечной ткани. Кроме того, в последние годы определение концентрации биомаркеров применяют для оценки степени выраженности хронического повреждения и темпов прогрессирования хронической почечной патологии.

**А.А. Кирилук. Применение методов масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) в современной клинической лаборатории – обзор приложений, преимущества использования, современные подходы и возможности автоматизации.** Агентство «Химэксперт», Москва

Важной задачей в клиническом анализе является контроль