

5. Соотношение между величиной экспрессии химерного транскрипта и количеством лейкоэмических клеток не показало различий в группах пациентов с рецидивами и пациентов без рецидивов.

Список литературы:

1. Цаур Г.А. Время достижения молекулярной ремиссии как фактор прогноза у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом / Г.А. Цаур, Т.В. Наседкина, А.М. Попов, Е.В. Шорилов, Л.И. Савельев, Л.Г. Фечина // Онкогематология. — 2010. — Т.5. — №2. — С. 46-54.

2. Pieters R. Outcome of infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukemia treated with the interfant-06 protocol: Results from an international phase III randomized study / R. Pieters, P. De Lorenzo, P. Ancliffe // Journal of clinical oncology. — 2019. — Т.25. — №37. — С. 2246-2256.

3. Tsaur G. A. Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias / G.A. Tsaur, A.M. Popov, L.G. Fechina, S.A. Romyantsev // Oncohematology. — 2016. — Т.11. — №1. — С. 62-74.

4. Gabert, J. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program / J. Gabert, E. Beillard, V. van der Velden // Leukemia. — 2003. — Т.17. — №1. — С.2318-2357.

УДК 616.9

**Прощенко Д.А., Зорников Д.Л., Копосова О.В., Ворошилина Е.С.
ОБНАРУЖЕНИЕ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* И *CLOSTRIDIUM
DIFFICILE* В ОБРАЗЦАХ ФЕКАЛИЙ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ МЕТОДОМ
ПЦР-РВ**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Proshchenko D.A., Zornikov D.L., Kopusova O.V., Voroshilina E.S.
THE REAL-TIME PCR DETECTION OF *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*
AND *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* IN INFANT, CHILD, AND ADULT FECES**
Department of Microbiology, Virology, and Immunology
Ural State Medical University
Yekaterinburg, Russia
E-mail: dproschenko@yandex.ru

Аннотация. Токсигенные штаммы *C. perfringens* и *C. difficile* могут вызывать развитие пищевых инфекций и антибиотико-ассоциированных диарей, включая псевдомембранозный колит. Для лечения последнего используют специальные антибиотики: клиндамицин и метранидазол, активные в отношении *C. difficile*. *C. perfringens* и *C. difficile* являются облигатно анаэробными микроорганизмами, что затрудняет проведение культурального исследования.

Наиболее надежным методом для рутинного обнаружения данных клостридий в клинических образцах является ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Мы оценили частоту обнаружения *C. perfringens* и *C. difficile* методом ПЦР-РВ в кале у 225 амбулаторных больных (набор Колонофлор-16, Альфлаб, Россия). *C. perfringens* и *C. difficile* были идентифицированы в 36 (16.0%) и 17 (7.6%) образцах соответственно. Обнаружили статистически значимые различия по частоте обнаружения *C. difficile* в различных возрастных группах, тогда как *C. perfringens* обнаруживали с сопоставимой частотой у пациентов всех возрастов. Количество *C. difficile* было достоверно выше у детей младше 2 лет по сравнению с взрослыми.

Annotation. The toxigenic strains of *C. perfringens* and *C. difficile* can cause foodborne illnesses and antibiotic-associated diarrhea, including pseudomembranous colitis. The latter needs to be treated with the specific antibiotics, metronidazole or vancomycin, which are effective against *C. difficile*. Both *C. difficile* and *C. perfringens* are the anaerobic bacteria and difficult to cultivate. The most reliable method for the detection of these bacteria in the clinical samples is real-time PCR.

We evaluated the frequency of *C. perfringens* and *C. difficile* PCR detection in feces from 225 outpatients (Colonoflor-16 kit, Alphalab, Russia). *C. perfringens* and *C. difficile* were detected in 36 (16.0%) and 17 (7.6%) samples, respectively. The results were stratified by age. There was statistically significant difference between age groups in the frequency of *C. difficile* detection and no statistically significant difference in frequency of *C. perfringens* detection. The amounts of *C. difficile* were significantly higher in children younger than 2 years in comparison with adults.

Ключевые слова: микробиота кишечника, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, ПЦР

Keywords: gut microbiota, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, PCR

Введение

Clostridium perfringens и *Clostridium difficile* могут вызывать развитие пищевых токсикоинфекций и антибиотико-ассоциированных диарей (ААД) [7, 8]. *C. difficile* является наиболее частой причиной развития тяжелой формы ААД – псевдомембранозного колита [2, 6]. Для лечения *C. difficile* инфекций (CDI) применяют метронидазол или ванкомицин, не используемые в случае других кишечных инфекций [1, 3]. Это обстоятельство требует проведения лабораторного исследования в случае подозрения на наличие CDI.

C. difficile и *C. perfringens* являются облигатными анаэробами, что затрудняет их выявление при проведении рутинных культуральных исследований. Более удобной методикой для диагностики кишечных клостридиозов является полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ). ПЦР-РВ позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью определять в образцах наличие и количество токсигенных *C. perfringens* и *C. difficile* в течение 6-8 часов.

Цель исследования – оценить частоту выявления *C. perfringens* и *C. difficile* методом ПЦР-РВ в образцах фекалий детей и взрослых, обратившихся за медицинской помощью.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 225 человек, обратившиеся в медицинский центр «Гармония» (г. Екатеринбург) с 1 января 2020 г. по 1 января 2021 г.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 5 от 26.06.2020). Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие на проведение исследования.

От всех исследуемых пациентов брали фекалии. Выделение ДНК из фекалий проводили набором реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Методом ПЦР-РВ определяли наличие в образцах фекалий ДНК *C. perfringens* и *C. difficile* (набор реагентов Колонофлор-16, АльфаЛаб, Россия; амплификатор ДТпрайм, ДНК-Технология, Россия).

Участники исследования были разделены на 5 возрастных групп: группа 1 – до 2 лет (n=18); группа 2 – 2-3 года (n=27); группа 3 – 4-12 лет (n=29); группа 4 – 13-17 лет (n=7); группа 5 – 18 лет и старше (n=144).

Статистическую обработку результатов производили в программе *IBM SPSS Statistics 26.0* (IBM Corp., США). Для оценки достоверности различий по частоте обнаружения *C. perfringens* и *C. difficile* в отдельных возрастных группах использовали *likelihood-ratio chi-square* тест. Сравнение количеств *C. difficile* в исследуемых группах проводили тестом Краскелла-Уоллеса с последующим попарным сравнением тестом Манна-Уитни (с поправкой Бонферрони для множественных сравнений). Все различия интерпретировали как достоверные при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

ДНК *C. perfringens* обнаруживали в 36 (16.0%) пробах, *C. difficile* – в 17 (7.6%) образцах. Количество и процент положительных проб на *C. perfringens* и *C. difficile* в отдельных возрастных группах представлены в таблице 1. *C. perfringens* идентифицировали с сопоставимой частотой в 14.8-28.7% в пробах от пациентов различных возрастов. Тогда как частота обнаружения *C. difficile* достоверно отличалась в сравниваемых группах ($p=0.004$).

Таблица 1.

Частота обнаружения *C. perfringens* и *C. difficile* в различных возрастных группах (n=225)

	Группа 1 (n=18)	Группа 2 (n=27)	Группа 3 (n=29)	Группа 4 (n=7)	Группа 5 (n=144)	p

<i>C. perfringens</i>	3 (16.7%)	4 (14.8%)	6 (20.7%)	2 (28.7%)	21 (14.6%)	0.845
<i>C. difficile</i>	5 (27.8%)	5 (18.5%)	2 (6.9%)	0 (0.0%)	5 (3.5%)	0.004
p рассчитан с помощью <i>likelihood-ratio chi-square</i> теста						

Средние количества *C. difficile* также отличались в сравниваемых возрастных группах ($p=0.001$). Для того чтобы оценить между какими возрастными группами достоверно отличались количества *C. difficile* провели попарное сравнение групп (таблица 2). Обнаружили достоверные отличия между группами 1 (дети до 2 лет) и 5 (лица 18 лет и старше) ($p=0.003$).

Таблица 2.

Сравнение средних количеств *C. difficile* в различных возрастных группах
($n=225$)

Сравниваемые группы	p
4 и 5	1.000
4 и 3	1.000
4 и 2	1.000
4 и 1	0.189
5 и 3	1.000
5 и 2	0.079
5 и 1	0.003
3 и 2	0.989
3 и 1	0.080
2 и 1	1.000
p рассчитан при попарном сравнении групп тестом Манна-Уитни с учетом поправки Бонферрони для множественных сравнений	

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что *C. perfringens* и *C. difficile* являются частыми находками при ПЦР исследовании образцов фекалий пациентов, обратившихся за медицинской помощью. ДНК *C. perfringens* обнаруживали в 36 (16.0%) пробах, *C. difficile* – в 17 (7.6%) образцах. При этом *C. perfringens* с сопоставимой частотой инфицировал все возрастные контингенты, в то время как *C. difficile* достоверно чаще обнаруживали у детей, чем у взрослых. Мы отмечаем наличие достоверных различий по количествам *C. difficile* только между группой детей до 2 лет и взрослых (18 лет и старше). Возможно, таковые различия есть и между другими возрастными группами, однако мы не смогли их отметить по причине ограниченного количества обследованного контингента.

Интерпретация положительного результата на *C. difficile* у детей до 2 лет является сложным вопросом. Например, некоторые рекомендации отмечают нецелесообразность рутинного обследования данной возрастной категории на инфицирование *C. difficile* до тех пор, пока не исключены более вероятные возбудители диареи [5]. Возможно, что данная клостридия действительно является представителем нормальной микрофлоры детей до 2 лет, что объяснило бы столь высокий процент положительных проб в рамках настоящего исследования. Однако у некоторых детей *C. difficile* может вызывать развитие тяжелых случаев инфекции, включая псевдомембранозный колит [2, 4].

Выводы:

1. ДНК *C. perfringens* и *C. difficile* методом ПЦР обнаруживали в 36 (16.0%) и 17 (7.6%) пробах соответственно.
2. Частота обнаружения *C. perfringens* была сопоставима во всех возрастных группах.
3. Вероятность обнаружения *C. difficile* достоверно отличалась между сравниваемыми возрастными группами; количества *C. difficile* достоверно выше в группе детей до 2 лет, чем в группе взрослых.

Список литературы:

1. Захарова И.Н. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: что нового? / И.Н. Захарова, И.В. Бережная, Н.Г. Сугян // Медицинский совет. – 2017. – № 19. – С. 126-133.
2. Мазанкова Л.Н. Особенности течения *Clostridia difficile*-инфекции у детей раннего возраста / Л.Н. Мазанкова, С.Г. Перловская, И.С. Курохтина и др. // Педиатрия. – 2016. – №95 (6). – С. 122–130.
3. Ситкин С.И. Микробиом, дисбиоз толстой кишки и воспалительные заболевания кишечника: когда функция важнее таксономии / С.И. Ситкин, Т.Я. Вахитов, Е.В. Демьянова // Альманах клинической медицины. – 2018. – 46 (5). – С. 396-425.
4. Ge-Ann Kuiper Clostridium difficile infections in young infants: Case presentations and literature review / Ge-Ann Kuiper, Joffrey van Prehn, Wim Angb et al. // IDCases. – 2017. – № 10. – P. 7-11.

5. McDonald LC Clinical Practice Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) / LC McDonald, DN Gerding, S Johnson et al. // CID. – 2018. – №66 (1 April). – P. 1-48.

6. Muriel Derrien The Gut Microbiota in the First Decade of Life / Muriel Derrien, Anne-Sophie Alvarez and Willem M. de Vos // Trends in Microbiology. – 2019. – Vol. 27, № 12. – P. 997-1010.

7. Song HJ Antibiotic-associated diarrhea: candidate organisms other than Clostridium difficile / HJ Song, KN Shim, SA Jung et al. // Korean J Intern Med. – 2008 Mar. – Vol. 23, №1. – P. 9-15.

8. Vaishnavi C. Clostridium perfringens enterotoxin in antibiotic-associated diarrhea / C. Vaishnavi, S. Kaur // Indian J Pathol Microbiol. – 2008. Apr-Jun – Vol. 51, № 2. – P. 198-199.

УДК 616.9:616-076

**Райковская К.С., Пересыпайлова С.И., Цвиренко С.В.
ЛАБОРАТОРНЫЙ МОНИТОРИНГ ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ
КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

Кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Raikovskaya K.S., Peresypailova S.I., Tsvirenko S.V.
LABORATORY MONITORING OF PATIENTS WITH NEW
CORONAVIRUS INFECTION**

Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation
E-mail: k.raikovskaya@yandex.ru

Аннотация. В статье проведен ретроспективный анализ данных лабораторных исследований 120 человек с COVID-19. Рассмотрено сравнение и динамика изменения показателей общеклинического, биохимического и гемостазиологического анализа крови, используемых для мониторинга, в 2 группах больных, которые были сформированы в соответствии с необходимостью в интенсивной терапии. Выявлено, что пациенты, нуждающиеся в интенсивной терапии, имели чаще достоверно более высокий уровень лейкоцитов, нейтрофилов, С-реактивного белка, мочевины, МНО и D-димера, а также более низкое количество лимфоцитов, эритроцитов и гемоглобина. Наличие различий в результатах некоторых лабораторных показателей доказывает возможность использования их для мониторинга и оценки прогноза при COVID-19.