

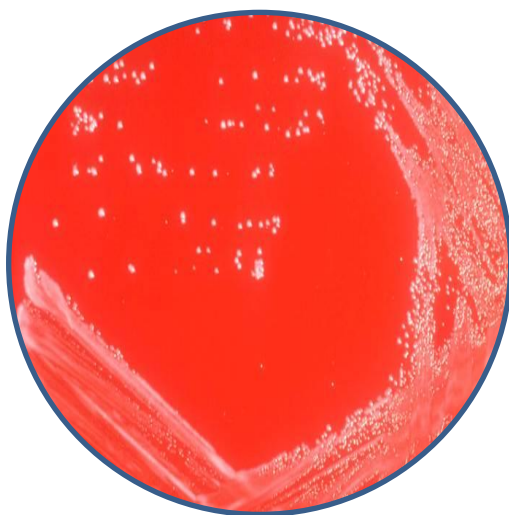


**Всемирная организация
здравоохранения**

Европейское региональное бюро

Учебный семинар по лабораторной диагностике дифтерии

Отчет



11–13 октября 2017 г.

Кипрский Университет

г. Никосия, Кипр



Аннотация

Учебный семинар по лабораторной диагностике дифтерии был совместно организован Сотрудничающим центром ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций, Агентством общественного здравоохранения Англии, Соединенное Королевство, и Европейским региональным бюро ВОЗ. Семинар проводился на базе Медицинского факультета Кипрского Университета, Кипр, и в нем приняли участие 12 сотрудников лабораторий из 11-ти стран ННГ: по одному делегату из Азербайджана, Армении, Беларуси, Грузии, Казахстана, Кыргызстана, Республики Молдова, Российской Федерации, Таджикистана и Узбекистана и 2 делегата из Украины. Семинар послужил повышению уровня информированности лабораторных специалистов об инфекциях, вызываемых коринебактериями, а также позволил освоить навыки лабораторного подтверждения заболевания, определения токсигенных штаммов и типов коринебактерий.

Ключевые слова

DIPHTHERIA

EUROPE

LABORATORY DIAGNOSIS

SURVEILLANCE

Все запросы относительно публикаций Европейского регионального бюро ВОЗ направляйте по адресу:

Publications
WHO Regional Office for Europe
UN City, Marmorvej 51
DK-2100 Copenhagen Ø, Denmark

Запрос на документацию, информацию по здравоохранению, разрешение на цитирование или перевод документа можно также отправить в режиме онлайн на сайт Европейского регионального бюро ВОЗ (<http://www.euro.who.int/pubrequest>).

© Всемирная организация здравоохранения 2017 г.

Все права защищены. Европейское региональное бюро Всемирной организации здравоохранения приветствует просьбы о разрешении воспроизводства или перевода своих публикации как частично, так и полностью.

Использованные в этом документе обозначения и опубликованные материалы не отражают официальной позиции Всемирной организации здравоохранения о юридическом статусе той или иной страны, территории, города или района, или их органов власти, а также делимитации границ этих образований. Пунктирные линии на картах обозначают ориентировочные границы, по которым еще не достигнуто окончательного соглашения.

Упоминание конкретных компаний или продуктов отдельных производителей не означает, что они поддерживаются или рекомендуются Всемирной организацией здравоохранения, или что им отдается предпочтение по сравнению с другими аналогичными компаниями или продуктами, не упомянутыми в тексте. За исключением случаев пропусков и ошибок, названия патентованных продуктов пишутся начальными прописными буквами.

Всемирной организацией здравоохранения были предприняты все необходимые меры предосторожности для проверки информации, содержащейся в этом документе. Однако опубликованный материал распространяется без каких-либо гарантий, явных или подразумеваемых. Ответственность за интерпретацию и использование материала лежит на читателе. Всемирная организация здравоохранения не несет ответственности за какие-либо негативные последствия, возникшие в результате использования этих материалов. Точки зрения, высказанные авторами, редакторами или группами экспертов, не обязательно представляют решения или политическую позицию Всемирной организации здравоохранения.

*Фотография на обложке: типичный рост *C. diphtheriae* на кровяном агаре (предоставлено Сотрудничающим центром ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций, Агентство общественного здравоохранения Англии (Public Health England))*

Содержание

Сокращения	iv
Выражение признательности.....	iv
1. Краткое резюме.....	1
2. Цель и задачи	1
3. Предварительная информация.....	2
4. Структура семинара	2
5. Общая эпидемиология дифтерии.....	3
6. Лабораторная поддержка	3
7. Микробиология и лабораторная диагностика дифтерии	5
8. Выводы.....	8
9. Рекомендации	9
Приложение 1. Программа	11
Приложение 2. Список литературы.....	13
Приложение 3. Список участников.....	14

Сокращения

EDSN	Европейская сеть по эпиднадзору за дифтерией
MALDI	матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация
MALDI - TOF MS	матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация – времяпролетная масс-спектрометрия
кПЦР	количественная полимеразная цепная реакция
ПЦР	полимеразная цепная реакция

Выражение признательности

Европейское региональное бюро ВОЗ выражает благодарность профессору Nikolas Pavlides (декан Медицинского факультета Кипрского Университета, Кипр) за возможность провести семинар на базе Медицинского факультета, а также всем участникам семинара за их приверженность своей работе и плодотворное сотрудничество. ЕРБ ВОЗ выражает глубокую признательность д-ру Baharak Afshar (Агентство общественного здравоохранения Англии, Соединенное Королевство) за проведенную подготовительную работу и техническую поддержку, а также д-ру Вячеславу Мельникову (МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Российская Федерация), д-ру Nikolas Dietis (Медицинский факультет Кипрского Университета, Кипр) и д-ру Maria Alexandrou (Министерство здравоохранения Кипра) за их техническую поддержку при проведении семинара. И, наконец, ЕРБ ВОЗ благодарит г-жу Малику Абдусаламову, г-жу Сиддигу Ахмадову и д-ра Dovile Videbaek (Европейское региональное бюро ВОЗ) за их неоценимую административную поддержку и логистику, а также г-жу Ольгу Алексинскую (консультанта) за предоставление услуг по переводу.

1. Краткое резюме

После массивного возврата дифтерии в 1990-х годах в новых независимых государствах бывшего Советского Союза заболевание стало достаточно редким в Европейском регионе ВОЗ. Тем не менее, продолжают регистрироваться случаи дифтерии и связанных с ней инфекций, вызванные токсигенными штаммами, и они играют роль в развитии потенциально летального инфекционного заболевания. Малое число случаев, а также стоимость и сложность лабораторной диагностики привели к тому, что многие страны Региона прекратили осуществлять скрининговые исследования мазков из зева; в связи с этим, снизился уровень экспертных знаний и возможности распознавания возбудителя. Вследствие этого во многих странах экспертные знания в области лабораторной диагностики дифтерии существенно снизились. Отсутствие возможности осуществлять микробиологическую диагностику заболевания обуславливает и невозможность реализации надлежащих мер общественного здравоохранения. Дифтерия может возобновляться на территориях, где популяционный иммунитет, индуцированный вакцинацией, не поддерживается на высоком уровне. В связи с этим как клиницисты, так и лабораторные специалисты не должны забывать о бдительности в отношении пациентов, у которых отмечаются признаки и симптомы дифтерии респираторных органов или кожи, особенно после посещения стран, где заболевание является эндемичным. Учебный семинар позволил повысить уровень информированности лабораторных специалистов, принимавших участие в семинаре, об инфекциях, вызываемых коринебактериями, освоить навыки лабораторного подтверждения заболевания и идентификации токсигенных штаммов и типов коринебактерий.

2. Цель и задачи

Основной целью семинара было укрепление практических навыков участников и повышение потенциала в области лабораторной диагностики дифтерии. Ожидалось, что в результате семинара будет выработан упорядоченный скоординированный подход к усилению лабораторного надзора за дифтерией.

Основными задачами семинара были:

1. Предоставить обновленную информацию координаторам по микробиологическим исследованиям о возможностях и потребностях лабораторий (включая вопросы обеспечения качества), осуществляющих диагностику дифтерии.
2. Представить специализированные методы лабораторной диагностики дифтерии и обучить участников методам выделения и идентификации возбудителей непосредственно из клинических образцов.
3. Определить ближайшие и долгосрочные (на последующие 12 месяцев) потребности лабораторий с точки зрения обеспечения реагентами и диагностическими материалами, необходимыми для лабораторной диагностики дифтерии.
4. Провести детальные обсуждения разных аспектов микробиологической диагностики дифтерии.
5. Предоставить участникам теоретическую и практическую информацию о методах эпидемиологического типирования *Corynebacterium diphtheriae* и других потенциально токсигенных коринебактерий.

6. Обсудить текущую ситуацию по дифтерии, самые насущные и долгосрочные потребности стран, участвующих в семинаре.
7. Проанализировать вопросы наличия и качества дифтерийного антитоксина (ДАТ), а также антибиотиков и их распределения (холодовая цепь и т.д.).

3. Предварительная информация

В ряде государств-членов Европейского региона ВОЗ отмечаются значительные пробелы в возможностях диагностики дифтерии. Это было определено на основании результатов анализа пробелов в сфере диагностики дифтерии в 30 государствах-членах Европейского союза/Европейской экономической зоны¹ и на основании предварительных результатов такого же анализа в 11 новых независимых государствах. Самые существенные пробелы связаны с подготовкой сотрудников лабораторий и надзором за всеми тремя потенциально токсигенными возбудителями дифтерии, а именно *Corynebacterium diphtheriae*, *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*.

Для решения выявленных проблем Европейское региональное бюро ВОЗ и Сотрудничающий центр ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций провели учебный семинар по лабораторной диагностике дифтерии, который состоялся в г. Никосия, Кипр, 11-13 октября 2017 г. Профессор Nikolas Pavlides, профессор Androulla Efstratiou и д-р Mark Muscat выступили на вводном заседании и поприветствовали участников. Программа семинара представлена в Приложении 1, список литературы (библиография) приводится в Приложении 2. К участию в семинаре пригласили национальных экспертов, ответственных за лабораторную диагностику дифтерии в 12-ти новых независимых государствах Европейского региона. Одиннадцать из этих государств-членов были представлены на семинаре (см. Приложение 3).

Составители отчета: д-р Muscat и проф. Efstratiou.

4. Структура семинара

В первой половине первого дня семинара проводились пленарные заседания, на которых была представлена информация и проведено обсуждение текущей эпидемиологической ситуации по дифтерии, а также сложности, с которыми сталкиваются страны с низкой или неопределяемой заболеваемостью при осуществлении лабораторной диагностики дифтерии. Практические лабораторные занятия начались во второй половине первого дня и продолжались до второй половины третьего дня семинара. Семинар проводился на русском и английском языках.

В рамках семинара участникам были предложены интерактивные лекции и лабораторные занятия, в рамках которых отрабатывались практические навыки. Участники получили лабораторное пособие для практических занятий и прошли обучение по следующим направлениям:

¹ European Centre for Disease Prevention and Control. Gap analysis on securing diphtheria diagnostic capacity and diphtheria antitoxin availability in the EU/EEA. Stockholm: ECDC; 2017.

- Подготовка специальных сред;
- Работа с первичными культурами, полученными из мазка из зева;
- Отбор колоний и оценка морфологии колоний; скрининговые тесты для выявления пиразинамидазной и цистиназной активности; биохимические идентификационные тесты с использованием классических и коммерческих методов; и полимеразная цепная реакция (ПЦР) для выявления гена дифтерийного токсина.

Семинар предоставил возможность для обсуждения следующих тем:

- Определение чувствительности к противомикробным препаратам
- Новые молекулярные методы диагностики дифтерии
- Обеспечение качества методов диагностики дифтерии
- Разработка предложения по формированию Глобальной сети лабораторий ВОЗ по диагностике дифтерии.

5. Общая эпидемиология дифтерии

До начала широкого применения вакцинации против дифтерии это заболевание являлось одной из ведущих причин смертности среди детей. Последняя самая крупная вспышка за последние годы зарегистрирована в Российской Федерации в 1990 г. В период с 1990 по 1997 гг. зарегистрировано более 115 000 случаев заболевания и 3000 случаев смерти.² В настоящее время дифтерия считается нечастым заболеванием в Европейском регионе. Тем не менее, продолжают регистрироваться спорадические случаи, которые временами приводят к летальному исходу. В 2015-2016 гг. зарегистрированы три случая фатальной дифтерии, два из которых были у непривитых детей.³ При этом заболевание остается серьезной проблемой общественного здравоохранения в ряде стран Юго-Восточной Азии, Южной Америки и Африки.

Распространение дифтерии может возобновляться на территориях, где популяционный иммунитет, сформированный благодаря вакцинации, не поддерживается на высоких уровнях. За 2015 г. шесть стран Европейского региона сообщили об охвате трехдозовой первичной серией вакцинации против дифтерии на уровне <90%. Среди этих стран пять государств сообщили о 2-5%-м снижении охвата за предыдущий год. Субоптимальные и снижающиеся показатели охвата вакцинацией в этих странах, а также общие проблемы с наличием дифтерийного антитоксина вызывают беспокойство.

6. Лабораторная поддержка

Сотрудничающий центр ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций, действующий под эгидой Агентства общественного здравоохранения Англии, работает в тесном сотрудничестве с другими аналогичными

² Markina SS, Maksimova NM, Vitek CR, Bogatyreva EY, Monisov AA. Diphtheria in the Russian Federation in the 1990s. J Infect Dis. 2000; 181(Suppl.1):S27-34.

³ Gaps found in the Region's capacity to diagnose diphtheria. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 21 July 2017 (<http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/vaccines-and-immunization/news/news/2017/07/gaps-found-in-the-regions-capacity-to-diagnose-diphtheria>, accessed 15 February 2018).

центрами в разных странах мира. Сотрудничающий центр ВОЗ обладает значительными экспертными знаниями в области диагностики, молекулярно-эпидемиологического типирования, исследований по эпиднадзору, разработки и проведения внешней оценки качества, лабораторных семинаров и симпозиумов по этой узкоспециализированной теме.

Сотрудничающий центр ВОЗ был одним из важнейших элементов *Европейской лабораторной рабочей группы по дифтерии*, которая была создана по инициативе Регионального бюро в 1993 г. в связи с эпидемической ситуацией в Восточной Европе, чтобы помочь многим странам Региона нарастить потенциал в области диагностики дифтерии. Затем Рабочая группа была преобразована в *Европейскую сеть по эпиднадзору за дифтерией* (EDSN), которая была сформирована в 2010 г. в сотрудничестве с Европейским центром по профилактике и контролю заболеваний. В EDSN входят ведущие эпидемиологи и лабораторные эксперты по дифтерии, представляющие 30 стран Региона. Задача Сети состоит в формировании базы экспертных знаний по вопросам профилактики дифтерии и повышения и гармонизации потенциала лабораторий, работающих на национальном уровне. Сотрудничающий центр ВОЗ разработал и разослал панели для внешней оценки качества диагностики дифтерии в 2018 г.

6.1 Разработка пособия и лабораторная диагностика дифтерии

По запросу Европейского регионального бюро ВОЗ в 1994 г. было переписано и опубликовано руководство по лабораторной диагностике дифтерии, которое исходно было издано в 1981 г. Неудивительно, что современный подход к лабораторной диагностике не сильно отличается от того, что применялось ранее. В 1999 г. Служба лабораторий общественного здравоохранения обновила свое руководство по лабораторной диагностике, особенно, в части взятия и транспортировки образцов, работы с первичными культурами, микроскопии, скрининговых тестов, биотипирования и взаимодействия со специализированными референс-центрами, определения чувствительности к противомикробным препаратам, серологических методов, молекулярной диагностики на основе ПЦР, эпидемиологического типирования. Руководство 1994 г. было серьезно переработано, чтобы включить в него новые наработки в области диагностики дифтерии с учетом меняющейся эпидемиологии этой инфекции. Руководство будет опубликовано в 2018 г.

7. Микробиология и лабораторная диагностика дифтерии

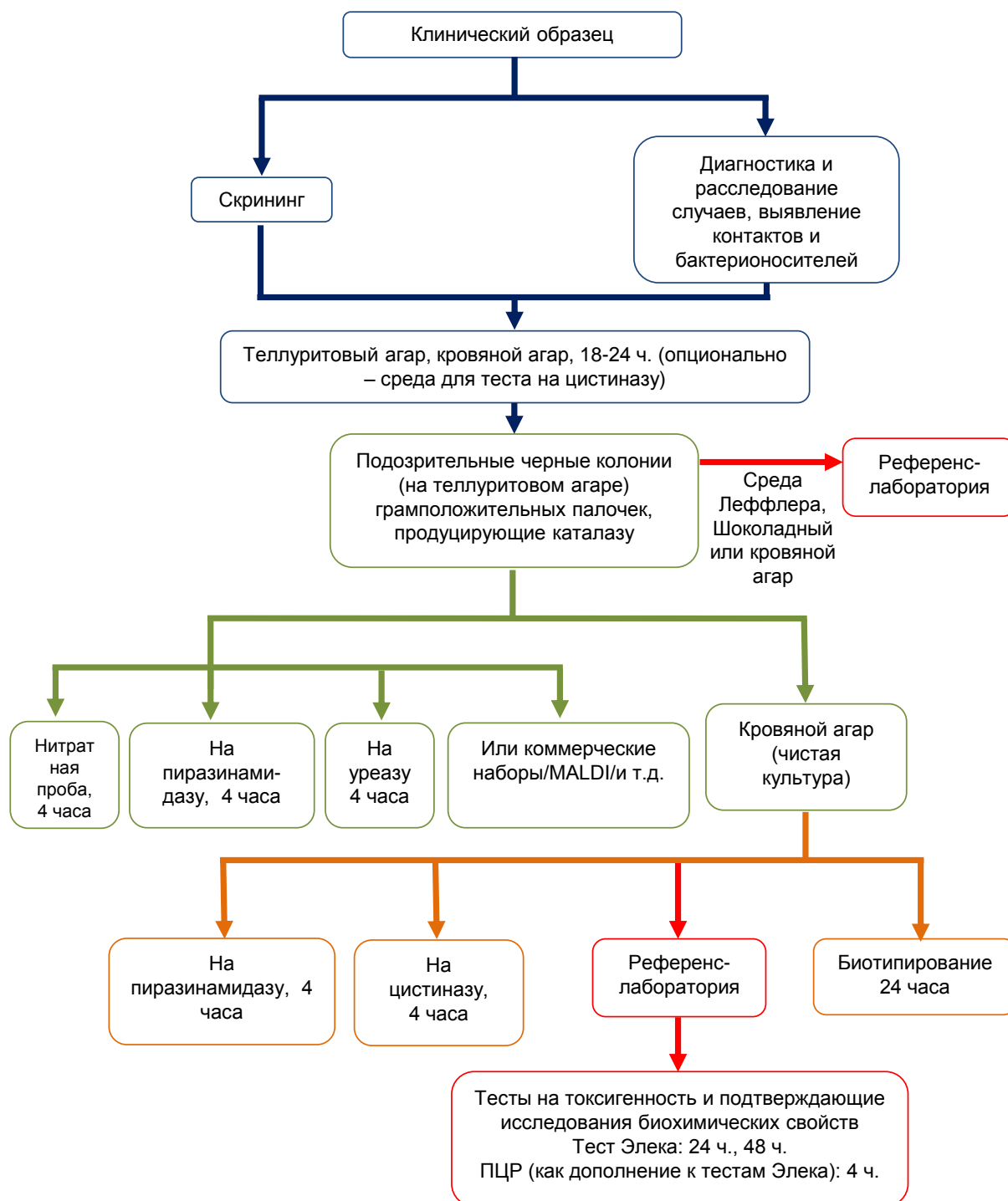
Дифтерию с поражением дыхательной системы или кожи вызывают токсигенные штаммы *C. diphtheriae* и *C. ulcerans*, а также, в редких случаях, *C. pseudotuberculosis*. *C. diphtheriae* – это неспорообразующая, безоболочечная и неподвижная грамм-положительная палочка. Биохимически различают четыре биовара *C. diphtheriae*: *gravis*, *intermedius*, *mitis* и *belfanti*. Экзотоксин могут продуцировать как *C. diphtheria*, так и *C. ulcerans*, и он вызывает местный некроз тканей, а при попадании в кровоток экзотоксин вызывает токсемию и системные осложнения, включая паралич вследствие демиелинизирующего неврита периферических нервов и сердечную недостаточность вследствие миокардита. Структурный ген дифтерийного токсина, *tox*, имеется у семейства коринебактериофагов. Дифтерийный токсин имеет молекулярную массу 58 kDa, состоит из 535 аминокислот, является экзотоксином, чья активная форма состоит из двух полипептидных цепей, связанных дисульфидным мостиком. Клиническое и эпидемиологическое значение нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae* и *C. ulcerans* остается малоизученным.

Лабораторная диагностика осуществляется путем посева *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* или *C. pseudotuberculosis* в условиях клинической лаборатории. Традиционные методы выявления, используемые большинством лабораторий, подразумевают проведение посева на стандартный агар (или теллурит-содержащие среды) и окраску по Граму подозрительной колонии. Дальнейшая идентификация положительных по тесту на каталазу грамм-положительных коринеформных бактерий может осуществляться классическими биохимическими методами. Все больше лабораторий также применяют методы фенотипической идентификации, такие как времяпролетная масс-спектрометрия с лазерной ионизацией и десорбцией из жидкой матрицы (MALDI-TOF MS). Все эти методы обладают хорошей специфичностью, но для подтверждения правильности идентификации и определения токсигенных штаммов обычно требуется проведение исследований на уровне национальной референс-лаборатории. Для идентификации токсигенных штаммов обычно

используется тест Элека, позволяющий выявить экспрессию токсина. Тест Элека для определения фенотипических свойств позволяет получить результаты через ≥ 24 часов, а при применении традиционных фенотипических методов подтверждения видовой принадлежности изучаемых изолятов может потребоваться более 48 часов для получения результатов. Также имеются возможности ПЦР-исследований, которые позволяют за 4 часа идентифицировать и выявить tox-несущий ген или нетокснесущие *C. diphtheriae*, *C. ulcerans*/*C. pseudotuberculosis*, исследуя образцы ДНК, полученные из изолятов (рис. 1).

До начала лечения требуется взять мазки (из носоглотки, зева, с раневой поверхности, кожных повреждений) для бактериологических исследований. При наличии псевдомембран (ложных пленок) или дифтерийной пленки, по возможности, следует взять мазок из-под ложной пленки или взять на анализ небольшой участок пленки. Мазки на посев следует брать даже если антибактериальная терапия к этому моменту уже началась. При отправке образцов врачи должны известить местную лабораторию о подозрении на дифтерию.

Рис. 1. Алгоритм лабораторной диагностики дифтерии



Источник: WHO Manual for the Laboratory Diagnosis of Diphtheria and Related Infections, third edition. Geneva: World Health Organization; (in press). [Руководство ВОЗ по лабораторной диагностике дифтерии и связанных с ней инфекций, третье издание. Женева: Всемирная организация здравоохранения (в печати)]

Рекомендуется передавать все изоляты потенциально токсигенных коринебактерий (*C. diphtheriae*, *C. ulcerans* или *C. pseudotuberculosis*) в референс-/специализированную лабораторию для подтверждения правильности идентификации и **определения токсигенности**. Идентификацию/подтверждение и тесты на токсигенность исходно проводят посредством классической ПЦР или ПЦР в реальном времени (кПЦР)⁴, для чего используется образец ДНК из изолята. Изоляты, в которых посредством кПЦР определено наличие гена дифтерийного токсина (*tox*), следует исследовать на степень экспрессии дифтерийного токсина посредством теста Элека.

Несмотря на то, что положительные результаты ПЦР на наличие гена дифтерийного токсина в штаммах *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*, будут направляться на подтверждение тестом Элека, **при получении положительного результата ПЦР на *tox*-ген следует действовать незамедлительно, не дожидаясь результатов теста Элека**. Отрицательный результат ПЦР на ген дифтерийного токсина является окончательным, и по этим изолятам не требуется проводить дальнейшие тесты на токсигенность.

Изредка изоляты *C. diphtheriae* дают положительный ПЦР-результат на *tox*-ген, но не экспрессируют дифтерийный токсин; т.е. тест Элека дает отрицательный результат. Такие штаммы встречаются в Соединенном Королевстве чрезвычайно редко. Эти штаммы не вызывают клинических форм дифтерии, и пациентам не вводят дифтерийный антитоксин. Однако при обнаружении этих штаммов у пациентов с симптомами заболевания или у бессимптомных носителей следует провести полноценное антибактериальное лечение пациента, которое аналогично терапии, назначаемой пациентам с заболеванием, вызванным токсигенными штаммами. Следует отметить, что отсутствует информация о наличии/распространении этих штаммов в других регионах мира. Важно повышать осведомленность о таких атипичных изолятах.

8. Выводы

За последние 2-3 десятилетия произошли изменения в типах инфекций, вызываемых *C. diphtheria*, и, более недавно, *C. ulcerans*. Появление токсигенных штаммов *C. ulcerans* и их возможная корреляция с домашними животными, а также значимость нетоксигенных штаммов, вызывающих системные заболевания, подчеркивает важность скрининговых мер. Учитывая, что в Европейском регионе заболеваемость дифтерией активизировалась, многие лаборатории, после многолетнего отказа от проведения исследований на дифтерию, проанализировали и пересмотрели методы диагностики этого заболевания. Но в последнее время, как следствие снижения заболеваемости в Европейском регионе, высказываются разные мнения по поводу необходимости рутинного лабораторного скрининга мазков на потенциально токсигенные коринебактерии. Малое число случаев, затраты и сложности, связанные с лабораторной диагностикой дифтерии, привели к тому, что многие страны Региона прекратили скрининговые исследования мазков из зева; вследствие этого снизился уровень экспертных знаний и практических навыков, необходимых для распознавания возбудителя дифтерии. В связи с этим во многих странах снова снизилась

⁴ ПЦР в реальном времени также называют количественной ПЦР (кПЦР).

потребность в лабораторном скрининге, и многие страны прекратили его осуществлять на рутинной основе. Такое положение дел вызывает обеспокоенность и может привести к серьезным последствиям для общественного здравоохранения, особенно учитывая тот факт, что токсигенные штаммы персистируют, и случаи заболевания дифтерией продолжают регистрироваться в странах Европейского региона и за его пределами. Таким образом, насущной задачей является усиление лабораторной диагностики и эпиднадзора за дифтерией.

Основная роль лаборатории заключается в том, чтобы обеспечить применение простых, быстрых и надежных методов лабораторных исследований в помощь врачам при подтверждении клинического диагноза. Зачастую, однако, возникает проблема с постановкой именно клинического диагноза дифтерии, особенно в тех странах, где заболевание встречается редко. Дифтерию можно спутать с другими заболеваниями, такими как стрептококковая инфекция горла, ангина Симановского-Плаута-Венсана или инфекционный мононуклеоз. Таким образом, большое значение придается точной диагностике с помощью микробиологических методов, что всегда рассматривается как дополнение к клиническому диагнозу. Лаборатория также помогает клиницистам исключить наличие инфекции у лиц с подозрением на нее и у контактных лиц и прекратить дальнейшие клинические действия, тем самым предупреждая назначение необоснованного лечения или введение мер контроля.

И, наконец, чрезвычайно важно, чтобы в каждой стране действовала надежная система регистрации случаев. Например, в Европейском регионе и в США обязательна регистрация всех случаев с выделенными токсигенными штаммами. Это соответствует определениям случаев, принятым в ВОЗ и Европейском Союзе, поэтому регистрации подлежат все случаи с токсигенными изолятами *C. diphtheriae* и *C. ulcerans*. Также лаборатории должны поддерживать тесную связь с микробиологами и эпидемиологами национальной референс-лаборатории. Далее приводятся рекомендации, составленные по результатам обсуждений в ходе семинара.

9. Рекомендации

1. Разработать обновленное руководство ВОЗ по микробиологическим методам диагностики дифтерии (на английском и русском языках).
2. Усилить лабораторный потенциал, чтобы обеспечить быструю постановку первичного диагноза.
3. Определить источники финансирования для закупки материалов, позволяющих лабораториям осуществлять эффективную деятельность.
4. Разработать программу внешней оценки качества диагностики дифтерии.
5. Определить как минимум одну лабораторию в каждой стране в качестве национальной референс-лаборатории и обеспечить поддержание ее потенциала для проведения тестов на токсигенность.
6. Совместно с Сотрудничающим центром ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций и ЕРБ ВОЗ провести семинары и практические курсы для сотрудников ЛПУ и лабораторий по взятию и транспортировке образцов, клинической и лабораторной диагностике дифтерии.

7. Нарастить лабораторный потенциал в конкретных областях.
8. Восстановить сеть национальных координаторов, ответственных за лабораторный и эпидемиологический надзор за дифтерией.
9. Рассмотреть возможность проведения исследований серопревалентности в особых ситуациях (напр., на территориях с низким охватом вакцинацией).

Приложение 1. Программа

ДЕНЬ 1, среда, 11 октября 2017 г.

Регистрация участников

Вводная информация и приветствие участников

Проф. Nikolas Pavlides, декан, Медицинский факультет Кипрского университета

Проф. Androulla Efstratiou

Д-р Mark Muscat

Представление участников

Дифтерия: заболевание и его эпидемиология

Д-р Mark Muscat

Лабораторная диагностика дифтерии и связанных с ней инфекций

Проф. Androulla Efstratiou

Молекулярная диагностика и типирование патогенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae* и *C. ulcerans*

Д-р Baharak Afshar

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ 1

В учебной лаборатории

Первичные культуры и определение токсигенности

- Подготовка чашек Петри для классического и модифицированного теста Элека
- Просмотр первичных культур из мазка из зева (С1, Н1, Т1): морфология колоний; селекция колоний и их перенос на кровяной агар, теллуритовый агар Хойла и агар Тинсдаля.
- Посев на среды для теста Элека (чистые культуры, А, В)

.....

ДЕНЬ 2: Четверг, 12 октября 2017 г.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ 2

- Учет результатов тестов на токсигенность через 24 часа – штаммы С and D
- Просмотр субкультур из чашек с первичным посевом (кровяной агар, культуры в чашке с агаром Хойла): (А,В)
- Скрининговые/идентификационные тесты с субкультурами из чашек с первичным посевом (тесты на 4 часа и 24 часа) (классические тесты/API/ ROSCO)

- Учет результатов 24-часового скринингового теста со вчерашнего дня (на агаре Тинсдаля)
- Подготовка к проведению теста с системой API Coryne
- Экстракция ДНК из культур С и D для ПЦР
- Демонстрация и подготовка к проведению исследования методом ПЦР
- Учет результатов 4-часового скринингового теста (с утренней сессии).
- Подготовка к проведению исследования методом ПЦР

ОБСУЖДЕНИЕ:

- Новые методы молекулярной диагностики дифтерии – ОТ-ПЦР
- Определение чувствительности к противомикробным препаратам: обсуждение методологии
- Серологические методы

ДЕНЬ 3: Пятница, 13 октября 2017 г.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ 3

- Учет окончательных результатов исследования культур из мазка из зева (учет результатов с системой API Coryne и других тестов)
- Учет результатов 48-часового теста на токсигенность для культур С и D
- Подготовка E-гелей для ПЦР
- Подготовка и загрузка продуктов ПЦР в агарозный гель (С и D)
- Визуализация ПЦР-фрагментов в геле (А, В)

ОБСУЖДЕНИЕ

- Формирование национальной сети по диагностике дифтерии и активизация региональной деятельности
- Достижение стандартного уровня диагностики дифтерии в клиничко-диагностических лабораториях
- Скрининг в клиничко-диагностических лабораториях
- Обеспечение качества в Новых Независимых Государствах
- Сложности/проблемы с лабораторной диагностикой дифтерии
- Обучение сотрудников и обменные программы между лабораториями
- Любые другие вопросы

Заключительные комментарии и вручение сертификатов

Проф. Androulla Efstratiou и д-р Mark Muscat

Приложение 2. Список литературы

1. De Zoysa A, Efstratiou A. *Corynebacterium* spp. In: Gillespie SH, Hawkey PM, editors. Principles and Practice of Clinical Bacteriology, second edition. London, John Wiley and sons Ltd, 2006.
2. Crowcroft NS, White JM, Efstratiou A, George R. Screening and toxigenic corynebacteria spread. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:520–1.
3. De Zoysa A, Hawkey PM, Engler K, George R, Mann G, Reilly W et al. Characterisation of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* from humans and domestic cats in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 2005; 43:4377–81.
4. Grimont PAD, Grimont F, Efstratiou A, De Zoysa A, Mazurova I, Ruckly C et al. International nomenclature for *Corynebacterium diphtheriae* ribotypes. *Res Microbiol* 2004; 155:162–6.
5. Efstratiou A, Engler KH, Mazurova IK, Glushkevich T, Vuopio-Varkila J, Popovic T. Current approaches to the laboratory diagnosis of diphtheria. *J Infect Dis* 2000; 181 (Suppl 1):S138–45.
6. Efstratiou A, Roure C, Members of the European Laboratory Working Group on Diphtheria. The European Laboratory Working Group on Diphtheria: a global microbiologic network. *J Infect Dis*, 2000; 181 (Suppl 1):S146–51.
7. Popovic T, Mazurova IK, Efstratiou A, Vuopio-Varkila J, Reeves MW, De Zoysa A et al. Molecular epidemiology of diphtheria. *J Infect Dis* 2000; 181 (Suppl 1):S168–77.
8. Efstratiou A, George RC. Laboratory guidelines for the diagnosis of infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans*. *Commun Dis Public Health* 1999; 2:250–7.
9. WHO Regional Office for Europe, Efstratiou A, Maple PAC. Manual for the Laboratory Diagnosis of Diphtheria. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 1994 (ICP/EPI 038(C); apps.who.int/iris/handle/10665/108108, accessed 15 February 2018).
10. Pallen MJ, Hay AJ, Puckey LH and Efstratiou A. Polymerase chain reaction for screening clinical isolates of corynebacteria for the production of diphtheria toxin. *J Clin Pathol* 1994; 47: 353–6.
11. Pallen MJ. Rapid screening for toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* by the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol* 1991; 44: 1025–6.

Приложение 3. Список участников

Азербайджан

Д-р Санубар Салимова
Микробиолог
Республиканский центр гигиены и эпидемиологии

Армения

Д-р Сильвия Габриелян
Руководитель Научно-практического центра микробиологических исследований
Национальный институт здравоохранения

Беларусь

Д-р Светлана Филипенко
Руководитель Микробиологической референс-лаборатории, Государственное учреждение
“Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья ”

Грузия

Д-р Medeia Eloshvili
Ведущий специалист
Главная бактериологическая лаборатория Департамента биобезопасности и особо опасных патогенов, Национальный центр контроля заболеваний и общественного здоровья

Казахстан

Д-р Валентина Соломко
Руководитель референс-лаборатории бактериальных инфекций
“Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга”

Кыргызстан

Д-р Дамира Ашыралиева
Руководитель диагностической лаборатории, Департамент профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Министерство здравоохранения

Республика Молдова

Д-р Ala Halasi
Заместитель директора лаборатории
Национальный центр общественного здоровья

Российская Федерация

Д-р Юлия Саввина
Бактериолог
Межклиническая бактериологическая лаборатория
Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова

Таджикистан

Д-р Хуршед Саидов
Заместитель директора
Таджикский научно-исследовательский институт профилактической медицины

Украина

Д-р Tatiana Glushkevich

Руководитель национальной бактериологической лаборатории, Референс-лаборатория по диагностике дифтерии

Д-р Охана Lych

Бактериолог

Львовский областной лабораторный центр

Узбекистан

Д-р Лариса Ли

Руководитель бактериологической лаборатории

Республиканский Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора

Сотрудничающий центр ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций

Проф. Androulla Efstratiou

Руководитель, Сотрудничающий центр ВОЗ по справочной информации и исследованиям дифтерии и стрептококковых инфекций

Агентство общественного здравоохранения Англии, Лондон

Соединенное Королевство

Европейское региональное бюро ВОЗ

Д-р Mark Muscat

Технический специалист

Программа по управляемым инфекциям и иммунизации

Европейское региональное бюро ВОЗ, Копенгаген

Дания

Преподаватели курса

Д-р Вячеслав Мельников

МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва

Российская Федерация

Д-р Baharak Afshar

Агентство общественного здравоохранения Англии, Лондон

Соединенное Королевство

Д-р Maria Alexandrou

Министерство здравоохранения Кипра/ Многопрофильная больница Ларнаки

Кипр

Д-р Nikolas Dietis

Медицинский факультет Кипрского университета

Кипр

Переводчик

Г-жа Ольга Алексинская

Европейское региональное бюро ВОЗ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) – специализированное учреждение Организации Объединенных Наций, созданное в 1948 г., основная функция которого состоит в решении международных проблем здравоохранения и охраны здоровья населения. Европейское региональное бюро ВОЗ является одним из шести региональных бюро в различных частях земного шара, каждое из которых имеет свою собственную программу деятельности, направленную на решение конкретных проблем здравоохранения обслуживаемых ими стран.

Государства-члены

Австрия
Азербайджан
Албания
Андорра
Армения
Беларусь
Бельгия
Болгария
Босния и Герцеговина
Бывшая югославская
Республика Македония
Венгрия
Германия
Греция
Грузия
Дания
Израиль
Ирландия
Исландия
Испания
Италия
Казахстан
Кипр
Кыргызстан
Латвия
Литва
Люксембург
Мальта
Монако
Нидерланды
Норвегия
Польша
Португалия
Республика Молдова
Российская Федерация
Румыния
Сан-Марино
Сербия
Словакия
Словения
Соединенное Королевство
Таджикистан
Туркменистан
Турция
Узбекистан
Украина
Финляндия
Франция
Хорватия
Черногория
Чехия
Швейцария
Швеция
Эстония

Европейское региональное бюро

Всемирной организации здравоохранения

UN City, Marmorvej 51, DK-2100 Copenhagen Ø, Denmark

Тел: +45 45 33 70 00 Факс: +45 45 33 70 01

Эл. адрес: eucontact@who.int

Веб-сайт: www.euro.who.int