



Инфекционные болезни

Национальное руководство

Главные редакторы
академик РАН Н.Д. Ющук,
академик РАЕН Ю.Я. Венгеров

2-е издание,
переработанное и дополненное



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Участники издания	8
Список сокращений	12
Предисловие	16
Глава 1. Организация службы инфекционной помощи в России. <i>Н.А. Малышев</i>	17
Глава 2. Инфекционные болезни. Заболеваемость и смертность. <i>И.В. Шестакова, Н.Д. Ющук</i>	21
Глава 3. Вакцинопрофилактика инфекционных болезней. Календарь прививок. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	32
Глава 4. Последипломное образование по специальности «Инфекционные болезни». <i>Н.Д. Ющук, М.Г. Кулагина</i>	44
РАЗДЕЛ I. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ	48
Глава 5. Клинические методы. <i>О.Л. Огиенко</i>	49
Жалобы	49
Анамнез заболевания	50
Анамнез жизни	50
Эпидемиологический анамнез	51
Физикальное обследование	52
Термометрия	53
Глава 6. Лабораторные методы	55
Клинический анализ крови*. <i>О.Л. Тимченко</i>	55
Клинический анализ мочи*. <i>М.М. Гаджикулиева</i>	55
Биохимический анализ крови*. <i>О.Л. Тимченко</i>	55
Анализ желчи*. <i>О.Л. Тимченко</i>	55
Клинический анализ кала*. <i>М.М. Гаджикулиева, О.Л. Тимченко</i>	55
Исследование спинномозговой жидкости*. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	55
Специальные методы лабораторной диагностики. <i>И.П. Балмасова</i>	55
Микроскопический метод	56
Микробиологический метод	62
Биологический метод	66
Иммунологические методы	67
Молекулярно-биологические методы	80
Глава 7. Инструментальные методы*	87
Электрокардиография. <i>П.Г. Филиппов</i>	
Рентгенография. <i>Т.Э. Мигманов</i>	
Электрэнцефалография. <i>Т.Э. Мигманов</i>	
Электронейромиография. <i>Т.Э. Мигманов</i>	
Компьютерная томография. <i>Т.Э. Мигманов</i>	
Магнитно-резонансная томография. <i>Т.Э. Мигманов</i>	
Ультразвуковая диагностика. Эхокардиография. <i>П.Г. Филиппов</i>	
Эзофагогастродуоденоскопия. <i>П.Г. Филиппов</i>	
Ректороманоскопия, колоноскопия. <i>П.Г. Филиппов</i>	
РАЗДЕЛ II. МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ	88
Глава 8. Немедикаментозные методы лечения инфекционных болезней*. <i>О.Л. Тимченко</i>	89
Режим	
Диетотерапия	
Физиотерапия	
Санаторно-курортное лечение	

* Материалы доступны в электронном виде по ссылке, указанной на 2-м форзаце.

Глава 9. Фармакотерапия	90
9.1. Антибактериальные препараты. Этиотропная терапия инфекционных заболеваний. <i>Е.А. Климова</i>	90
9.2. Лечебно-профилактические бактериофаги как средство антибактериальной терапии. <i>О.С. Дарбеева</i>	116
9.3. Противогрибковые препараты. <i>Е.А. Климова</i>	119
9.4. Противовирусные препараты. <i>К.Р. Дудина</i>	129
9.5. Противопаразитарные препараты. <i>А.К. Токмалаев</i>	162
9.6. Лекарственные взаимодействия. <i>Е.А. Климова</i>	169
9.7. Биодоступность возбудителя. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	176
9.8. Механизмы резистентности к антибактериальным препаратам. <i>Е.А. Климова, Н.Д. Ющук</i>	177
9.9. Иммунотерапия инфекционных болезней. <i>А.В. Караулов</i>	179
9.10. Побочное действие антимикробных препаратов. <i>Г.С. Архипов</i>	189
РАЗДЕЛ III. КЛИНИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ	200
Глава 10. Лихорадочно-интоксикационный синдром. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	201
Глава 11. Катарально-респираторный синдром. <i>М.Г. Кулагина</i>	207
Глава 12. Экзантемы, энантемы, первичный аффект. <i>И.В. Шестакова, Ю.Я. Венгеров</i>	214
Глава 13. Лимфаденопатия. <i>Г.Н. Кареткина</i>	225
Глава 14. Синдром желтухи. <i>С.Л. Максимов, Ю.Я. Венгеров</i>	235
Глава 15. Синдром поражения желудочно-кишечного тракта при инфекционных болезнях. <i>Н.Д. Ющук, А.Ю. Розенблюм</i>	244
Глава 16. Гепатолиенальный синдром. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	251
Глава 17. Поражение почек при инфекционных болезнях. <i>М.М. Гаджикулиева</i>	253
Глава 18. Поражение центральной нервной системы при инфекционных болезнях. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	260
Глава 19. Поражение периферической нервной системы при инфекционных болезнях*. <i>Н.Д. Ющук, О.Л. Тимченко</i>	267
РАЗДЕЛ IV. КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЗАБОЛЕВАНИЯМ ...	268
Глава 20. Бактериальные инфекции	269
20.1. Сальмонеллезы. <i>Д.Р. Ахмедов</i>	269
20.1.1. Брюшной тиф. <i>Д.Р. Ахмедов</i>	270
20.1.2. Паратифы А, В и С. <i>Д.Р. Ахмедов</i>	281
20.1.3. Сальмонеллез. <i>Д.Р. Ахмедов, Ю.Я. Венгеров</i>	283
20.2. Шигеллез. <i>Н.Д. Ющук, А.Ю. Розенблюм</i>	290
20.3. Эшерихиозы. <i>Г.К. Аликеева</i>	299
20.4. Пищевые токсикоинфекции. <i>А.Ю. Розенблюм</i>	312
20.5. Холера. <i>Г.С. Архипов</i>	324
20.6. Заболевания, вызываемые НАГ-вибрионами. <i>Я.М. Еремушкина</i>	335
20.7. Иерсиниозы. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	339
20.7.1. Иерсиниоз. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	340
20.7.2. Псевдотуберкулез. <i>Ю.Я. Венгеров</i>	350
20.7.3. Чума. <i>Н.Д. Ющук, М.В. Нагибина</i>	359
20.8. Кампилобактериоз. <i>Т.В. Сологуб, И.И. Токин</i>	367
20.9. Листерииоз. <i>Г.Н. Кареткина</i>	376

* Материалы доступны в электронном виде по ссылке, указанной на 2-м форзаце.

20.10. Бруцеллез. Д.Р. Ахмедов	384
20.11. Туляремия. Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова, Н.В. Огошкова	394
20.12. Сибирская язва. М.В. Нагибина	409
20.13. Стрептококковые инфекции. Н.И. Брико	420
20.13.1. Скарлатина. Н.И. Брико	436
20.13.2. Рожь. А.А. Еровигенков	445
20.14. Пневмококковые инфекции. Ю.Я. Венгеров	459
20.15. Стафилококковые инфекции. Ю.Я. Венгеров	464
20.16. Менингококковая инфекция. Ю.Я. Венгеров	468
20.17. Сепсис. Ю.Я. Венгеров	483
20.18. Дифтерия. П.Г. Филиппов	490
20.19. Гемофильная инфекция. Ю.Я. Венгеров	501
20.20. Легионеллезы. М.Г. Кулагина	506
20.21. Возвратные тифы. Г.Н. Кареткина, Н.Д. Ющук	514
20.22. Лептоспироз. М.Г. Авдеева	520
20.23. Иксодовые клещевые боррелиозы. И.В. Малов	540
20.24. Столбняк. В.В. Никифоров, М.З. Шахмарданов	549
20.25. Ботулизм. В.В. Никифоров	558
20.26. Лепра*. В.В. Дуйко, В.П. Цемба, Х.М. Галимзянов	568
20.27. Риккетсиозы. Ю.Я. Венгеров	568
20.27.1. Сыпной тиф. Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова, Л.В. Ханипова	571
20.27.2. Эндемический крысиный сыпной тиф. Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова, Ю.С. Чехова	578
20.27.3. Марсельская лихорадка. Х.М. Галимзянов, Ю.В. Шерышева	583
20.27.4. Астраханская риккетсиозная лихорадка. Х.М. Галимзянов, Ю.В. Шерышева	586
20.27.5. Другие пятнистые риккетсиозные лихорадки. Г.Н. Кареткина. ...	593
20.27.6. Ку-лихорадка. Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова, М.В. Антонова	604
20.27.7. Эрлихиозы. П.Г. Филиппов	615
20.27.8. Доброкачественный лимфоретикулез. Н.Д. Ющук, Т.Н. Ермак ...	621
20.28. Орнитоз. Ю.Я. Венгеров	626
20.29. Респираторный микоплазмоз. Н.Д. Ющук, О.Л. Огиенко	631
Глава 21. Вирусные инфекции.	640
21.1. Вирусные гепатиты	640
21.1.1. Гепатит А. Г.Н. Кареткина	640
21.1.2. Гепатит Е. С.Л. Максимов	651
21.1.3. Гепатит В. О.О. Знойко	655
21.1.4. Гепатит D. О.О. Знойко	682
21.1.5. Гепатит С. Е.А. Климова	688
21.1.6. GBV-C/HGV-инфекция. С.Л. Максимов	702
21.1.7. Гепатиты ни А ни G. С.Л. Максимов	705
21.2. ВИЧ-инфекция. А.И. Мазус, Т.П. Бессараб	708
21.3. Грипп. М.Г. Кулагина, Н.Д. Ющук	739
21.4. Грипп птиц у человека. М.Г. Кулагина	747
21.5. Аденовирусная инфекция. М.Г. Кулагина	753
21.6. Риновирусная инфекция. М.Г. Кулагина	757
21.7. Коронавирусная инфекция. М.Г. Кулагина	759
21.8. Энтеровирусные инфекции. Т.Э. Мигманов	768
21.9. Полиомиелит. Н.Д. Ющук, Т.Э. Мигманов	778

* Материалы доступны в электронном виде по ссылке, указанной на 2-м форзаце.

21.10. Диареи вирусной этиологии. А.А. Шульдяков, Е.П. Ляпина, К.Х. Рамазанова	788
Ротавирусная инфекция	788
Норовирусная инфекция	798
Астровирусная инфекция	802
21.11. Герпесвирусные инфекции. Н.Д. Ющук, Т.К. Кускова	804
21.11.1. Герпетическая инфекция. Т.К. Кускова	807
21.11.2. Ветряная оспа. Я.М. Еремушкина	817
21.11.3. Опоясывающий лишай. Я.М. Еремушкина	824
21.11.4. Инфекционный мононуклеоз. Е.Г. Белова, Ю.Я. Венгеров	830
21.11.5. Цитомегаловирусная инфекция. В.И. Шахгильдян	838
21.11.6. Инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 6-го типа. Т.К. Кускова.	853
21.11.7. Инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 7-го типа. Т.К. Кускова.	857
21.11.8. Инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 8-го типа. Т.К. Кускова.	858
21.12. Корь. И.А. Зайцева, Е.В. Михайлова, Д.Ю. Левин	861
21.13. Краснуха. Т.В. Сологуб, В.В. Цветков	870
21.14. Паротитная инфекция. А.В. Сундуков	876
21.15. Натуральная оспа*. Г.С. Архипов	885
21.16. Оспа животных. Г.С. Архипов.	885
Оспа обезьян	886
Коровья оспа	890
21.17. Геморрагические лихорадки. Ю.Я. Венгеров.	892
21.17.1. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. Д.А. Валишин	894
21.17.2. Омская геморрагическая лихорадка. Д.А. Валишин.	904
21.17.3. Желтая лихорадка. А.В. Сундуков	910
21.17.4. Лихорадка денге. Н.Д. Ющук, А.В. Сундуков	917
21.17.5. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. В.В. Никифоров, М.З. Шахмарданов.	923
21.17.6. Геморрагическая лихорадка Ласса. Н.Д. Ющук, М.М. Гаджикулиева	929
21.17.7. Геморрагическая лихорадка Марбург. М.М. Гаджикулиева, Н.Д. Ющук.	934
21.18. Лихорадка Западного Нила. Ю.Я. Венгеров	938
21.19. Лихорадка Зика. Н.Д. Ющук, О.В. Добронравова	947
21.20. Бешенство. Е.А. Климова.	951
21.21. Клещевой энцефалит. И.В. Малов.	959
21.22. Медленные инфекции центральной нервной системы*. О.О. Знойко.	971
Медленные инфекции, вызываемые вирусами	
Прионные болезни	
Глава 22. Протозоозы	972
22.1. Амебиаз. А.К. Токмалаев	972
22.2. Лямблиоз. А.К. Токмалаев.	980
22.3. Малярия. А.К. Токмалаев.	983

* Материалы доступны в электронном виде по ссылке, указанной на 2-м форзаце.

22.4. Токсоплазмоз. <i>А.К. Токмалаев</i>	1002
22.5. Криптоспоридиоз. <i>Т.Н. Ермак</i>	1009
22.6. Пневмоцистоз. <i>Т.Н. Ермак</i>	1015
Глава 23. Гельминтозы	1024
23.1. Трематодозы.	1024
23.1.1. Описиорхоз. <i>Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова, О.А. Любимцева</i>	1024
23.1.2. Фасциолез. <i>А.К. Токмалаев</i>	1031
23.1.3. Шистосомозы. <i>А.К. Токмалаев</i>	1034
23.2. Цестодозы. <i>А.К. Токмалаев</i>	1043
23.2.1. Дифиллоботриозы.	1043
23.2.2. Тениаринхоз	1046
23.2.3. Тениоз	1049
23.2.4. Цистицеркоз	1051
23.2.5. Эхинококкозы	1053
23.3. Нематодозы. <i>А.К. Токмалаев</i>	1062
23.3.1. Аскаридоз	1062
23.3.2. Трихоцефалез	1067
23.3.3. Энтеробиоз	1069
23.3.4. Стронгилоидоз	1073
23.3.5. Трихинеллез	1078
23.3.6. Токсокароз	1085
23.3.7. Дирофиляриозы	1092
Глава 24. Болезни, вызываемые членистоногими * <i>Ю.Я. Венгеров</i>	1096
Педикулез	
Чесотка	
Тунгиоз	
Миазы	
Предметный указатель	1097

* Материалы доступны в электронном виде по ссылке, указанной на 2-м форзаце.

Глава 6

Лабораторные методы

Несмотря на то что клинические анализы крови и мочи, биохимические анализы крови, анализы желчи и кала — неспецифические методы исследования в инфектологии, их результаты имеют большое значение в диагностике, дифференциальной диагностике и прогнозировании инфекционных болезней. В настоящем разделе представлены наиболее распространенные показатели, используемые в практике инфекциониста.

КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ*

КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЧИ*

БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ*

АНАЛИЗ ЖЕЛЧИ*

КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАЛА*

ИССЛЕДОВАНИЕ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ*

СПЕЦИАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Методы лабораторной диагностики, используемые в клинике инфекционных болезней, разделяют на две большие группы — общеклинические и специальные. В данном разделе речь пойдет о **специальных методах**, направленных на установление этиологии заболевания, идентификацию его возбудителя и определение специфических биомаркеров инфекционного процесса.

* Материалы доступны в электронном виде по ссылке, указанной на 2-м форзаце.

К специальным методам лабораторной диагностики инфекционных болезней относят микроскопический, микробиологический, вирусологический, биологический, иммунологический, молекулярно-биологический и комбинированные методы.

Микроскопический метод

Основной задачей микроскопического метода исследования является индикация возбудителя в биологическом материале от больного и в ряде случаев — определение его видовой принадлежности.

В процессе микроскопического исследования выявляются две категории свойств возбудителя — его морфология и отношение к окраске, которые не относятся к видовым признакам микроорганизма, а характеризуют лишь его родовую принадлежность. В связи с этим микроскопия не позволяет в большинстве случаев определить вид возбудителя и поставить на этом основании диагноз заболевания. Только при сочетании микроскопического метода с методами иммунодиагностики возможна идентификация возбудителя.

Современная микроскопия в зависимости от способа визуализации микроорганизмов базируется на трех принципах — **световом, электронном, лазерном**.

Световая микроскопия позволяет исследовать как нативные препараты из биологического материала, так окрашенные препараты (рис. 6.3).

В нативных препаратах определяют не только морфологию возбудителя, но и его подвижность (спирохеты, амёбы, холерные вибрионы и др.). В фиксированных и окрашенных красителями мазках выявляют тинкториальные свойства возбудителя, то есть наличие у него определенных химических структур, приобретающих под воздействием специального красителя определенную окраску. Наиболее распространенный способ окраски бактерий — окраска по Граму, которая позволяет выявлять в составе их клеточной стенки высокое содержание пептидогликана, усваивающего один из красителей. В результате бактерии с высоким содержанием пептидогликана окрашиваются в фиолетовый цвет — грамположительные бактерии, а с низким в красный цвет — грамотрицательные бактерии. Такое разделение бактерий имеет очень важное значение в их систематике, оценке патогенных свойств и чувствительности к химиотерапевтическим средствам. Например, патогенные грамположительные бактерии в большинстве случаев образуют экзотоксины, грамотрицательным бактериям присуще содержание липополисахарида (эндотоксина) в составе клеточной стенки. Кроме того, существует взаимосвязь между окраской по Граму и возможностью проникновения конкретного антибиотика или другого химиопрепарата в бактериальную клетку с реализацией его внутриклеточного эффекта.

В оптической микроскопической технике нашло применение и явление люминесценции микроскопических объектов как естественное, так и вызванное специальными красителями-флюорохромами (**люминесцентная микроскопия**).

Что касается используемой в оптической микроскопии техники, то она представлена широким набором микроскопов — от традиционных до сложных видеосистем, позволяющих применять любой из существующих видов микроскопии и выводить изображение на экран монитора (рис. 6.4).

Световая микроскопия до настоящего времени используется в диагностике гельминтозов, инфекций, вызванных простейшими и грибами. Этот метод сохраняет свое значение при обнаружении в биологическом материале

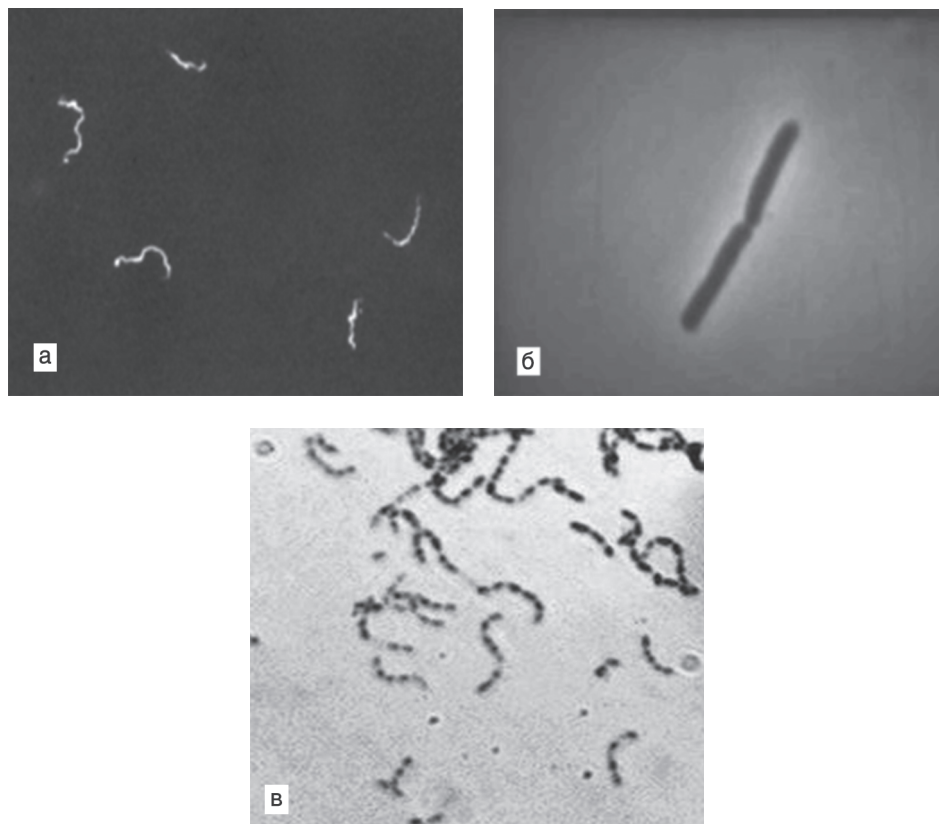


Рис. 6.3. Препараты для микроскопии: а, б — нативные препараты для изучения подвижности микроорганизмов методами темнопольной (а) и фазово-контрастной (б) микроскопии; в — фиксированный и окрашенный мазок для иммерсионной микроскопии



Рис. 6.4. Современные оптические микроскопы и видеосистемы

бактерий и бактериеподобных микроорганизмов — микобактерий, вибрионов, бактерий кокковой группы, спирохет, актиномицетов, т.е. таких микробов, размеры которых, уникальные тинкториальные свойства или характерная подвижность позволяют оптически зарегистрировать их присутствие в материале от больного.

Комбинация световой микроскопии с иммунологическим методом в виде обработки микроскопических препаратов антителами, меченными флуорохромами, к наиболее характерным видовым микробным антигенам последующей люминесцентной микроскопией значительно повышает ее диагностическую значимость. Эти методы еще будут охарактеризованы в последующем как разновидность иммуноанализа — **иммунофлюоресцентный** или **иммуногистохимический методы**.

Значительно реже в инфекционной практике используется электронная или конфокальная микроскопия — микроскопический метод, в котором вместо светового потока для визуализации микроскопических объектов используется поток электронов или лазерные лучи, позволяющие тысячекратно увеличить разрешающую способность метода и обнаруживать в биологическом материале не только клеточные микроорганизмы, но и вирусы (рис. 6.5). Однако высокая стоимость таких микроскопов, сложность их обслуживания резко ограничивают их применение в диагностике инфекционных заболеваний. Гораздо шире электронная и конфокальная микроскопия используются с научно-исследовательскими целями.

Преимущества микроскопического метода заключаются в его широкой доступности и возможности использования для ранней предварительной диагностики бактериальных инфекций. Однако при протозоозах и грибковых инфекциях диагностическое значение микроскопии резко возрастает, а при гельминтозах, например, последняя становится практически единственным методом диагностики. Микроскопический метод может использоваться и в диагностике вирусных инфекций, но в этом случае обнаруживают не отдельного возбудителя, имеющего чрезвычайно малые размеры, а внутриклеточные включения — скопления возбудителя в клетках макроорганизма или продуктов измененного метаболизма клетки. В табл. 6.6–6.8 представлены основные принципы микроскопической диагностики при инфекционных заболеваниях, где этот метод играет значительную роль.

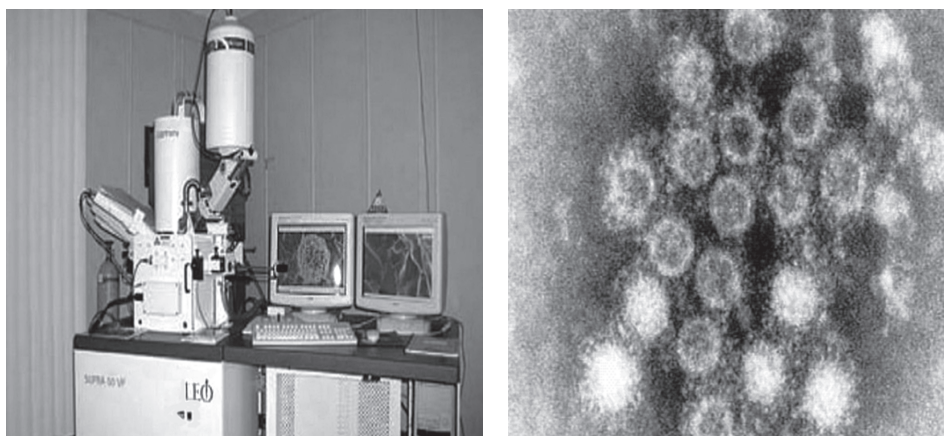


Рис. 6.5. Электронный микроскоп (слева) и вирус гепатита А в биоматериале при электронной микроскопии (справа)

Таблица 6.6. Микроскопический метод в диагностике заболеваний, вызываемых гельминтами

Гельминтоз	Возбудитель	Исследуемый материал	Препараты для микроскопии	Объекты микроскопического обнаружения
Нематодозы				
Аскаридоз	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Кал	Нативный препарат	Оплодотворенные и неоплодотворенные яйца
Трихоцефалез	<i>Trichocephalus trichiurus</i>	Кал	Нативный препарат	Яйца
Энтеробиоз	<i>Enterobius vermicularis</i>	Соскоб с периаанальной складки	Нативный препарат	Яйца, возбудитель
Стронгилоидоз	<i>Strongyloides stercoralis</i>	Кал, дуоденальное содержимое	Нативный препарат	Личинки
Трихинеллез	<i>Trichinella spiralis</i>	Мясные продукты, биоптаты мышечной ткани, секционный материал	Нативный препарат	Личинки
Токсокароз	<i>Toxocara canis</i>	Биопсийный и секционный материал	Нативный препарат	Личинки
Цестодозы				
Дифиллоботриоз	<i>Diphyllobothrium latum</i>	Кал	Нативный препарат	Яйца, членики
Тениаринхоз	<i>Taeniarhynchus saginatus</i>	Кал, соскоб с периаанальной складки	Нативный препарат	Яйца, членики
Тениоз	<i>Taenia solium</i>	Кал	Нативный препарат	Яйца, членики
Цистицеркоз	<i>Cysticercus cellulosae</i>	Биопсийный материал	Нативный препарат	Личинки (цистицерки)
Эхинококкоз	<i>Echinococcus granulosus</i>	Содержимое паразитарной кисты, мокрота, лаважная жидкость, желчь, биопсийный материал	Нативный препарат	Протосколексы, ацефалокисты
Трематодозы				
Описторхоз	<i>Opisthorchis felineus</i>	Кал, желчь	Нативный препарат	Яйца
Фасциолез	<i>Fasciola hepatica</i> , <i>Fasciola gigantica</i>	Кал, желчь	Нативный препарат	Яйца
Шистосомоз мочеполовой и кишечный	<i>Schistosoma haematobium</i> , <i>Schistosoma mansoni</i>	Моча, кал	Нативный препарат	Яйца

Таблица 6.7. Микроскопический метод в диагностике заболеваний, вызываемых простейшими

Протозооз	Возбудитель	Исследуемый материал	Способ микроскопического обнаружения	Объекты микроскопического обнаружения
Амебиаз	<i>Entamoeba histolytica</i>	Свежий кал	Нативные препараты (с добавлением раствора Люголя и метиленового синего) и окрашенные мазки	Трофозоиты, у реконвалесцентов и носителей — просветная форма, цисты

Протозооз	Возбудитель	Исследуемый материал	Способ микроскопического обнаружения	Объекты микроскопического обнаружения
Лямблиоз	<i>Giardia intestinalis</i>	Желчь, кал	Нативный препарат	Трофозоиты, цисты
Малярия	<i>Plasmodium vivax</i> , <i>Plasmodium malariae</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i>	Кровь	Мазок «толстая капля» без фиксации, окраска по Романовскому–Гимзе	Трофозоиты, шизонты, эритроцитарные мерозоиты, микрогаметоциты, макрогаметоциты
Токсоплазмоз	<i>Toxoplasma gondii</i>	Спинномозговая плевральная, околоплодная жидкость, кровь, биоптаты лимфатических узлов	Фиксированные мазки с окраской по Романовскому–Гимзе	Трофозоиты, псевдоцисты, в тканях — цисты
Лейшманиоз	<i>Leishmania tropica</i> , <i>Leishmania donovani</i> и др. (около 20 видов)	Отделяемое с краев язвы, кровь, пунктаты внутренних органов, лимфатических узлов	Фиксированные мазки, окрашенные по Романовскому–Гимзе	Безжгутиковые формы возбудителя
Трихомониаз мочеполовой, кишечный	<i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Trichomonas hominis</i>	Свежее отделяемое влагалища и уретры, кал	Нативный препарат	Возбудитель
Бабезиоз	<i>Babesia divergens</i> , <i>Babesia rodhaini</i> , <i>Babesia microti</i>	Кровь	Мазок «толстая капля» без фиксации, окраска по Романовскому–Гимзе	Возбудитель
Трипаносомоз	<i>Trypanosoma brucei</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i>	Пунктат первичных аффектов, кровь	Фиксированный мазок-отпечаток и мазок «толстая капля» крови без фиксации с окраской по Романовскому–Гимзе	Возбудитель
Балантидиаз	<i>Balantidium coli</i>	Кал	Нативный препарат	Трофозоиты, цисты

Таблица 6.8. Микроскопический метод в диагностике заболеваний, вызываемых грибами

Микоз	Возбудитель	Исследуемый материал	Способ микроскопического обнаружения	Объекты микроскопического обнаружения
Кератомикозы				
Отрубевидный лишай	<i>Pityrosporum obiculare</i>	Чешуйки кожи	Обработанный щелочью нативный препарат	Мицелий и характерное скопление гифов гриба
Дерматофитии				
Трихофития, фавус	<i>Trichophyton</i>	Чешуйки кожи, волосы, соскобы с ногтей	Обработанный щелочью нативный препарат	Характерные споры грибов (в волосах), мицелий и споры гриба

Микоз	Возбудитель	Исследуемый материал	Способ микроскопического обнаружения	Объекты микроскопического обнаружения
Микроспория	<i>Microsporum</i>	Чешуйки кожи, волосы, соскобы с ногтей	Обработанный щелочью нативный препарат	Характерные споры грибов (в волосах), мицелий и споры гриба
Эпидермофития	<i>Epidermophyton floccosum</i>	Чешуйки кожи, соскобы с ногтей	Обработанный щелочью нативный препарат	Характерные мицелий и споры гриба
Кандидозы				
Кандидоз кожи, слизистых оболочек, инвазивный кандидоз	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida catenulata</i> , <i>Candida cijferrii</i> , <i>Candida guilliermondii</i> и др.	Соскобы кожи, налет слизистых оболочек, моча, мокрота, кал, кровь, пунктаты внутренних органов	Нативные препараты, фиксированные препараты с окраской по Граму и др. окраски	Дрожжевые почкующиеся клетки, псевдомицелий
Опportunистические микозы				
Криптококкоз	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Мокрота, гной, соскобы язв, СМЖ, моча, биоптаты тканей	Нативные препараты, фиксированные мазки, окрашенные тушью	Округлые или яйцевидные клетки, окруженные слизистой желтоватой капсулой
Плесневые микозы	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i>	Соскобы с кожи, ногтей, отделяемое пазух носа, наружного слухового прохода, мокрота, гной, кал, биоптаты тканей	Фиксированные препараты с окраской по Граму	Характерное расположение мицелия и конидиоспор
Пневмоцистоз	<i>Pneumocystis jiroveci</i>	Мокрота, лаважная жидкость, биоптаты легочной ткани	Фиксированные мазки с окраской по Романовскому–Гимзе	Возбудитель
Глубокие микозы				
Кокцидиоидоз	<i>Coccidioides immitis</i>	Гной, мокрота, кровь, ликвор, биопсийный материал	Нативные препараты, фиксированные препараты с окраской по Граму	Сфераула как тканевая форма
Гистоплазмоз	<i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Histoplasma duboisii</i>	Гной, мокрота, кровь, моча, ликвор, пунктаты внутренних органов	Фиксированные мазки с окраской по Романовскому–Гимзе	Овальные дрожжеподобные клетки внеклеточно или внутри моноцитов/макрофагов
Бластомикоз	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Гной из свищей и абсцессов, ликвор, мокрота, моча, пунктат лимфатических узлов	Обработанный щелочью нативный препарат	Круглые или овальные крупные дрожжевые клетки с двухконтурной клеточной стенкой

Микробиологический метод

Микробиологический метод до настоящего времени остается одним из ведущих методов лабораторной диагностики целого ряда инфекционных заболеваний.

Суть метода заключается в выделении чистой культуры микробного возбудителя из материала от больного с его последующей идентификацией.

Наиболее часто микробиологический метод используется в диагностике бактериальных инфекций (бактериологический метод), микозов (микологический метод), в этом случае чистую культуру получают путем посева на искусственные питательные среды.

Выделить чистую культуру вирусов путем посева на искусственные питательные среды не удастся, так как вирусы размножаются только в живых клетках. Для этой цели используют культуры тканей, куриные эмбрионы, что входит в понятие — вирусологического — метода диагностики.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Бактериологический метод служит одним из самых широко используемых методов в диагностике бактериальных инфекций. Алгоритм его осуществления представлен на рис. 6.6, а его отдельные этапы — на рис. 6.7.

Эффективность бактериологического метода диагностики зависит от ряда обстоятельств.

Во-первых, необходимо учитывать сроки отдельных стадий патогенеза инфекционного процесса, которые влияют на присутствие возбудителя в исследуемом биологическом материале. Например, при брюшном тифе чаще всего удастся выделить гемокультуру возбудителя в первые дни лихорадки, поскольку в последующие дни интенсивность бактериемии значительно снижается, как и возможность выделения чистой культуры возбудителя из крови, в то же время на 2–3 нед болезни резко повышается возможность получения копрокультуры



Рис. 6.6. Алгоритм бактериологического метода

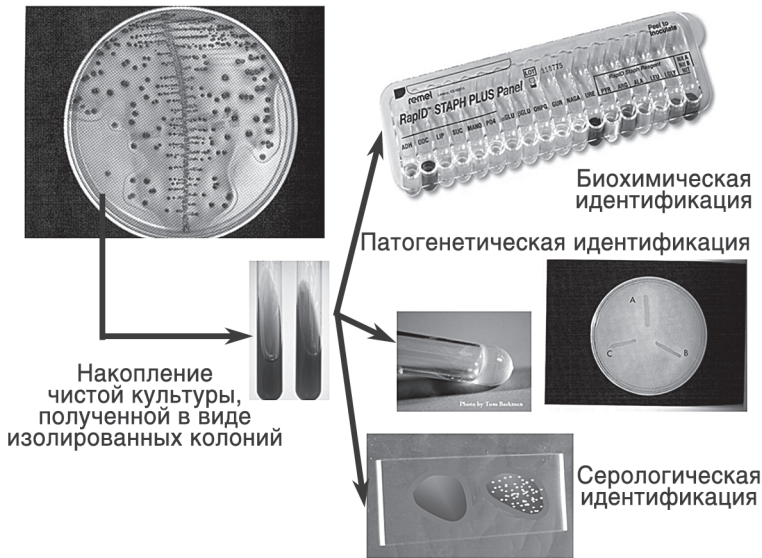


Рис. 6.7. Этапы накопления чистой культуры и ее идентификации

возбудителя. При менингококковой инфекции бактериемия наиболее интенсивна в первые часы болезни, а в течение вторых и третьих суток резко падает даже в отсутствие антибактериальной терапии.

Во-вторых, существенное значение для эффективности бактериологической диагностики имеет соблюдение правил забора материала для исследования. Так, забор крови, мочи, слизи, кала должен осуществляться в стерильную посуду, которая перед этим обеззараживалась путем термической обработки, но не с использованием дезинфицирующих средств. При этом очень важно производить забор биологического материала из места наиболее вероятного нахождения возбудителя — краев налетов на миндалинах, кожных поражений, язв кишечника, спинномозговой жидкости, пунктата гнойных очагов. Наружные покровы в месте забора материала (из вены, артерии, местного очага) должны быть тщательно обработаны (настойкой йода, 96% этиловым спиртом) во избежание попадания в просвет иглы аутофлоры.

Очень важное значение имеет отсутствие в исследуемом материале ингибиторов роста бактерий, прежде всего, антибиотиков, которые резко снижают (не менее чем в 2–3 раза) вероятность высева возбудителя. По этой причине бактериологическое исследование нужно производить немедленно при поступлении больного независимо от времени суток до назначения антибиотиков.

В бактериологической диагностике играет существенную роль рациональный подбор питательных сред для исследования в соответствии с предполагаемым возбудителем и их качество: среда должна быть сертифицирована, приготовлена с соблюдением технологии, храниться при соответствующей температуре в пределах срока годности.

Материал для бактериологического исследования должен доставляться в лабораторию с соблюдением правил транспортировки. Наилучшими способами предупредить гибель предполагаемого возбудителя является посев на основную питательную среду или на транспортную среду у постели больного. В остальных случаях следует максимально сократить сроки доставки материала в лабораторию, предохранить его от загрязнения, охлаждения и высыхания. Для этого взятый для

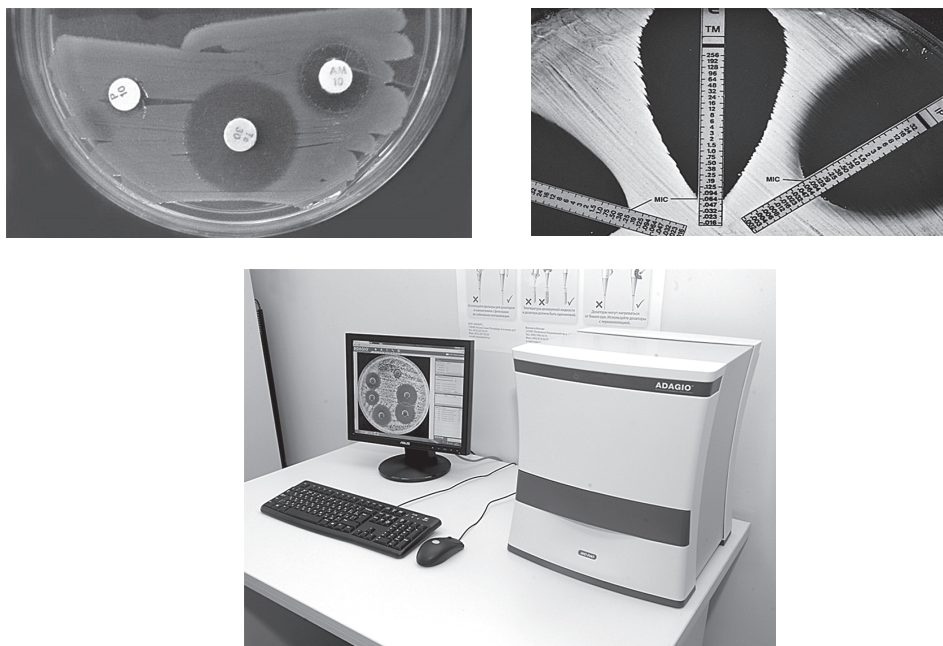


Рис. 6.8. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам

исследования материал хранится в стерильной посуде с герметичной крышкой в термостате при 37 °С, перевозится при той же температуре в термосе или другом транспортном обогревателе.

Очень важной составляющей частью бактериологической диагностики является **определение чувствительности возбудителя к антибиотикам**, способы которого довольно разнообразны (рис. 6.8).

Несмотря на многообразие существующих методов и их оценки для выявления наиболее эффективных антибиотических препаратов для лечения инфекционных заболеваний, существуют определенные проблемы в реализации этой части бактериологического исследования. Главная из них заключается в том, что выделение чистой культуры, предшествующее определению чувствительности к антибиотикам, занимает относительно большой период времени — в среднем около 2–3 дней. В связи с этим такие важные для лечебного процесса сведения поступают к врачу с большим опозданием. По этой причине особый интерес вызывают автоматизированные способы определения чувствительности возбудителя к антибиотикам.

Приборы, используемые для определения чувствительности к антибиотикам, позволяют работать не только с чистой культурой, но и с исходным биологическим материалом. В этом случае определение лекарственной устойчивости возбудителя происходит автоматически без выяснения видовой принадлежности возбудителя и исследование занимает от 2 до 6 ч.

МИКОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Микологический метод, применяемый в диагностике грибковых инфекций и также основанный на использовании искусственных питательных сред (Сабуро, Чапека и др.), имеет множество особенностей, отчасти отраженных в алгоритме получения чистых культур при микозах (рис. 6.9). Этот метод обязательно сочетают с микроскопическим исследованием, при этом особое значение придают диморфизму грибов — их способности по-разному проявлять свои свойства в паразитической и сапрофитической фазе.

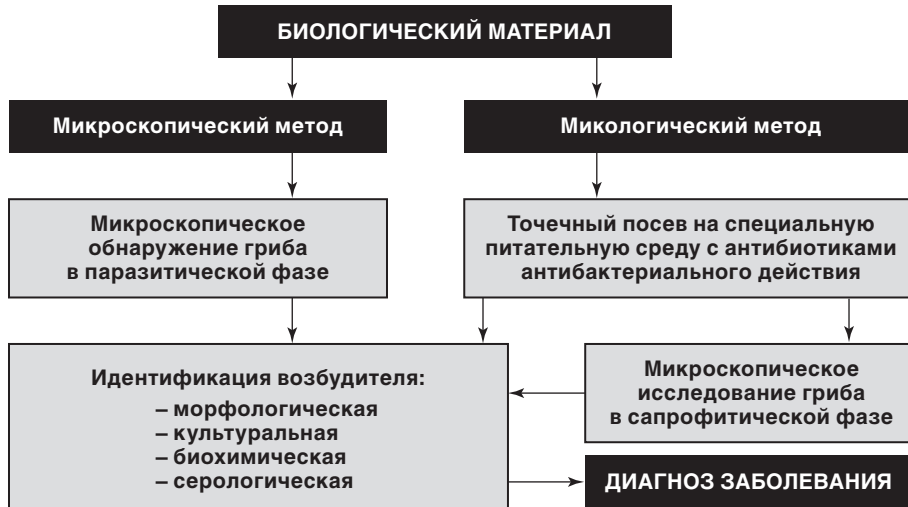


Рис. 6.9. Алгоритм микологического метода

Недостатком микологического метода следует считать довольно значительную продолжительность исследования, поскольку грибы растут на питательных средах значительно медленней бактерий. В связи с этим микологическое исследование растягивается до 6–10 дней.

ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Вирусологический метод отличается тем, что биологический материал, предположительно содержащий вирусы, используется для заражения куриного эмбриона, культуры клеток или культуры органов лабораторных животных, что принципиально изменяет алгоритм проводимого исследования (рис. 6.10).

Если исследуемый материал содержит постороннюю микрофлору, его предварительно обрабатывают антибиотиками. Культивирование куриных эмбрионов после их заражения осуществляется в течение 5–8 дней, культур тканей — в течение 5–6 дней, а общая продолжительность вирусологического исследования составляет до 3 нед, что в большинстве случаев позволяет поставить лишь ретроспективный диагноз.

Такие феномены как цитопатогенное действие вируса на ткани, используемые для культивирования, бляшкообразование (образование очагов разрушения тканей), цветная проба (отсутствие закономерного изменения цвета среды при наличии живого возбудителя), полученные при различных разведениях биологического материала для заражения, позволяют не только обнаружить вирус, но и определить его примерное количество, т.е. провести титрование вируса.

Завершается вирусологический метод идентификацией вируса с помощью таких серологических реакций как реакция нейтрализации (РН) действия вируса на живую ткань, реакция торможения гемагглютинации (РТГА) куриных эритроцитов, реакция связывания комплемента (РСК), реакция иммунофлуоресценции (РИФ), ИФА.

Оценивая диагностическое значение вирусологического метода у постели следует подчеркнуть, что оно невелико из-за длительности диагностического исследования, необходимости содержать специализированную вирусологическую лабораторию строгого режима. В связи с этим вирусологический метод чаще используют для мониторинга циркулирующих штаммов различных вирусов, в частности вирусов гриппа, гепатитов.



Рис. 6.10. Алгоритм вирусологического метода

Биологический метод

Биологический метод (биопроба) заключается в выделении возбудителя из биологического материала или идентификации его токсинов путем заражения лабораторных животных, высоко восприимчивых к данному возбудителю и чувствительных к действию его токсинов. В современных условиях метод биопроб в силу своей дороговизны и опасности применяется преимущественно как первый этап обнаружения и идентификации возбудителей особо опасных инфекций.

Несмотря на то, что среди диагностических возможностей этого метода ранее отмечали выделение и идентификацию чистой культуры, в настоящее время биологический метод с этой целью не используют, а применяют для **накопления или обогашения биологического материала** соответствующим микроорганизмом.

Биологический метод имеет ведущее значение при **идентификации бактериальных экзотоксинов** (ботулинического, столбнячного).

На основе биопробы можно воспроизводить такие серологические реакции как РН токсина или РН вируса, которые позволяют не только идентифицировать возбудителя, но и способствуют обнаружению антител к экзотоксинам или вирусам.

Иммунологические методы

Иммунологические методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний занимают значительное место в клинической практике и могут иметь как самостоятельное, так и вспомогательное значение.

МЕТОДЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ

Задачи, решаемые иммунодиагностическими методами, довольно разнообразны по целям постановки и включают сероиндикацию и сероидентификацию возбудителей, а также серодиагностику и аллергодиагностику инфекционных болезней (рис. 6.11).

Сероиндикация — обнаружение возбудителя в биологическом материале от больного на основе применения специфических антител к его видовым антигенам. Как диагностическое направление, сероиндикация широко используется при экспресс-диагностике различных инфекционных заболеваний, а ее значение в верификации диагноза определяется качеством препарата из специфических антител и способом регистрации результата исследования.

Сероидентификация не является самостоятельным методом диагностики инфекционных заболеваний, а является этапом бактериологического или вирусологического методов, связанным с определением вида организма по его видовым антигенам. Этому исследованию предшествует выделение чистой культуры возбудителя, а сам процесс идентификации включает использование препаратов специфических видов антител.

Серодиагностика — постановка диагноза путем обнаружения антител к возбудителю в сыворотке крови и других биологических жидкостях как специфических биомаркеров инфекционного процесса. Методическая основа такого диагностического исследования не очень однозначна в интерпретации. Она требует учета возможности попадания возбудителя и, соответственно, выработки антител к нему в анамнезе, а также факта высокой вероятности присутствия в организме больного «нормальных» антител, способных давать перекрестные реакции с антигенами искомого патогенного микроорганизма. Несмотря на это современная серодиаг-

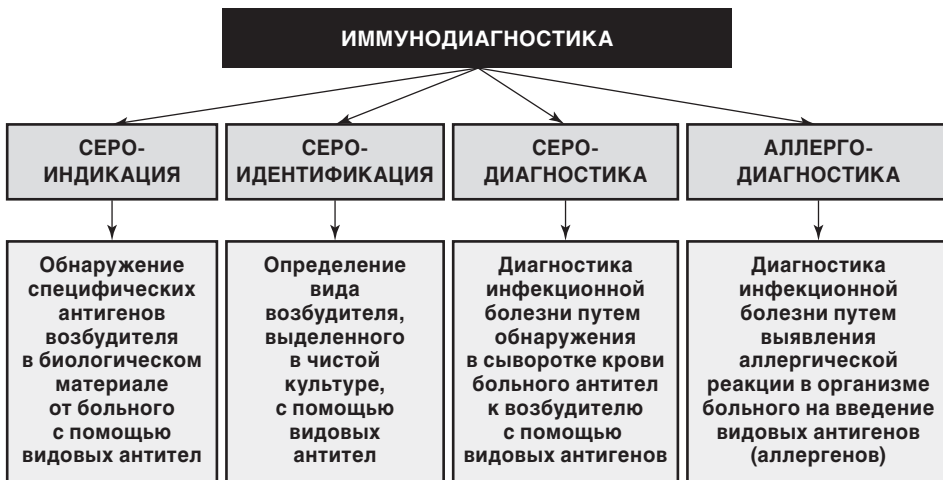


Рис. 6.11. Назначение методов иммунодиагностики

ностика составляет значительную часть исследований по верификации диагноза в клинике инфекционных болезней.

Аллергодиагностика основана на ориентировочном диагностировании инфекционного процесса путем регистрации местной аллергической реакции, развивающейся на коже в месте введения микробного аллергена. Тем не менее при некоторых видах инфекционной патологии этот метод до настоящего времени не потерял своего диагностического значения как скринингового теста.

Итак, направления диагностических исследований с использованием иммунологических методов довольно разнообразны, как и сами способы воспроизведения иммунологических тестов. Условно среди приемов иммунодиагностики можно выделить следующие методы:

- ✧ методы с использованием феномена перекрестного взаимодействия иммунных комплексов [реакции агглютинации (РА), пассивной (непрямой) гемагглютинации, латекс-агглютинации, торможения гемагглютинации, преципитации];
- ✧ методы с использованием феномена комплементарного лизиса (РСК, РА и лизиса);
- ✧ методы, основанные на нейтрализующем действии антител (РН токсина, РН вируса);
- ✧ аллергические методы (внутрикожные пробы с микробными аллергенами);
- ✧ методы иммуноанализов (иммунофлюоресцентный анализ, радиоиммунный анализ, ИФА).

Среди методов с использованием **феномена перекрестного взаимодействия иммунных комплексов** наиболее доступными являются методы, основанные на феномене агглютинации.

Сущность **РА** заключается в том, что в присутствии электролита иммунные комплексы, содержащие корпускулярные частицы антигена и антитела, сшиваются между собой и выпадают в виде зернистого или хлопьевидного осадка, что регистрируется визуально.

Наиболее часто РА используется в диагностике бактериальных инфекций. Если в состав иммунных комплексов при данной реакции входят бактериальные клетки, то это собственно агглютинация. В РА могут участвовать различные поверхностные антигены бактерий: компоненты их клеточной стенки (О-антигены), жгутики бактерий (Н-антигены), элементы капсулы (К-антигены).

При диагностике некоторых инфекций это имеет принципиальное значение. Например, сальмонеллы, классификация которых включает более 2 тыс. видов, в том числе более 700 видов, патогенных для человека, содержат как О-антигены, так и Н-антигены. Их идентификация по антигенной структуре проводится в соответствии с классификацией, разработанной Кауфманом и Уайтом. По этой схеме все сальмонеллы по О-антигенам разделены на группы: А, В, С, D, Е и т.д. Каждая группа включает различное число видов сальмонелл, определить которые можно, исходя из того, что Н-антигены сальмонелл обладают видовой специфичностью. Пользуясь схемой Кауфмана–Уайта, вначале в РА используют О-сыворотки и устанавливают группу, к которой принадлежит культура сальмонелл, выделенная из организма больного, а на следующем этапе с помощью Н-сывороток в РА определяют вид возбудителя, что значительно упрощает процесс идентификации.

Если микробные антигены искусственно адсорбированы на поверхности эритроцитов, то такая реакция носит название **пассивной (или непрямой) гемагглютинации (РПГА или РНГА)**. Если микробные антигены адсорбированы на поверхности латекса — это **латекс-агглютинация**.

РА широко используется не только для сероидентификации бактерий, но и для серодиагностики бактериальных инфекций. При этом РПГА и латекс-агглютинация применяются исключительно для серодиагностики. Для предотвращения ложноположительных результатов реакции из-за наличия в сыворотке больного «нормальных» антител было введено понятие **диагностического титра**.

Необходимость такого диагностического приема связана с тем, что уровень нормальных антител обычно невелик, а уровень специфических антител к возбудителю при наличии инфекционного заболевания значительно выше, в связи с этим существует пограничное разведение сыворотки больного, начиная с которого реакцию, основанную на феномене агглютинации, можно считать положительной. Это пограничное разведение сыворотки больного и получило название диагностического титра. Величина диагностического титра зависит от возбудителя, а также вида серологической реакции. Так, например, для брюшного тифа диагностический титр РА составляет 1:200, а для сыпного тифа 1:100, а для РПГА при брюшном тифе 1:40 и т.д. (табл. 6.9). Основанием для того, чтобы считать ту или иную реакцию положительной, является превышение диагностического титра при постановке реакции не менее, чем в 2–4 раза.

В то же время, если человек уже болен тем инфекционным заболеванием, диагностика которого проводится в настоящий момент, для исключения ложноположительного результата — *исследование проводят с парными сыворотками*, полученными с интервалом от 7 до 14 дней. Диагностически значимым считается нарастание титра антител при исследовании парных сывороток не менее чем в 4 раза, или снижение титра при постановке реакции в поздние сроки болезни.

В некоторых случаях, например при бруцеллезе, антитела сыворотки больного не дают феномена агглютинации — так называемые неполные антитела. Для их выявления реакцию ставят в два этапа. На первом этапе к сыворотке больного добавляют, как обычно, бактериальный диагностикум (взвесь бруцелл), а на втором этапе в тест-систему вносят сыворотку, полученную иммунизацией животных иммуноглобулинами человека. После соответствующей очистки эта сыворотка содержит в своем составе антитела к иммуноглобулинам человека, способные давать в случае формирования иммунного комплекса феномен агглютинации. В результате, если в сыворотке больного содержатся неполные антитела, то они присоединяются к бруцеллам в составе диагностикума, а к ним, в свою очередь, антитела к иммуноглобулинам человека. В конечном итоге эти «тройные» комплексы в растворе электролита (обычно физрастворе) объединяются между собой и выпадают в осадок. Такая реакция по выявлению неполных антител получила название *реакции Кумбса*.

РА в различных вариантах ее постановки может использоваться не только при бактериальных инфекциях, а также при некоторых микозах и заболеваниях, вызванных простейшими (табл. 6.9–6.11).

При заболеваниях вирусной природы постановка РА невозможна из-за мелких размеров вируса. В то же время при вирусных инфекциях используют один из вариантов реакции, связанных с явлением гемагглютинации куриных эритроцитов вирусами. В основе такой серологической реакции лежит способность противовирусных антител блокировать у вируса гемагглютинирующие свойства, а сам диагностический прием носит название *РТГА*. Эту реакцию воспроизводят как для идентификации вируса, полученного при вирусологическом исследовании, так и для серодиагностики вирусных инфекций путем обнаружения антител в сыворотке больного (табл. 6.11).

В число методов с использованием феномена перекрестного взаимодействия иммунных комплексов входит и *реакция преципитации* с тем отличием от описанных выше методов, что антиген в ней имеет молекулярную форму и образует прозрачный раствор. В присутствии антител и электролита иммунные комплексы сшиваются в конгломераты и вызывают помутнение среды. Чтобы зарегистрировать это помутнение существует несколько способов — реакция кольцепреципитации, реакция преципитации в геле, с помощью прибора нефелометра, позволяющего зарегистрировать даже слабую степень помутнения среды.

Реакция кольцепреципитации используется в инфекционно-эпидемиологической практике при необходимости обнаружения микробных антигенов или гаптенов на объектах внешней среды (реакция Асколи для обнаружения спор бациллы сибирской язвы) или в составе биологического материала от больного (реакция кольцепреципитации с гаптеном для обнаружения дизентерийной палочки в кале). Реакция обладает очень большой чувствительностью, позволяет зарегистрировать присутствие даже единичных микроорганизмов в исследуемом материале.

Другой разновидностью преципитации служит **реакция преципитации в геле**. В инфекционной практике она используется при определении токсигенности (способности выделять экзотоксинов) штаммов бактерий, выделенных из организма больного. Такая необходимость возникает, например, при бактериологической диагностике дифтерии, поскольку нетоксичные штаммы не вызывают заболевание и их присутствие в организме больного свидетельствует только о носительстве.

Среди **методов с использованием феномена комплементарного лизиса** наибольшей известностью пользуется **РСК**, учет которой производится по феномену гемолиза и которая широко используется для диагностики инфекций как бактериальной, так и небактериальной этиологии.

Реакция основана на том, что антитела в составе иммунных комплексов приобретают новое свойство — активировать систему комплемента, которая в процессе активации формирует мембрано-атакующий комплекс и вызывает лизис антигена, находящегося в комплексе с антителами.

РСК относится к рутинным методам, хотя и довольно сложна в постановке. Тем не менее ее продолжают широко использовать в клинике инфекционных болезней.

Система комплемента используется при диагностике лептоспироза на основе **РА и лизиса лептоспир**. При постановке этой реакции учет результатов проводят под микроскопом, наблюдая при положительном тесте не только процесс агглютинации живой культуры лептоспир, но и их комплементарный лизис.

В арсенале иммунодиагностики есть также **методы, основанные на нейтрализующем действии антител**, например, **РН** воспроизводится на живых объектах, восприимчивых к действию бактериальных экзотоксинов или вирусов. В соответствии с этим различают РН токсина и РН вирусов. Суть реакции заключается в том, что антитела, взаимодействуя с токсином или вирусом, препятствуют проявлению их патогенного воздействия на живой объект. РН можно использовать для индикации бактериальных токсинов в биологическом материале, идентификации вирусов, для серодиагностики вирусных инфекций.

Очень близкими к реакциям нейтрализации по механизму воспроизведения служат **реакции иммобилизации**, которые используют для идентификации возбудителей, обладающих подвижностью. Этот лабораторный прием применяют в диагностике сифилиса (реакция иммобилизации трепонем), а также холеры (иммобилизация холерного вибриона).

Еще один вариант — нейтрализация антителами сыворотки крови больного гемолитической активности стрептококкового стрептолизина-О (**АСЛО**). Этот тест используется для диагностики инфекций, ассоциированных с гемолитическим стрептококком группы А.

Аллергическая проба. Для ее постановки человеку чаще всего внутрикожно вводится раствор микробных антигенов. Антигены взаимодействуют с эпителиальными клетками в месте введения, что способствует выделению хемокинов и привлечению к месту введения аллергена различных клеток иммунного ответа и прежде всего Т-лимфоцитов. Т-лимфоциты, которые под воздействием микробных антигенов выделяют провоспалительные цитокины. Все это в совокупности в течение 48 ч дает основные проявления положительной аллергической реакции — лимфоидно-макрофагального инфильтрата в месте введения аллергена.

Аллергические пробы, хотя и носят лишь ориентировочный характер, очень удобны при массовых обследованиях на наличие таких инфекционных заболеваний как туберкулез, бруцеллез, токсоплазмоз. В этих случаях положительная аллергическая проба указывает на инфицированность организма и необходимость более точной диагностики инфекционного процесса.

К числу современных методов диагностики инфекционных заболеваний относятся **методы иммуноанализа**. Это особая группа методов, основанная на использовании меченых моноклональных антител. **Моноклональные антитела** получают с использованием так называемых гибридных технологий, они высоко специфичны, поскольку способны к взаимодействию только с одной наиболее характерной антигенной детерминантой среди всего набора видовых микробных антигенов. Моноклональные антитела обычно метятся с помощью красителей-флюорохромов. Такие антитела, присоединяясь к специфичному для них объекту — искомому микроорганизму в составе биологического материала, вызывают его свечение в ультрафиолетовом свете, что может быть зарегистрировано, например, с помощью люминесцентного микроскопа. Этот способ обнаружения микробных возбудителей получил названия **прямого иммунофлуоресцентного анализа (РИФ)**.

Этот способ используется не только для обнаружения возбудителей в составе материала от больного, но и для выявления антител к возбудителю в сыворотке крови (серодиагностика). В последнем случае убитую культуру возбудителя обрабатывают сывороткой больного с последующим добавлением в систему меченных флюорохромом антител к IgG человека. Наблюдаемое в последующем свечение микроорганизма говорит о возникновении сложного иммунного комплекса — микроб + антитела из сыворотки больного класса IgG + люминесцирующие анти-IgG МКАТ. Такую реакцию называют **реакцией непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ)**.

Другой способ иммуноанализа — **радиоиммунный анализ**. Он основан на использовании моноклональных антител, меченных радиоизотопом. Присоединение таких антител к специфичному им объекту, придает последнему радиоактивность, что может быть определено с помощью специальных приборов.

Наконец, еще один высоко перспективный способ мечения моноклональных антител — с помощью фермента. В качестве последнего чаще всего используют растительный фермент — пероксидазу хрена. Обработка изучаемого объекта такими антителами требует последующего нанесения «хромогена» — субстрата для фермента, меняющего цвет при образовании перекиси. В результате объект для специфического присоединения меченых антител приобретает окрашивание, которое может быть зарегистрировано спектрофотометром, а метод получил название **ИФА**.

ИФА, как и описанный выше иммунофлуоресцентный анализ, можно воспроизводить в виде прямого (выявление антигенов возбудителя в биологическом материале) и непрямого (выявление антител в сыворотке больного) методов. В конечном итоге с помощью ИФА можно обнаруживать микроорганизмы в материале от больного, противомикробные антитела и антитела к другим веществам антигенной природы.

С введением в клиническую практику методов иммуноанализа и, в первую очередь, аппаратного ИФА, диагностические возможности врача-инфекциониста значительно возросли. Особенно это касается серодиагностики, поскольку появилась возможность устанавливать не только наличие антител к тому или иному возбудителю в сыворотке крови больного, но и определять принадлежность антител к тому или иному классу иммуноглобулинов, что повышает качество диагностики инфекционного заболевания. Дело в том, что антитела, принадлежащие разным классам иммуноглобулинов, выполняют различные функции (рис. 6.12).

Так, например, известно, что первый контакт человека с тем или иным возбудителем приводит к выработке **IgM-антител**, которая продолжается в течение примерно одного месяца. Эти антитела имеют большую молекулярную массу и не

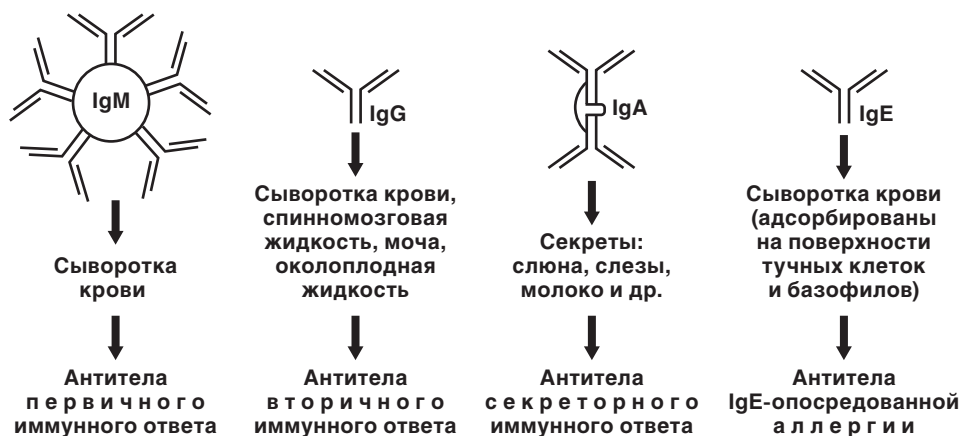


Рис. 6.12. Диагностически значимые классы антител и их функции

проникают через гистогематитарные барьеры, поэтому обнаруживают их преимущественно в сыворотке крови. Обнаружение IgM-антител свидетельствует о развитии **первичного иммунного ответа**.

Уже со второй недели от начала контакта с патогеном в крови начинают накапливаться **IgG-антитела**. Вначале они сопутствуют IgM-антителам, а примерно через один месяц IgM-антитела начинают исчезать из кровотока и на смену им приходят IgG-антитела. При повторном поступлении антигена в организм вырабатываются уже только IgG-антитела, в связи с чем их называют **антителами вторичного иммунного ответа**.

Вначале способность к прочному взаимодействию с антигеном у IgG-антител не очень велика (**IgG-антитела низкой авидности**), но по мере развития инфекционного процесса (точнее, на третьем месяце от его начала) сила связывания этих антител с антигеном значительно возрастает вследствие селекции высоко специфичных клонов продуцирующих их В-лимфоцитов, т.е. появляются **высоко авидные IgG-антитела** (рис. 6.13).

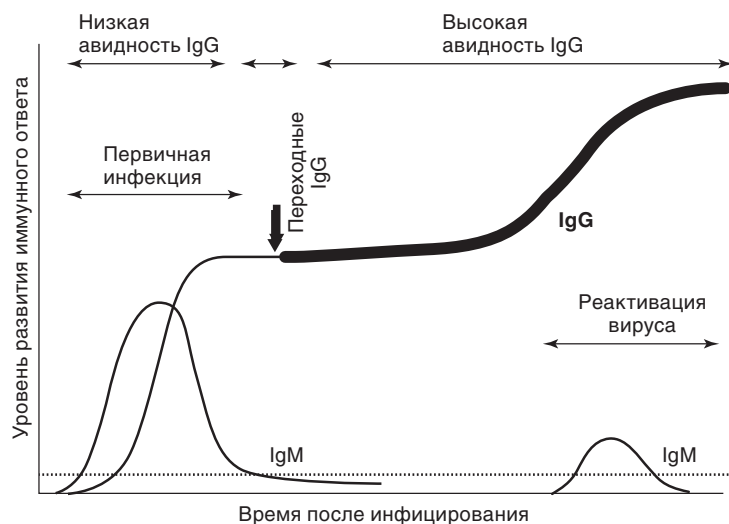


Рис. 6.13. Динамика выработки IgM- и IgG-антител

В соответствии с описанными закономерностями в тех случаях, когда очень важно установить давность инфицирования определяют не только содержание в крови IgM- и IgG-антител, но и avidность IgG-антител.

Такое исследование проводится, например, у беременных женщин при выявлении у них инфицирования токсоплазмами. Токсоплазмоз беременных даже при его латентном течении создает угрозу инфицирования плода и развития врожденного токсоплазмоза, но только в том случае, если инфицирование женщины произошло в ходе беременности. Поэтому при обследовании беременной женщины на токсоплазмоз у нее обязательно устанавливаются не только уровни IgM- и IgG-антител, но и avidность IgG-антител. В этом случае наличие IgM-антител или низко avidных IgG-антител к токсоплазмам, особенно во II и III триместрах, свидетельствует в пользу заражения женщины уже в ходе беременности и требует проведения лечебных мероприятий.

Определение уровня **IgA-антител** имеет значение при исследовании секретов слизистых оболочек, в тех случаях, когда последние служат входными воротами инфекции. IgA-антитела начинают вырабатываться одновременно с IgG и около 80% из них поступают в секреты слизистых оболочек. После исчезновения инфекционного агента из организма IgA-антитела еще в течение 2–4 мес продолжают секретироваться, а затем исчезают. Если же микроб продолжает персистировать в организме, IgA-антитела продолжают регистрироваться в секретах. В связи с этой особенностью обнаружение IgA-антител в отсутствие клинических проявлений заболевания или через полгода после их исчезновения считают признаком хронического инфицирования.

Рост в сыворотке крови **IgE-антител** к тому или иному антигену, как правило, является свидетельством развития IgE-опосредованной аллергии к нему. В инфекционной практике подобное состояние особенно часто сопутствует инфекционно-аллергическим осложнениям (кардит, полиартрит), а также грибковым инфекциям и гельминтозам и сопровождается развитием клинических признаков аллергического процесса.

Таблица 6.9. Иммунологический метод в диагностике бактериальных инфекций

Бактериозы и возбудители	Серологическая реакция, назначение	Особенности постановки	Положительный результат и способ его оценки
Брюшной тиф <i>Salmonella typhi</i>	Сероидентификация РА Серодиагностика РА Видаля Реакция пассивной Vi-гемагглютинации (РПГА)	Определение вида возбудителя В конце первой недели болезни с О- и Н-видами диагностикумами У реконвалесцентов и лиц с подозрением на носительство	Положительная реакция, соответствующая титру видовой сыворотки Диагностический титр 1:200 с О-антигеном при возможности дифференцировать текущую инфекцию с «прививочной» или анамнестической реакцией: О-антитела обнаруживаются в разгар болезни, а затем исчезают, Н-антитела появляются позднее и остаются на длительный срок Диагностический титр 1:40. Vi-антитела обнаруживаются у реконвалесцентов и носителей брюшного тифа
Паратиф А <i>Salmonella paratyphi A</i>	Сероидентификация РА Серодиагностика РА Видаля РПГА	Определение вида возбудителя В конце первой недели болезни с ОН-видами диагностикумами На 5–6-й день болезни с видовыми эритроцитарными диагностикумами	Положительная реакция, соответствующая титру видовой сыворотки Диагностический титр 1:200 при невысокой чувствительности и специфичности Диагностический титр 1:32 при относительно высоких чувствительности и специфичности
Паратиф В <i>Salmonella schottmuelleri</i>			
Паратиф С <i>Salmonella hirschfeldii</i>			

Бактериозы и возбудители	Серологическая реакция, назначение	Особенности постановки	Положительный результат и способ его оценки
Сальмонеллез <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. panama</i> , <i>S. infantis</i> , <i>S. newpart</i> , <i>S. agona</i> , <i>S. derby</i> , <i>S. london</i> и др.	Сероидентификация РА с О-групповыми и Н-видами сыворотками Серодиагностика РПГА	Определение групповой и видовой принадлежности сальмонелл, выделенных в чистой культуре С использованием комплексного и групповых диагностикумов	На первом этапе с помощью сывороток к О-антигенам определяется групповая принадлежность сальмонелл, а затем внутри группы с помощью Н-сывороток — вид Диагностический титр 1:32. При получении положительной реакции с комплексным эритроцитарным диагностикумом ставят реакции с отдельными групповыми О-диагностикумами
Шигеллез <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Sh. flexneri</i> , <i>Sh. boydii</i> , <i>Sh. sonnei</i>	Сероиндикация РИФ Сероидентификация РА Серодиагностика РПГА РСК	Обнаружение видов шигелл Определение вида шигелл Обнаружение видоспецифических антител	Экспресс-диагностика шигеллеза Положительная реакция, соответствующая титру видовой сыворотки Диагностический титр 1:160, вспомогательный метод диагностики
Эшерихиоз <i>Escherichia coli</i> ♦ энтеротоксигенные (O6, 8, 15, 20, 25, 27, 63, 78, 80, 85, 115, 128, 139, 148, 153, 159, 168), ♦ энтеропатогенные (O18, 44, 55, 111, 112, 114, 119, 125–128, 142), ♦ энтероинвазивные (O28, 29, 124, 136, 143, 144, 152, 164, 167), ♦ энтерогеморрагические (O157, 126, 111)	Сероидентификация Реакция агглютинации Серодиагностика РА, РПГА, ИФА	Реакция на стекле с комплексной эшерихиозной ОК-сывороткой, развернутая реакция живой культуры с групповой ОК-сывороткой, развернутая реакция гретой культуры (без К-антигена) с типовыми О-сыворотками В парных сыворотках Определение IgM и IgG антител к эшерихиям	Определение видовой принадлежности возбудителя Определение групповой принадлежности кишечной палочки Определение в рамках групповой принадлежности патогенного серовара кишечной палочки по О-антигену Наращение титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза Наличие IgM антител свидетельствует об острой инфекции, наличие IgG антител — о бактерионосительстве
Листерииоз <i>Listeria monocytogenes</i>	Серодиагностика РА, РПГА, РСК	Антитела вырабатываются на невысоком уровне	Вспомогательный метод. Диагностический титр РА 1:250
Иерсиниоз <i>Yersinia enterocolitica</i>	Серодиагностика РПГА ИФА	В парных сыворотках (первый забор 1–3 сут)	Наращение титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза
Псевдотуберкулез <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Серодиагностика РПГА ИФА	В парных сыворотках (первый забор 1–3 сут)	Наращение титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза
Чума <i>Yersinia pestis</i>	Сероиндикация Реакция латекс-агглютинации Серодиагностика РПГА	Обнаружение возбудителя в материале от больного Обнаружение антител к капсульному антигену	Экспресс-диагностика чумы Ретроспективный диагноз чумы

Бактериозы и возбудители	Серологическая реакция, назначение	Особенности постановки	Положительный результат и способ его оценки
Холера <i>Vibrio cholerae</i> серогрупп О1 и О139 Биовары серогруппы О1 <i>Vibrio cholerae cholerae</i> , <i>Vibrio cholerae El-tor</i> Серовары серогруппы О1: Огава, Инаба, Гикошима	Сероиндикация РИФ, реакция имму- биллизации холерных вибрионов видовыми сыворотками Сероидентификация Реакция агглютинации Серодиагностика РПГА, РНИФ	Обнаружение холерных вибрионов в материале от больного Реакция на стекле с холерными сыворотками О-1, О-139 и RO; реакция на стекле с сыворотками Огава и Инаба; развернутая реакция с холерными сыворотками О-1, О-139 и RO В парных сыворотках (забор первой сыворот- ки — на 3-й день болезни)	Экспресс-диагностика холеры Определение принадлежности вибрионов к группе возбудителей холеры. Определение серовара <i>V. cholerae</i> О1 Определение вида и биоваров возбудителей при положительной реакции не менее чем в 1/2 титра сыворотки Вспомогательный метод. Наращение титра антител через 6–8 сут не менее чем в 4 раза
Бруцеллез <i>Brucella melitensis</i> , <i>B. abortus</i> и др.	Сероидентификация РА Серодиагностика РА Райта РА Хеддльсона, РПГА, РСК, РИФ Реакция Кумбса Аллергодиагностика Проба Бюрне	Определение принадлеж- ности к роду бруцелл Через неделю от начала заболевания Через неделю от начала заболевания По окончании острого периода По окончании острого периода	Положительная реакция, соответ- ствующая титру диагностической сыворотки Диагностический титр 1:200 в тече- ние нескольких лет Положительная реакция в течение заболевания Индикация неполных антител у реконвалесцентов и при ретро- спективном диагнозе Положительная проба у реконвалесцентов, вакцинирован- ных и при ретроспективном диагнозе
Туляремия <i>Francisella tularensis</i>	Серодиагностика РА, РПГА Кровяно-капельная проба Аллергодиагностика Проба с тулярином	На второй неделе забо- левания Начиная с 3–5 дня забо- левания с 3–5 дня заболевания	Диагностический титр РА 1:100 Экспресс-диагностика туляремии Диагноз текущей инфекции и ретро- спективный диагноз
Сибирская язва <i>Bacillus anthracis</i>	Сероиндикация Реакция преципита- ции по Асколи, РИФ Серодиагностика РПГА, ИФА Аллергодиаг- ностика Внутрикожная проба с антраксином	Обнаружение воз- будителя на объектах внешней среды, в материале от больного На второй неделе забо- левания Начиная с 3–5 дня забо- левания	Кольцо преципитата при наличии спор возбудителя Экспресс-диагностика сибирской язвы Ретроспективный диагноз сибирской язвы Диагноз текущей инфекции и ретроспективный диагноз
Стафилокок- ковая инфекция <i>Staphylococcus aureus</i>	Серодиагностика РПГА ИФА	В парных сыворотках с использованием аутоан- тигенов	Наращение титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза

Бактериозы и возбудители	Серологическая реакция, назначение	Особенности постановки	Положительный результат и способ его оценки
Стрептококковая инфекция <i>Streptococcus spp.</i> A, B, C, D, F, G	Сериоиндикация Реакция преципитации Серодиагностика РСК РН антителами сыворотки крови больного гемолитической активности стрептококкового стрептолизина-О (АСЛО)	Обнаружение антигенов стрептококка в моче больного с помощью групповых стрептококковых сывороток Исследование парных сывороток Однократно (7–14 дни болезни) В парных сыворотках	Образование преципитата свидетельствует о наличии стрептококка в биологическом материале и его принадлежности к соответствующей группе стрептококков (A, B, C, D, F, G) Нарастание титра антител через 10–14 суток не менее чем в 4 раза Выше 250 АЕСтО — острая стрептококковая инфекция Отсутствие снижения в течение 6 мес от начала заболевания — возможность рецидива или осложнений
Пневмококковая инфекция <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Серодиагностика РПГА ИФА	В парных сыворотках (первый забор крови — при поступлении в стационар)	Нарастание титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза
Гемофильная инфекция <i>Haemophilus influenzae</i>			
Легионеллез <i>Legionella pneumophila</i>			
Дифтерия <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Серодиагностика РПГА ИФА	В парных сыворотках (первый забор 1–3 сутки)	Нарастание титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза
Менингококковая инфекция <i>Neisseria meningitidis</i>	Серодиагностика РПГА ИФА	В парных сыворотках (первый забор 1–3 сутки)	Нарастание титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза
Лепра <i>Mycobacterium leprae</i>	Аллергодиагностика Лепроминовая проба	Учет результатов через 2–4 нед	Диагноз текущей инфекции
Столбняк <i>Clostridium tetani</i>	Сериоиндикация РН токсина Сероидентификация Реакция нейтрализации токсина	Обнаружение токсина в материале от больного Определение вида возбудителя, выделенного в чистой культуре по его токсину	Экспресс-диагностика столбняка Положительная реакция в случае соответствия токсина видовой анти-токсической сыворотке
Ботулизм <i>Clostridium botulinum</i> A, B, E, F	Сериоиндикация РН токсина, РПГА, ИФА Сероидентификация РН токсина, РПГА, ИФА	Обнаружение токсина в материале от больного Определение серовара возбудителя, выделенного в чистой культуре по его токсину	Экспресс-диагностика ботулизма Положительная реакция в случае соответствия токсина типовой анти-токсической сыворотке
Возвратный тиф: эпидемический <i>Borrelia recurrentis</i> эндемический <i>B. duttoni</i> , <i>B. persica</i>	Серодиагностика РСК, реакция нагрузки спирохет тромбоцитами	Определение антител в сыворотке крови больного	Вспомогательный метод Диагностика текущего заболевания

Бактериозы и возбудители	Серологическая реакция, назначение	Особенности постановки	Положительный результат и способ его оценки
Иксодовые клещевые боррелиозы <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. garinii</i>	Серодиагностика РНИФ, ИФА	Определение антител в сыворотке крови и синовиальной жидкости больного	Диагностика текущего заболевания
Лептоспирозы <i>Leptospira interrogans</i>	Серодиагностика РПГА, реакция агглютинации и лизиса	В парных сыворотках (в разгар заболевания и в период реконвалесценции)	Нарастание титра антител не менее чем в 4 раза
Эрлихиозы <i>Ehrlichia chaffeensis</i> , <i>E. canis</i>	Серодиагностика РНИФ	В парных сыворотках с определением IgM и IgG антител	Диагностика заболевания на 2-й неделе с подтверждением на 4–6-й неделе
Эпидемический сыпной тиф <i>Rickettsia prowazekii</i>	Серодиагностика РА, РСК, РТГА, РНИФ, ИФА	Определение видовых антител в сыворотке крови больного	Диагностика заболевания с идентификацией возбудителя
Эндемический крысиный сыпной тиф <i>R. typhi</i>			
Марсельская лихорадка <i>R. conorii</i>			
Астраханская риккетсиозная лихорадка <i>R. conorii</i>			
Ку-лихорадка <i>R. burnetii</i>			
Орнитоз <i>Chlamydia psittaci</i>	Сероиндикация РИФ ИФА	Обнаружение хламидий в материале от больного Неоднократное определение IgM, IgG и IgA антител Использование антигенов хламидий различных серотипов	Экспресс-диагностика хламидиоза IgM-антитела свидетельствуют о начальном этапе и активности хламидиоза. Через 2–3 нед появляются IgG-антитела в высоком титре (1:4000). IgA антител свидетельствуют о тяжелом течении заболевания и выраженном аутоиммунном процессе (синдром Рейтера). Отсутствие антител не означает отсутствия хламидиоза (50%) Обнаружение антител к хламидиям различных серотипов
Урогенитальный хламидиоз, трахома, венерический лимфогранулематоз и др. <i>Chlamydia trachomatis</i>	Серодиагностика ИФА РНИФ		
Пневмония, бронхиты и др. <i>Chlamydia pneumoniae</i>			
Микоплазмоз <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma hominis</i>	Сероиндикация РИФ Серодиагностика ИФА, РСК РПГА	Обнаружение микоплазм в лаважной жидкости, соскобах со слизистых оболочек В парных сыворотках (первый забор 1–6 сут)	Экспресс-диагностика микоплазменной инфекции Нарастание титра антител через 10–14 сут не менее чем в 4 раза
Уреаплазмоз <i>Ureaplasma urealyticum</i>			

78 МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Таблица 6.10. Иммунологический метод в диагностике протозоозных и паразитарных инфекций

Протозооз и возбудитель	Серологическая реакция и ее назначение	Особенности постановки	Положительный результат и способ его оценки
Амебиаз <i>Entamoeba histolytica</i>	Серодиагностика РПГА, ИФА	В парных сыворотках	Нарастание титра антител через 10–14 сут не менее чем в 4 раза при внекишечном амебиазе и наличии тканевых форм
Токсоплазмоз <i>Toxoplasma gondii</i>	Серодиагностика РНИФ ИФА	В парных сыворотках с определением IgM и IgG антител, а также avidности IgG антител	Нарастание титра антител через 10–14 сут не менее чем в 4 раза говорит о наличии токсоплазмоза, но не носительства. Определение IgM антител применяется для диагностики острого токсоплазмоза. Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и сохраняются до 10 лет. Низкая avidность IgG антител говорит, что от момента заражения прошло не более 16 нед, высокая avidность — большой срок
Криптоспоридиоз <i>Cryptosporidium parvum</i>	Сериоиндикация РИФ ИФА	Обнаружение ооцист возбудителя в кале	Экспресс-диагностика криптоспоридиоза
Малярия <i>Plasmodium vivax</i> , <i>P. malariae</i> , <i>P. ovale</i> , <i>P. falciparum</i>	Сериоиндикация РИФ Серодиагностика РНИФ РПГА ИФА	Обнаружение малярийных плазмодиев Через неделю от начала заболевания	Экспресс-диагностика малярия Диагностический титр 1:80, в случае <i>P. falciparum</i> свидетельствует о свежей инвазии
Лямблиоз <i>Lambliа intestinalis</i> (<i>Giardia lamblia</i>)	Серодиагностика ИФА	Обнаружение IgM антител	Наличие IgM антител свидетельствует о лямблиозе, но не о носительстве
Токсокароз <i>Toxocara canis</i>	Серодиагностика РПГА, ИФА	Обнаружение антител к возбудителю	Основной метод диагностики при невозможности обнаружить возбудителя
Шистосомоз <i>Schistosoma haematobium</i> , <i>S. mansoni</i>			
Трихинеллез <i>Trichinella spiralis</i>			

Таблица 6.11. Иммунологические методы в диагностике вирусных инфекций

Вирусная инфекция	Серологические маркеры	Характерика маркеров	Диагностическое значение
ВГВ	HBsAg	Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBV)	Инфицированность HBV
	HBeAg	Антиген инфекционности HBV	Репликация HBV в гепатоцитах, высокая инфекционность крови
	HBcAg	Сердцевинный антиген HBV	Репликация HBV в гепатоцитах, в крови в свободном виде не выявляется
	анти-HBc (total) (HBcAb)	Суммарные антитела к HBcAg	Ретроспективная диагностика ГВ, особенно, в отсутствие HBsAg и при неverified гепатитах
	D анти-HBc (HBcAb IgM)	Антитела класса М к сердцевинному антигену	Ранний сывороточный маркер ГВ, указывает на острую инфекцию, при ХГВ маркирует репликацию HBV и активность процесса в печени

Вирусная инфекция	Серологические маркеры	Характерика маркеров	Диагностическое значение
	Анти-HBe (HBeAb)	Антитела к антигену инфекционности	Начало стадии реконвалесценции (исключение — мутантная форма HBV)
	Анти-HBs (HBsAb)	Протективные антитела к поверхностному антигену HBV	Перенесенная инфекция или наличие поствакцинальных антител; обнаружение антител в первые недели ГВ прогнозирует развитие фульминантного гепатита
Вирусный гепатит D (BFD)	IgM анти-HDV	Антитела класса М к HDV	Репликация вируса гепатита D (HDV) в организме
	IgG анти-HDV	Антитела класса G к HDV	Возможная инфицированность HDV или перенесенная инфекция
	HDAg	Антиген HDV	Маркер наличия HDV в организме
Вирусный гепатит C (BFC)	Анти-HCV IgG	Антитела класса G к вирусу гепатита C (HCV)	Возможная инфицированность HCV или перенесенная инфекция
	Анти-HCV core IgM	Антитела класса М к сердцевинным белкам HCV	Текущая инфекция (острая или хроническая в фазе реактивации)
	Анти-HCV core IgG	Антитела класса G к сердцевинным белкам HCV	Инфицированность HCV или перенесенная инфекция
	Анти-HCV NS	Антитела к неструктурным белкам HCV	Хроническая стадия гепатита C (ГС)
ВГА	IgM анти-HAV	Антитела класса М к HAV	Острая инфекция
	IgG анти-HAV	Антитела класса G к HAV	Перенесенная инфекция, сохраняются пожизненно
ВГЕ	IgM анти-HEV	Антитела класса М к HEV	Острая инфекция
	IgG анти-HEV	Антитела класса G к HEV	Перенесенная инфекция
ВИЧ-инфекция	p24	Сердцевинный белок ВИЧ	2–8 нед после заражения, маркер развития СПИД
	IgM anti-p24	Антитела класса М к белку p24 ВИЧ	Первые месяцы после заражения ВИЧ
	IgG anti-p24	Антитела класса G к белку p24 ВИЧ	Текущая ВИЧ-инфекция
	IgG anti-gp41 IgG anti-gp120 IgG anti-gp160	Антитела класса G к поверхностным антигенам ВИЧ	Текущая ВИЧ-инфекция через 3–6 мес после заражения
Грипп	Выявление антител в РСК, РТГА с использованием парных сывороток		Ретроспективный диагноз, нарастание титра антител не менее чем в 4 раза
	Выявление антител в реакции радиального гемолиза		Экспресс-диагностика гриппа
Краснуха	IgM-, IgG-	Отсутствие антител (ИФА)	Отсутствие заболевания в настоящее время и в анамнезе
	IgM-, IgG+	Наличие антител вторичного ответа	Перенесенное заболевание в анамнезе
	IgM+, IgG-	Наличие антител первичного ответа	Заболевание в ранней стадии, период обострения
	IgM+, IgG+	Наличие антител первичного и вторичного ответа	Период обострения

Вирусная инфекция	Серологические маркеры	Характерика маркеров	Диагностическое значение
Корь	Определение IgM и IgG антител методом ИФА		Наличие IgM антител при отсутствии IgG характерно для острого периода (периода высыпаний)
	Определение антител в парных сыворотках методами РТГА, РСК		Ретроспективный диагноз, нарастание титра антител не менее чем в 4 раза
Эпидеми- ческий паротит	Определение IgM и IgG антител методом ИФА		Наличие IgM антител при отсутствии IgG характерно для острого периода
Полиомиелит	Выявление антител в сыворотке крови в реакции преципитации, РСК		Выявление антител со 2–3-й недели заболевания
Энтеровирус- ная инфекция	ЭВ-специ- фические IgM	Наличие антител первичного ответа	Выявляются в сроки от первой недели заболевания до 6 мес от начала инфекции
Вирусные диареи (рото- вирусная и норовирусная инфекция)	Определение антигенов вирусов в кале с помощью ИФА		Экспресс-диагностика вирусных диарей (основной метод)
	Определение видовых антител к вирусам в сыворотке крови с помощью ИФА, РСК		Вспомогательный метод
ОРВИ	Выявление видовых антител в РСК, ИФА с использованием парных сывороток		Нарастание титра антител не менее чем в 4 раза
Герпетическая инфекция	Выявление антител к вирусу герпеса простого типа 1 и 2 в парных сыворотках крови методом ИФА		Обострение инфекции при нарастании титра антител не менее чем в 4 раза
Ветряная оспа	Определение уровня IgM антител к <i>Herpes zoster</i> методом ИФА		Острый пекриод инфекции при наличии IgM
Цитомегало- вирусная инфекция (ЦМВИ)	Определение уровня IgM антител к цитомегаловирусу (ЦМВ) методом ИФА с использованием парных сывороток		Нарастание титра IgM антител при обострении инфекции не ранее 4-й недели заболевания
Инфекционный мононукле- оз (вирус Эпштейна– Барр)	Реакция Гоффа–Бауерра — неспецифическая серологическая реакция гетероагглютинации эритроцитов лошади со 2-й недели заболевания		Ориентировочная диагностика инфекционного мононуклеоза при диагностическом титре 1:32
	Определение уровня IgM и IgG антител к вирусу Эпштейна–Барр методом ИФА		Острый пекриод инфекции при наличии IgM
Натуральная оспа	Выявление антител в РТГА, РСК, РН на куриных эмбрионах и в культурах клеток		Ретроспективный диагноз
Геморраги- ческая лихорадка	Выявление видовых антител в РСК, РН, РИА (радиоиммунный анализ) с парными сыворотками		Нарастание титра антител не менее чем в 4 раза
Клещевой энцефалит	Определение специфических антител классов IgM и IgG в сыворотке крови методами ИФА или РНИФ, а также avidности IgG		Наличие антител класса IgM и низкоа- видных IgG является показателем острой инфекции. При отсутствии симптоматики со стороны ЦНС основанием для поста- новки диагноза является одновременное обнаружение IgM- и IgG-антител либо 4-кратное увеличение концентрации IgG- антител в образце, взятом через 2–3 нед

Молекулярно-биологические методы

К молекулярно-биологическим методам диагностики инфекционных заболеваний относятся генетический анализ, протеомный анализ, липидный анализ, комбинированные методы.

К **методам генетического анализа** относятся ПЦР, рестрикционный анализ, молекулярная гибридизация, риботипирование, опосредованная транскрипцией амплификация рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (РНК), высокопроизводительное секвенирование.

Наиболее широко в инфекционной практике применяется **ПЦР**. Основным принципом этого метода представлен на рис. 6.14.

Суть ПЦР заключается в обнаружении в биологическом материале участков дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), специфичных для представителей того или иного вида микроорганизмов. ПЦР обладает очень высокой чувствительностью и позволяет обнаружить даже минимальные количества генетического материала, поскольку в содержание метода входит его селективная репликация до такого объема, когда он может быть зарегистрирован специальными приемами. Эта реакция не только чувствительна, но и высоко специфична. Первоначально использовался качественный вариант. В последующем был разработан количественный метод ПЦР (ПЦР в режиме реального времени), которая позволяет в условных единицах (число копий искомого гена в 1 мл исследуемого материала или МЕ) определять количество микроорганизма (микробную нагрузку). Этот количественный тест оказался очень полезным во врачебной практике при мониторинге больных хроническими вирусными инфекциями — хроническими вирусными гепатитами, ВИЧ-инфекцией и др. ПЦР в настоящее время является основным методом индикации возбудителей в организме инфекционного больного независимо от природы этих возбудителей — простейших, грибов, бактерий и бактериеподобных микроорганизмов, вирусов. Для исследования используются в зависимости от преимущественной локализации возбудителя кровь, СМЖ, моча, кал, экссудаты и т.д.



Рис. 6.14. Принцип и этапы полимеразной цепной реакции

Как правило используются наборы праймеров, соответствующие характеру инфекционного процесса. Например, для диагностики, вируса используют праймеры грамм+кокков и грамм-палочек.

Определять наличие какого-либо микроорганизма в биологическом материале можно путем **рестрикционного анализа**. Данный метод основан на применении ферментов, носящих название рестриктаз и позволяющих распознавать микроорганизмы определенного вида.

Принцип метода заключается в том, что в геноме микробов одного вида находится строго определенное (генетически детерминированное) число участков узнавания для определенной рестриктазы. В настоящее время из различных бактерий выделено и очищено более 175 различных рестриктаз, для которых известны сайты узнавания. Если выделенную из конкретного микроба ДНК обработать определенной рестриктазой, то это приведет к образованию строго определенного количества фрагментов ДНК фиксированного размера.

Размер каждого типа фрагментов можно узнать с помощью электрофореза в агарозном геле: мелкие фрагменты перемещаются в геле быстрее, чем более крупные фрагменты, и длина их пробега больше. Гель окрашивают бромистым этидием и фотографируют в ультрафиолетовом излучении. Сопоставляя полученную карту рестрикции ДНК с образцами видовых рестрикционных карт, можно выявить принадлежность анализируемого возбудителя к определенному виду или роду — даже такому, который находится за рамками предположений клинициста.

Еще один способ генетического анализа — **молекулярная гибридизация**, методически основанная на способности двухцепочечной ДНК при повышенной температуре (90 °С) в щелочной среде денатурировать, т.е. расплетаться на две нити, а при понижении температуры на 10 °С вновь восстанавливать исходную двухцепочечную структуру. Для проведения молекулярной гибридизации исследуемую ДНК расплетают указанным выше способом, одну нить фиксируют на специальном фильтре, который затем помещают в раствор, содержащий радиоактивный зонд.

Зондом называется одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты определенного вида микроорганизма, меченная радиоактивными нуклидами, с которой сравнивают исследуемую ДНК. Когда создаются условия для восстановления двухцепочечной структуры ДНК, зонд в случае наличия комплементарности между ним и исследуемой ДНК способствует образованию двойной спирали. Это позволяет выявить степень соответствия ДНК определяемого микроорганизма структуре зонда, что позволяет точно идентифицировать возбудителя инфекционного заболевания.

Принцип **риботипирования** основан на том, что последовательность нуклеотидных оснований в оперонах, кодирующих рибосомальную РНК (рРНК), отличается консервативностью, присущей каждому виду бактерий. Эти опероны представлены в бактериальной хромосоме в нескольких копиях. Количество и локализация копий оперонов рРНК варьируют в ДНК различных видов бактерий. Это свойство позволяет производить исследование выделенных штаммов на число копий оперонов и определять их вид. В настоящее время риботипирование проводится в автоматическом режиме в специальных приборах.

Опосредованная транскрипцией амплификация рРНК используется для диагностики смешанных инфекций. На первом этапе проводится амплификация (накопление) рРНК на матрице, выделенной из исследуемого материала ДНК при помощи ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Далее проводится гибридизация накопленного пула рРНК с видоспецифическим олигонуклеотидами, мечеными флюорохромом или ферментами. Исследование проводится в нескольких пробах соответственно тем видам микробов, наличие которых предполагается в составе биологического материала от больного. На заклю-

чительном этапе определяются продукты гибридизации методами иммунофлуоресценции или ИФА. Реакция осуществляется в автоматическом режиме в установках, которые позволяют проводить одномоментное определение рРНК различных видов бактерий.

Высокопроизводительное секвенирование ампликонов используется для исследования видового состава прокариот в материале от больного путем исследования высококонсервативных участков генома, в частности гена 16S рРНК. В составе этого гена есть консервативные и вариабельные участки. В процессе исследования с помощью консервативных участков распознают ДНК бактерий, а вариабельные участки накапливают и идентифицируют в них последовательности, характерные для определенного вида бактерий. Метод позволяет устанавливать всю совокупность бактерий, присутствующих в исследуемом материале.

Все описанные способы генетического анализа обладают очень важным преимуществом перед остальными методами — они позволяют выявлять даже те виды микроорганизмов, которые невозможно культивировать ни одним из описанных выше способов.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ

Методы молекулярного, в том числе протеомного, анализа начали активно развиваться еще в начале 90-х гг. прошлого столетия.

Исследование совокупного белкового состава (протеома) биологических жидкостей осуществляют, в частности, используя соотношение массы отдельных белков к их заряду. В настоящее время все чаще для этих целей применяют времяпролетную матрично-активированную лазерную десорбцию/ионизацию — **МАЛДИ-масс-спектрометрию**. При туберкулезе, менингитах различной этиологии, микозах, ЦМВИ, инвазивной стрептококковой инфекции протеомные исследования рекомендуются для идентификации организмов по совокупности присущих им белков.

Принцип масс-спектрометрии и его использование в инфекционной практике значительно отличаются от любых других диагностических приемов (рис. 6.15).

Дело в том, что диагноз в данном случае ставится не только по обнаружению каких-то определенных белков микроорганизма или в организме больного человека, а по совокупности и соотношению белковых профилей биологического материала в целом. В результате прибором выдается протеомный профиль, например, СМЖ. Зная таковой у здорового человека (рис. 6.15, А), можно путем его сравнения с помощью специальных компьютерных программ с протеомным профилем больного (рис. 6.15, В) поставить диагноз менингита. Помимо общей протеинограммы методом масс-спектрометрии можно определять и конкретные белки в составе протеинограммы.

ЛИПИДНЫЙ АНАЛИЗ

Липидный анализ имеет более ограниченное применение в инфекционной практике. Так, например, при диагностике инфекционных заболеваний, вызванных анаэробными бактериями, значительную помощь в определении видовой принадлежности возбудителей может оказать метод газо-жидкостной хроматографии (рис. 6.16).

Суть этого метода, используемого с указанной целью, заключается в том, что каждому виду анаэробных бактерий присущ свой уникальный набор образуемых ими жирных кислот. При этом каждая жирная кислота обладает специфичной для нее точкой перехода из жидкой в газообразную фазу. Прибор для газо-жидкостной хроматографии как раз и фиксирует эту точку перехода, благодаря чему становит-

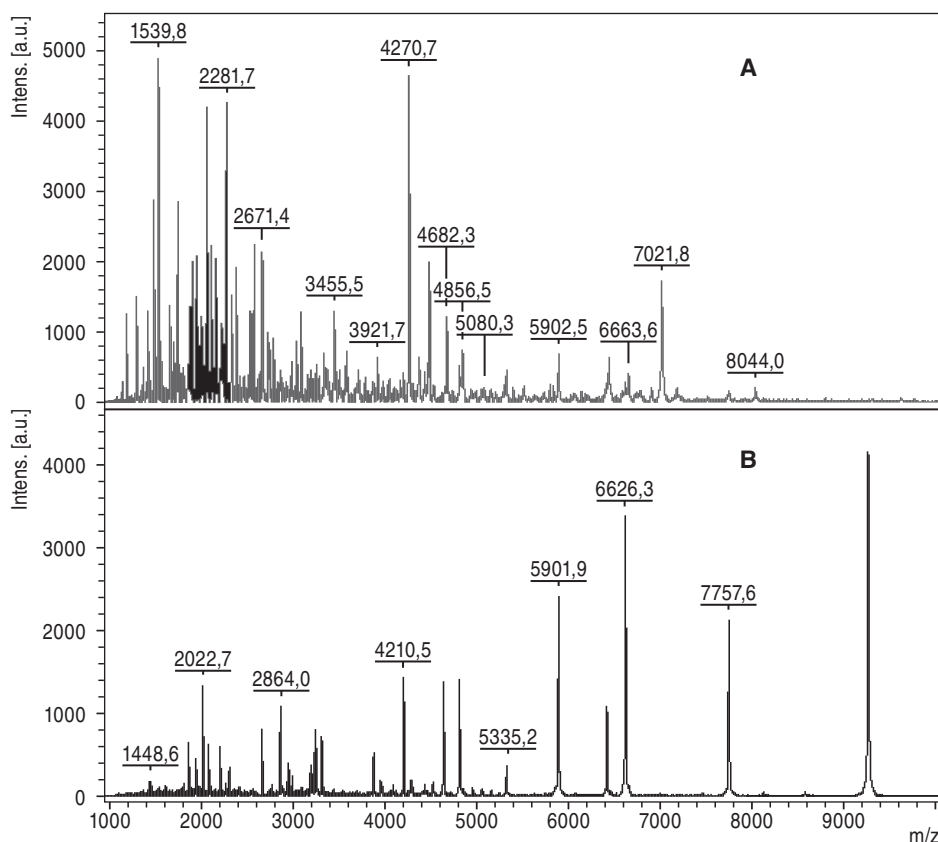
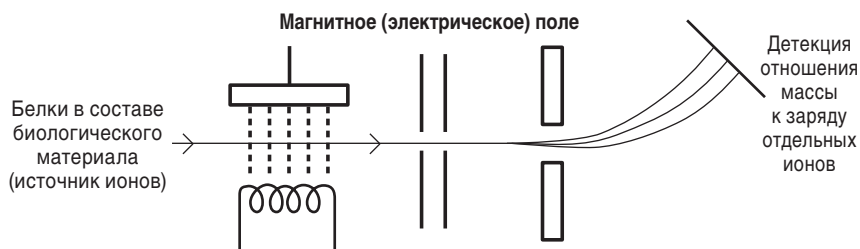


Рис. 6.15. Принцип масс-спектрометрии и протеограмма спинномозговой жидкости

ся возможным определить состав жирных кислот, присутствующих в материале от больного, и, соответственно, определить вид анаэробного возбудителя.

КОМБИНИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ

К комбинированным методам молекулярной биологии относится, в частности, **иммуноблоттинг**. Этот метод сочетает в себе принципы молекулярной биологии и способа иммунодиагностики, как это показано на рис. 6.17.

Метод иммуноблоттинга востребован в тех случаях, когда врачу требуется информация не просто о наличии того или иного микроорганизма в материале от

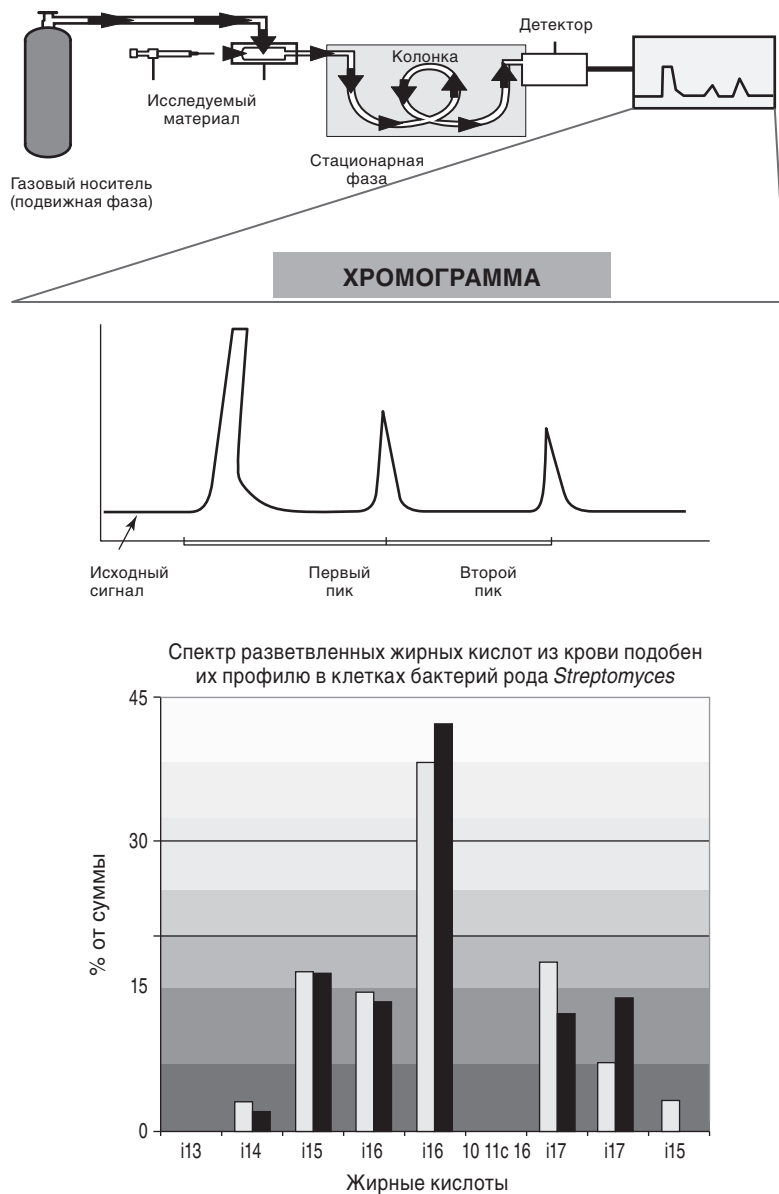


Рис. 6.16. Принцип метода газо-жидкостной хроматографии и пример диагностического использования этого метода

больного, а о наличии и количестве каждого антигена организма или антител к нему в биологическом материале. Такие сведения бывают необходимы при мониторинге больных некоторыми хроническими инфекционными заболеваниями, например ВИЧ-инфекцией. В этом случае врач, получая информацию о динамике того или иного антигена ВИЧ, может прогнозировать наступление следующей стадии инфекционного процесса.

Что касается самой методики осуществления иммуноблоттинга, то она основана на том принципе, что каждый белковый субстрат обладает уникальной для него

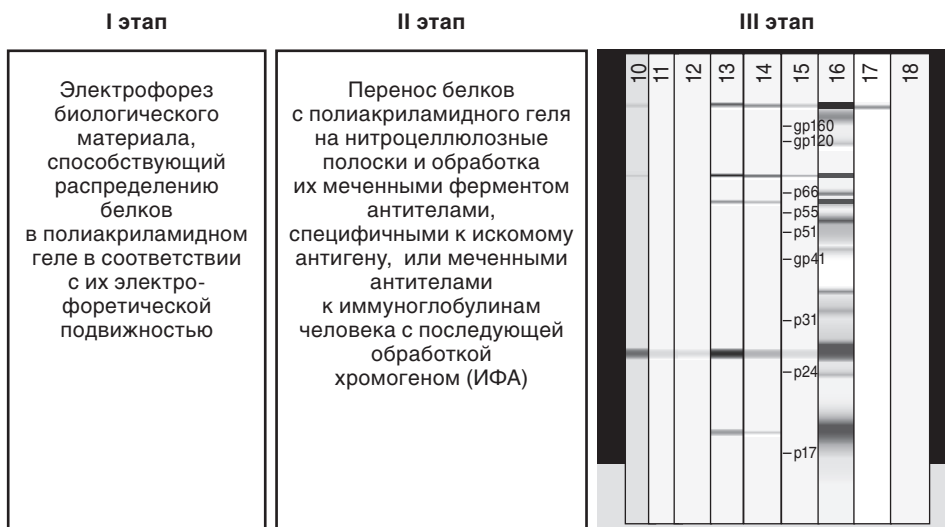


Рис. 6.17. Этапы выполнения и результат иммуноблоттинга

электрофоретической подвижностью. В связи с этим на первом этапе исследования биологический материал от больного подвергают электрофорезу в геле, в результате каждый вирусный белок «продвигается» в геле на разное расстояние. Затем с геля делается «нитроцеллюлозный слепок», который обрабатывается иммуноферментным методом с помощью меченных ферментом моноклональных антител к каждому вирусному белку. В результате получают нитроцеллюлозную полоску, на которой, как показано на рисунке, образуются цветные фрагменты, при этом каждому вирусному белку соответствует свое расстояние от начала полоски.

Ориентируясь на наличие и ширину каждого цветного фрагмента, получают представление не только о наличии в организме, например, ВИЧ, но и том, сколько каждого вирусного белка или антител к нему циркулирует в организме. Так, например, высокое содержание белка капсида ВИЧ (p24) свидетельствует об активном прогрессировании вирусного процесса в стадию первичных проявлений, а динамика антител к p24 и другому поверхностному белку ВИЧ gp120 позволяет прогнозировать развитие СПИД или переход в терминальную стадию инфекционного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лабораторная диагностика опасных инфекционных заболеваний / Под ред. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырева // М.: Медицина, Шико, 2009. — 472 с.
2. Лобзин Ю.В. Практика лабораторных исследований при инфекционных заболеваниях / Ю.В. Лобзин, Ю.П. Финогеев, В.Ф. Крумгольц // СПб.: Элби-СПб., 2005. — 274 с.
3. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы) / Под ред. А.И. Карпищенко // СПб.: Интермедика, 2001. — 304 с.
4. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: том 2: учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко // 2010. — 474 с.
5. Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени / Д.В. Ребриков, Г.А. Саматов, Д.Ю. Трофимов и др. // М.: Бино. Лаборатория знаний, 2014. — 223 с.
6. Baron E.J. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) / E.J. Baron, J.M. Miller, M.P. Weinstein et al. // Clinical Infectious Diseases Advance, 2013. <http://cid.oxfordjournals.org>