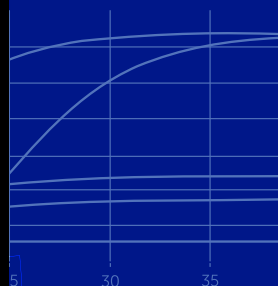
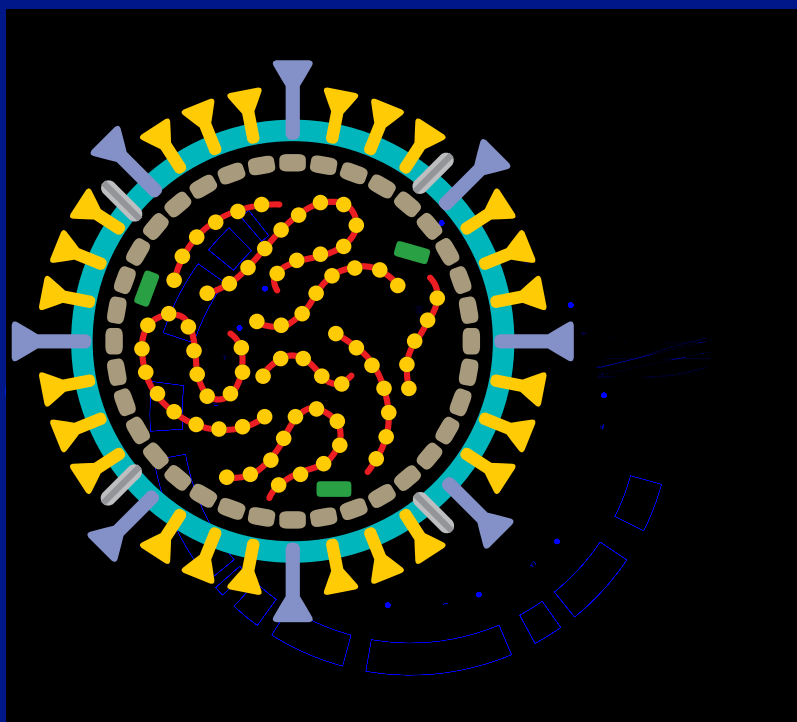


ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ



ФБУН Центральный НИИ
Эпидемиологии
Роспотребнадзора

НАУКА НА СЛУЖБЕ ВАШЕГО ЗДОРОВЬЯ

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Под редакцией
академика РАН, д.м.н., профессора В.Г. Акимкина
д.б.н., профессора М.Г. Твороговой

Москва
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
2020

УДК 616.072+616.9

ББК 53.4+55.1

Л 125

Рецензенты:

Лобзин Юрий Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА»

Иванов Андрей Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова

Авторы

Агеева М. Р., Александрова Е. Н., Альварес Фигероа М. В., Бабин Ю. Ю., Веселова О. А., Белошицкий Г. В., Головешкина Е. Н., Гусева А. Н., Гушин А. Е., Деметьева И. И., Домонова Э. А., Дымова О. В., Егорова М. О., Егорова С. А. Елькина М. А., Ермак Т. Н., Ермолаева Т. Д., Карандашова И. В., Кафтырева Л. А., Киреев Д. Е., Кожаметова Т. А., Комарова С. В., Коновалова Т. А., Крутова Н. Е., Кулешов К. В., Кясова Д. Х., Макарова М. А., Мамошина М. В., Матвеева З. Н., Матосова С. В., Миронов К. О., Морозов Ю. А., Павлова А. С., Паркина Н. В., Пименов Н. Н., Подколзин А. Т., Порин А. А., Рожнова С. Ш., Савинова Т. А., Сакалкина Е. В., Санфирова В. М., Сварваль А. В., Сильвестрова О. Ю., Скачкова Т. С., Тельмина Л. В., Творогова М. Г., Чарная М. А., Чащина А. А., Чеботарь И. В., Чернышева Л. А., Чуланов В. П., Шипулина О. Ю., Яцышина С. Б.

Л 125 **Лабораторная диагностика инфекционных болезней** / Под редакцией В. Г. Акимкина, М. Г. Твороговой. – М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2020. – 480 с.

ISBN 978-5-9900432-0-6

«Лабораторная диагностика инфекционных болезней» содержит развернутую характеристику различных лабораторных исследований, применяемых для этиологической диагностики заболеваний, возбудителями которых являются вирусы, бактерии, грибы, простейшие. Отмечены достоинства и недостатки прямых и косвенных методов определения более 50 патогенов, сопоставлены их диагностическая чувствительность и специфичность. Сведения о выборе оптимального биоматериала и времени взятия его образцов для исследования, несомненно, помогут клиницисту выбрать эффективный алгоритм для лабораторной диагностики определённой инфекции и позволят избежать лишних затрат времени персонала и материальных средств для выполнения малоинформативных исследований.

Наряду со сведениями о современных направлениях в лабораторной диагностике инфекций в настоящей книге представлена краткая информация об основных видах лабораторных исследований, используемых на современном этапе. Знания о физиологических свойствах применяемых в клинической практике анализов и диагностическом значении их изменений крайне необходимы в ходе обнаружения проявлений инфекционных болезней, их осложнений и контроля за лечением. Благодаря полноте и разнообразию изложенного материала, широкому спектру затрагиваемых исследований, книга «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» будет интересна и полезна широкому кругу читателей: инфекционистам и врачам других специальностей, в том числе специалистам клинко-диагностических лабораторий и лабораторий центров гигиены и эпидемиологии, а также студентам и аспирантам – биологам и медикам.

УДК 616.072+616.9

ББК 53.4+55.1

DOI: <https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-0-6>

ISBN 978-5-9900432-0-6

LABORATORY DIAGNOSTICS OF INFECTIOUS DISEASES

Edited by

V.G. Akimkin, Member of the Russian Academy of Sciences

Doctor of Sciences in Medicine, Professor

M.G. Tvorogova, Doctor of Sciences in Biology, Professor

Moscow
Central Research Institute of Epidemiology
2020

Reviewers:

Lobzin Yuri Vladimirovich – Doctor of Sciences in Medicine, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Director of Federal State Autonomous Institution «Scientific Center of Children's Health» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Ivanov Andrey Mikhailovich – Doctor of Sciences in Medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnosis of Federal State Budgetary Military Educational Institution of Higher Education «Military Medical Academy named after S.M. Kirov»

Authors

Ageeva M.R., Aleksandrova E.N., Alvarez Figueroa M.V., Babin Yu. Yu., Veselova O.A., Beloshitsky G.V., Goloveshkina E.N., Guseva A.N., Gushchin A.E., Demytyeva I.I., Domonova E.A., Dymova O.V., Egorova M.O., Egorova S.A., Elkina M.A., Ermak T.N., Ermolaeva T. D., Karandashova I.V., Kaftyreva L.A., Kireev D.E., Kozhakhmetova T.A., Komarova S.V., Konovalova T.A., Krutova N.E., Kuleshov K.V., Kyasova D.Kh., Makarova M.A., Mamoshina M.V., Matveeva Z.N., Matosova S.V., Mironov K.O., Morozov Yu.A., Pavlova A.S., Parkina N V., Pimenov N. N., Podkolzin A.T., Porin A.A., Rozhnova S.Sh., Savinova T.A., Sakalkina E.V., Sanfirova V.M., Svarval A.V., Silvestrova O. Yu., Skachkova T.S., Telminova L.V., Tvorogova M.G., Charnaya M.A., Chashchina A.A., Chebotar I.V., Chernysheva L.A., Chulanov V.P., Shipulina O. Yu., Yatsyshina S.B.

Laboratory diagnosis of infectious diseases / Edited by Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor V.G. Akimkin, and Doctor of Biological Sciences, Professor M.G. Tvorogova. – Moscow: Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology», 2020. 480 p.

ISBN 978-5-9900432-0-6

The book contains a detailed description of various laboratory tests used for the etiological diagnosis of diseases caused by viruses, bacteria, fungi, protozoa. The advantages and disadvantages of direct and indirect methods for determining more than 50 pathogens are noted, their diagnostic sensitivity and specificity are compared. Information about the choice of the optimal type of specimens and the time of its collection for testing will undoubtedly help the clinician to choose an effective algorithm for laboratory diagnosis of a certain infection and will avoid unnecessary expenditures of staff time and material resources for performing uninformative studies. Along with information about modern trends in laboratory diagnosis of infections, this book provides brief information on the main types of current laboratory research. Knowledge about the physiological properties of analytes used in clinical practice and the diagnostic significance of their changes is extremely necessary for detection of the manifestations of infectious diseases, their complications and treatment monitoring. Due to the completeness and diversity of the material presented, the wide range of studies involved, the book will be interesting and useful to a wide range of readers: infectious disease specialists and clinicians of other specialties, including specialists in clinical diagnostic laboratories and laboratories of hygiene and epidemiology centers, as well as to undergraduate and graduate students – biologists and doctors.

DOI: <https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-0-6>

ISBN 978-5-9900432-0-6

© Authors, 2020

© Central Research Institute for Epidemiology, 2020

■ Авторы

Агеева Маргарита Романовна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Александрова Елена Николаевна, д.м.н., проф., ГБУЗ МКНЦ имени А.С. Логинова ДЗМ

Альварес Фигероа Мария Викторовна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Бабин Юрий Юрьевич, к.б.н., ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России

Веселова Ольга Александровна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Белошицкий Григорий Владимирович, к.м.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Головешкина Елена Николаевна, к.б.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Гусева Анна Николаевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Гущин Александр Евгеньевич, к.б.н., ГБУЗ «МНПЦДК ДЗМ»

Дементьева Инна Иосифовна, д.б.н., проф., ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского

Домонова Эльвира Алексеевна, к.б.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Дымова Ольга Викторовна, к.м.н., ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского

Егорова Марина Олеговна, д.м.н., академия последиplomного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России

Егорова Светлана Александровна, к.м.н., ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Елькина Мария Александровна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Ермак Татьяна Никифоровна, д.м.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Ермолаева Татьяна Дмитриевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Карандашова Инга Вадимовна, к.б.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Кафтырева Лидия Алексеевна, д.м.н., ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Киреев Дмитрий Евгеньевич, к.б.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Кожаметова Татьяна Александровна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Комарова Светлана Васильевна, ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России

Коновалова Татьяна Александровна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Крутова Наталья Евгеньевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Кулешов Константин Валерьевич, к.б.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Кясова Диана Хачимовна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Макарова Мария Александровна, к.м.н., ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Мамошина Марина Васильевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Матвеева Зоя Николаевна, к.м.н., ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Матосова Светлана Владимировна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Мионов Константин Олегович, д.м.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Морозов Юрий Алексеевич, к.м.н., ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского

Павлова Анастасия Сергеевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Паркина Наталья Владимировна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Пименов Николай Николаевич, к.м.н., ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России

Подколзин Александр Тихонович, д.м.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Порин Александр Арнольдович, к.м.н., ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Рожнова Софья Шаевна, д.м.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Савинова Татьяна Александровна, к.б.н, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»
Минздрава России

Сакалкина Екатерина Викторовна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

Санфирова Валентина Михайловна, к.б.н.

Сварваль Алена Владимировна, к.м.н., ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера

Сильвестрова Ольга Юрьевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспо-
требнадзора

Скачкова Татьяна Сергеевна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотреб-
надзора

Тельминова Лариса Владимировна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

Творогова Мария Глебовна, д.б.н., проф., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

Чарная Марина Александровна, д.б.н., ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Пе-
тровского

Чащина Анна Александровна, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотреб-
надзора

Чеботарь Игорь Викторович, д.м.н., ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пиро-
гова Минздрава России

Чернышева Лора Александровна, ООО Фармаско, Украина

Чуланов Владимир Петрович, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Мин-
здрава России

Шипулина Ольга Юрьевна, к.м.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспо-
требнадзора

Яцьшина Светлана Борисовна, к.б.н., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

■ Authors

Ageeva, Margarita Romanovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Aleksandrova, Elena Nikolaevna, D.Sc. in Medicine, professor, GBUZ Moscow Clinical Scientific Center named after Loginov MHD

Alvarez Figueroa, Maria Viktorovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Babin, Yuri Yurievich, Cand.Sc. in Biology, FSBI «NMRC PPD» Ministry of Health of the Russian Federation

Veselova, Olga Alexandrovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Beloshitsky, Grigory Vladimirovich, Cand.Sc. in Medicine, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Goloveshkina, Elena Nikolaevna, Cand.Sc. in Biology, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Guseva, Anna Nikolaevna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Gushchin, Alexander Evgenievich, Cand.Sc. in Biology, SBIH «MSPCDC DHM»

Dementieva, Inna Iosifovna, D.Sc. in Biology, professor, Federal State Budget Scientific Institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery»

Domonova, Elvira Alekseevna, Cand.Sc. in Biology, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Dymova, Olga Viktorovna, Cand.Sc. in Medicine, Federal State Budget Scientific Institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery»

Egorova, Marina Olegovna, D.Sc. in Medicine, Academy of Postgraduate Education FBSI FRCC FMBA of Russia

Egorova, Svetlana Alexandrovna, Cand.Sc. in Medicine, Saint-Petersburg Pasteur Institute

Elkina, Maria Alexandrovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Ermak, Tatiana Nikiforovna, D.Sc. in Medicine, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Ermolaeva, Tatiana Dmitrievna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Karandashova Inga Vadimovna, Cand.Sc. in Biology, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Kaftyreva, Lidia Alekseevna, D.Sc. in Medicine, Saint-Petersburg Pasteur Institute

Kireev, Dmitry Evgenievich, Cand.Sc. in Biology, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Kozhakhmetova, Tatiana Alexandrovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Komarova, Svetlana Vasilievna, FSBI «NMRC PPD» Ministry of Health of the Russian Federation

Konovalova, Tatiana Alexandrovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Krutova, Natalia Evgenievna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Kuleshov, Konstantin Valerievich, Cand.Sc. in Biology, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Kyasova, Diana Khachimovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Makarova, Maria Alexandrovna, Cand.Sc. in Medicine, Saint-Petersburg Pasteur Institute Mamoshina, Marina Vasilievna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Matveeva, Zoya Nikolaevna, Cand.Sc. in Medicine, Saint-Petersburg Pasteur Institute

Matosova, Svetlana Vladimirovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Mironov, Konstantin Olegovich, D.Sc. in Medicine, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Morozov, Yuri Alekseevich, Cand.Sc. in Medicine, Federal State Budget Scientific Institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery»

Pavlova, Anastasia Sergeevna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Parkina, Natalia Vladimirovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Pimenov, Nikolay Nikolaevich, Cand.Sc. in Medicine, FSBI «NMRC PPD» Ministry of Health of the Russian Federation

Podkolzin, Alexander Tikhonovich, D.Sc. in Medicine, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Porin, Alexander Arnoldovich, Cand.Sc. in Medicine, Saint-Petersburg Pasteur Institute Rozhnova, Sofya Shaevna, D.Sc. in Medicine, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Savinova, Tatiana Alexandrovna, Cand.Sc. in Biology, FSAI «National Medical Research Center for Children's Health» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Sakalkina Ekaterina Viktorovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Sanfirova, Valentina Mikhailovna, Cand.Sc. in Biology

Svarval, Alena Vladimirovna, Cand.Sc. in Medicine, Saint-Petersburg Pasteur Institute

Silvestrova, Olga Yurievna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Skachkova, Tatiana Sergeevna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Telminova, Larisa Vladimirovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Tvorogova, Maria Glebovna, D.Sc. in Biology, professor, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Charnaya, Marina Alexandrovna, D.Sc. in Biology, Federal State Budget Scientific Institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery»

Chashchina, Anna Alexandrovna, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Chebotar, Igor Viktorovich, D.Sc. in Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University

Chernysheva, Lora Alexandrovna, LLC Farmasco, Ukraine

Chulanov, Vladimir Petrovich, D.Sc. in Medicine, professor, FSBI «NMRC PPD» Ministry of Health of the Russian Federation

Shipulina, Olga Yurievna, Cand.Sc. in Medicine, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Yatsyshina, Svetlana Borisovna, Cand.Sc. in Biology, Federal Budget Institute of Science «Central Research Institute of Epidemiology»

Оглавление

Список сокращений	23
Введение	26

Выявление возбудителей и маркеров инфекционных болезней

ВИЧ-инфекция	
<i>Д.Е. Киреев</i>	28
Вирусные гепатиты	
<i>Ю.Ю. Бабин, И.В. Карандашова, С.В. Комарова, Н.Н. Пименов, В.П. Чуланов</i>	44
Гепатит А	46
Гепатит В	48
Гепатит С	61
Гепатит D	68
Острый гепатит E	70
Вирус гепатита G	73
Герпес-вирусные инфекции	
<i>Э.А. Домонова</i>	75
Инфекция, вызываемая вирусом простого герпеса	
<i>Э.А. Домонова, А.Е. Гуцин</i>	79
Инфекция, вызываемая вирусом Варицелла-Зостер	
<i>Э.А. Домонова</i>	86
Инфекция, вызываемая вирусом Эпштейна-Барр	
<i>Э.А. Домонова, О.Ю. Шипулина</i>	93
Цитомегаловирусная инфекция	
<i>Э.А. Домонова, О.Ю. Шипулина</i>	97
Инфекции, вызываемые вирусом герпеса человека 6А и вирусом герпеса человека 6В	
<i>Э.А. Домонова</i>	103
Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 7	
<i>Э.А. Домонова, О.Ю. Сильвейстрова, О.Ю. Шипулина</i>	107
Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 8	
<i>Э.А. Домонова</i>	110
Инфекция, вызываемая вирусом папилломы человека	
<i>О.Ю. Шипулина</i>	124
Инфекции, вызываемые микобактериями	
<i>М.В. Альварес Фигероа</i>	129
Инфекции, вызываемые стафилококками	
<i>И.В. Чеботарь</i>	143

Инфекции, вызываемые стрептококками

Т.А. Савинова	150
Инфекции, вызываемые <i>Streptococcus agalactiae</i>	
Т.А. Савинова	152
Инфекция, вызываемая <i>Streptococcus pneumoniae</i>	
К.О. Миронов, С.Б. Яцышина	155
Инфекция, вызываемая <i>Streptococcus pyogenes</i>	
Т.А. Савинова	160

Инфекции желудочно-кишечного тракта

А.Т. Подколзин, Л.А. Кафтырева	166
Острые кишечные инфекции вирусной этиологии	168
Ротавирусная инфекция	
А.Т. Подколзин, Т.А. Кожахметова, А.А. Чащина	168
Калицивирусная инфекция (норовирусная и саповирусная инфекция)	
А.Т. Подколзин, Д.Х. Кясова	171
Астровирусная инфекция	
А.Т. Подколзин, Т.А. Коновалова	173
Аденовирусная кишечная инфекция	
А.Т. Подколзин, О.А. Веселова	175
Энтеровирусная инфекция	
А.Т. Подколзин, Н.В. Паркина	176
Острые кишечные инфекции бактериальной этиологии	179
Сальмонеллезы	
С.Ш. Рожнова, А.Н. Гусева, А.С. Павлова	179
Шигеллезы	
А.Т. Подколзин, Л.А. Кафтырева, М.А. Макарова, З.Н. Матвеева	181
Кампилобактериозы	
А.А. Порин, З.Н. Матвеева	183
Эшерихиозы	
М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева, Т.А. Коновалова	186
Брюшной тиф и паратифы	
Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова	189
Инфекции, вызываемые <i>Cronobacter sakazakii</i>	
Л.А. Кафтырева, А.А. Порин	192
Кишечный иерсиниоз и псевдотуберкулез	
А.Т. Подколзин, А.С. Павлова	194
Хеликобактериоз	
К.В. Кулешов, А.В. Сварваль, Л.А. Кафтырева	196
Протозойные кишечные инфекции	199
Лямблиоз	
А.Т. Подколзин, Т.А. Коновалова	199
Амебиаз	
А.Т. Подколзин, Е.В. Сакалкина	201
Криптоспоридиоз	
А.Т. Подколзин, Т.Н. Ермак	203
Кишечные гельминтные инвазии	206

Энтеробиоз	
<i>А.Т. Подколзин, Н.Е. Крутова</i>	206
Аскаридоз	
<i>А.Т. Подколзин, Н.Е. Крутова</i>	207
Микозы	
<i>Т.С. Скачкова</i>	213
Аспергиллез	
<i>Т.С. Скачкова, С.В. Матосова, О.Ю. Шипулина</i>	215
Кандидозы	
<i>Е.Н. Головешкина, Л.А. Чернышева, А.Е. Гуцин</i>	220
Криптококкоз	
<i>Т.С. Скачкова</i>	225
Пневмоцистоз	
<i>Т.С. Скачкова</i>	229
Острые инфекции дыхательных путей	
<i>С.Б. Яцышина</i>	235
Грипп	
<i>С.Б. Яцышина</i>	238
Острые респираторные вирусные инфекции	
<i>С.Б. Яцышина, М.Р. Агеева</i>	241
Коклюш	
<i>С.Б. Яцышина, М.А. Елькина</i>	249
Инфекции, вызываемые <i>Mycoplasma pneumoniae</i> и <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	
<i>С.Б. Яцышина</i>	252
Легионеллез	
<i>С.Б. Яцышина, М.В. Мамошина</i>	256
Дифтерия	
<i>С.Б. Яцышина, М.А. Елькина, Г.В. Белошицкий</i>	259
Менингококковая инфекция	
<i>К.О. Миронов</i>	263
ToRCH-инфекции	
<i>Э.А. Домонова</i>	270
Токсоплазмоз	272
Краснуха	280
Парвовирусная инфекция	286
Сбор и хранение материала для лабораторной диагностики инфекционных болезней	
<i>М.В. Альварес Фигероа, Е.Н. Головешкина, Э.А. Домонова, Л.А. Кафтырева, Д.Е. Киреев, А.Т. Подколзин, О.Ю. Шипулина, С.Б. Яцышина</i>	299
Биологический материал со слизистых оболочек и кожи	299
Биологический материал для пренатальной диагностики	306
Биопсийный и операционный материал	307
Кровь	307
Моча	309

Спинномозговая жидкость	310
Синовиальная жидкость	311
Фекалии	311

Основные виды лабораторных исследований

Общеклинические исследования

<i>Т.Д. Ермолаева, Л.В. Тельминова</i>	313
Анализ мочи	313
Общий анализ мочи	313
Анализ мочи по Зимницкому	320
Анализ мочи по Нечипоренко	322
Двух- и трехстаканные пробы мочи	323
Анализ кала	324
Клинический анализ кала	325
Копрограмма	327

Гематологические исследования

<i>М.О. Егорова</i>	330
Клинический анализ крови	331
Гемоглобин	333
Количество эритроцитов (RBC)	335
Средний объем эритроцитов (MCV)	335
Ширина распределения эритроцитов по объему (RDW)	335
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)	336
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC)	336
Гематокрит (Hct)	337
Количество тромбоцитов (Plt)	
<i>при участии О.В. Дымовой, Ю.А. Морозова, И.И. Дементьевой, М.А. Чарной.</i>	337
Средний объем тромбоцита (MPV)	338
Ретикулоциты	339
Средний объем ретикулоцита (MRV)	339
Средний объем сферической клетки (MSCV)	340
Индекс зрелости ретикулоцитов (IRF)	340
Лейкоциты	341
Лейкоцитарная формула	342
Скорость оседания эритроцитов	344
Определение группы крови и резус-принадлежности	346
Биохимические и иммунохимические исследования	348
Требования к условиям и процедурам взятия образцов биологического материала	
<i>М.Г. Творогова, В.М. Санфиорова</i>	348
Ферменты	
<i>М.Г. Творогова, В.М. Санфиорова</i>	350
Аланинаминотрансфераза	351
Альфа-амилаза	352

Аспаратаминотрансфераза	354
Гамма-глутамилтрансфераза	356
Кислая фосфатаза	357
Креатинкиназа	358
Лактатдегидрогеназа	360
Липаза	363
Холинэстераза	364
Щелочная фосфатаза	366
Ионы	
<i>М.Г. Творогова, В.М. Санфирова</i>	367
Калий	368
Кальций	372
Магний	378
Натрий	382
Фосфор	386
Хлор	390
Субстраты	
<i>М.Г. Творогова, В.М. Санфирова</i>	393
Белки крови	394
Общий белок	394
Белковые фракции	395
Альбумин	396
α -2-макроглобулин	399
С-реактивный белок	
<i>Е.Н. Александрова</i>	400
Гаптоглобин	401
Миоглобин	402
Тропонины I и T	403
Церулоплазмин	405
Белки мочи	406
Общий белок в моче	406
Альбумин (микроальбумин)	409
Билирубин	410
Витамины	412
Витамин B ₁₂	412
Фолиевая кислота	414
Гомоцистеин	415
Лабораторные показатели обмена глюкозы	417
Глюкоза в крови	419
Глюкоза в моче	421
Гликированный гемоглобин	421
Фруктозамин	422
Лабораторные показатели обмена железа	423
Железо	423
Трансферрин	426
Ферритин	427

Общая железосвязывающая способность сыворотки крови. Латентная (ненасыщенная) железосвязывающая способность сыворотки крови	428
Креатинин	430
Лабораторные показатели обмена липидов	433
Холестерин	435
Холестерин липопротеидов низкой плотности	437
Холестерин липопротеидов высокой плотности	437
Триглицериды	438
Аполипротеины	440
Липопротеид (а)	441
Мочевина	441
Мочевая кислота	443
Исследования системы гемостаза	
О.В. Дымова, Ю.А. Морозов, И.И. Дементьева, М.А. Чарная	446
«Клеточно-ассоциированная» модель свертывания крови	446
Система фибринолиза	450
Система естественных антикоагулянтов	451
Лабораторная оценка состояния системы гемостаза	452
Особенности взятия и хранения образцов для исследования	453
Методы исследования	454
Скрининговые методы оценки системы гемостаза	454
Протромбиновое время	454
Тромбиновое время	457
Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время	458
Концентрация фибриногена	459
Исследование тромбоцитарного гемостаза	460
Исследование агрегационной способности тромбоцитов	460
Лабораторная оценка системы естественных антикоагулянтов	465
Антитромбин III	465
Протеин С	466
Протеин S	467
Лабораторная оценка системы фибринолиза	468
Определение XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза	468
Плазминоген	469
D-димер	470
Перечень терминов	475

Contents

List of abbreviations	23
Introduction	26

Identification of pathogens and markers of infectious diseases

HIV infection

<i>D.E. Kireev</i>	28
--------------------------	----

Viral hepatitis

<i>Y.Y. Babin, I.V. Karandashova, S.V. Komarova, N.N. Pimenov, V.P. Chulanov</i>	44
Hepatitis A	46
Hepatitis B	48
Hepatitis C	61
Hepatitis D	68
Acute hepatitis E	70
Hepatitis G virus	73

Herpes viral infections

<i>E.A. Domonova</i>	75
Herpes simplex virus infection	
<i>E.A. Domonova, A.E. Gushchin</i>	79
Varicella-Zoster virus infection	
<i>E.A. Domonova</i>	86
Epstein-Barr virus infection	
<i>E.A. Domonova, O.Yu. Shipulina</i>	93
Cytomegalovirus infection	
<i>E.A. Domonova, O.Yu. Shipulina</i>	97
Human herpesvirus type 6 infection	
<i>E.A. Domonova</i>	103
Human herpesvirus type 7 infection	
<i>E.A. Domonova, O.Yu. Silveystrova, O.Yu. Shipulina</i>	107
Human herpesvirus type 8 infection	
<i>E.A. Domonova</i>	110

Human papillomavirus infection

<i>O. Yu. Shipulina</i>	124
-------------------------------	-----

Mycobacterial infections

<i>M.V. Alvarez Figueroa</i>	129
------------------------------------	-----

Staphylococcal infections

<i>I.V. Chebotar</i>	143
----------------------------	-----

Streptococcal infections

<i>T.A. Savinova</i>	150
Streptococcus agalactiae infections	
<i>T.A. Savinova</i>	152

Streptococcus pneumoniae infection <i>K.O. Mironov, S. B. Yatsyshina</i>	155
Streptococcus pyogenes infection <i>T.A. Savinova</i>	160
Gastrointestinal infections	
<i>A.T. Podkolzin, L.A. Kaftyreva</i>	166
Acute intestinal infections of viral etiology	168
Rotavirus infection <i>A.T. Podkolzin, T.A. Kozhakhmetova, A.A. Chashchina</i>	168
Calicivirus infection (norovirus and sapovirus infections) <i>A.T. Podkolzin, D.Kh. Kyasova</i>	171
Astrovirus infection <i>A.T. Podkolzin, T.A. Konovalova</i>	173
Adenoviral intestinal infection <i>A.T. Podkolzin, O. A. Veselova</i>	175
Enterovirus infection <i>A.T. Podkolzin, N.V. Parkina</i>	176
Acute intestinal infections of bacterial etiology	179
Salmonellosis <i>S.Sh. Rozhnova, A.N. Guseva, A.S. Pavlova</i>	179
Shigellosis <i>A.T. Podkolzin, L.A. Kaftyreva, M.A. Makarova, Z.N. Matveeva</i>	181
Campylobacteriosis <i>A.A. Porin, Z.N. Matveeva</i>	183
Escherichiosis <i>M.A. Makarova, L.A. Kaftyreva, T.A. Konovalova</i>	186
Typhoid and paratyphoid fever <i>L.A. Kaftyreva, S.A. Egorova</i>	189
Cronobacter sakazakii infections <i>L.A. Kaftyreva, A.A. Porin</i>	192
Intestinal yersiniosis and pseudotuberculosis <i>A.T. Podkolzin, A.S. Pavlova</i>	194
Helicobacteriosis <i>K. V. Kuleshov, A. V. Svarval, L.A. Kaftyreva</i>	196
Protozoal intestinal infections	199
Giardiasis <i>A.T. Podkolzin, T.A. Konovalova</i>	199
Amebiasis <i>A.T. Podkolzin, E.V. Sakalkina</i>	201
Cryptosporidiosis <i>A.T. Podkolzin, T.N. Ermak</i>	203
Intestinal helminth invasions	206
Enterobiasis <i>A.T. Podkolzin, N.E. Krutova</i>	206
Ascariasis <i>A.T. Podkolzin, N.E. Krutova</i>	207

Mycoses

<i>T.S. Skachkova</i>	213
Aspergillosis	
<i>T.S. Skachkova, S.V. Matosova, O. Yu. Shipulina</i>	215
Candidiasis	
<i>E.N. Goloveshkina, L.A. Chernysheva, A.E. Gushchin</i>	220
Cryptococcosis	
<i>T.S. Skachkova</i>	225
Pneumocystosis	
<i>T.S. Skachkova</i>	229

Acute respiratory infections

<i>S.B. Yatsyshina</i>	235
Influenza	
<i>S.B. Yatsyshina</i>	238
Acute respiratory viral infections	
<i>S.B. Yatsyshina, M.R. Ageeva</i>	241
Pertussis	
<i>S.B. Yatsyshina, M.A. Elkina</i>	249
Mycoplasma pneumoniae and Chlamydomphila pneumoniae infections	
<i>S. B. Yatsyshina</i>	252
Legionellosis	
<i>S.B. Yatsyshina, M.V. Mamoshina</i>	256
Diphtheria	
<i>S.B. Yatsyshina, M.A. Elkina, G.V. Beloshitsky</i>	259
Meningococcal infection	
<i>K.O. Mironov</i>	263

ToRCH infections

<i>E.A. Domonova</i>	270
Toxoplasmosis	272
Rubella	280
Parvovirus infection	286

Collection and storage of material for laboratory diagnosis of infectious diseases

<i>M.V. Alvarez Figueroa, E.N. Goloveshkina, E.A. Domonova, L.A. Kaftyreva, D.E. Kireev, A.T. Podkolzin, O.Yu. Shipulina, S.B. Yatsyshina</i>	299
Biological material from mucous membranes and skin	299
Biological material for prenatal diagnosis	306
Biopsy and surgical material	307
Blood	307
Urine	309
Cerebrospinal fluid	310
Synovial fluid	311
Faeces	311

The main types of laboratory tests

General clinical tests

<i>T.D. Ermolaeva, L.V. Telminova</i>	313
Analysis of urine	313
General urine analysis	313
Urine analysis according to Zimnitsky	320
Urine analysis according to Nechiporenko	322
Two- and three-glass urine samples	323
Stool analysis	324
Clinical analysis of faeces	325
Coprogram	327

Hematological tests

<i>M.O. Egorova</i>	330
Complete blood count	331
Haemoglobin	333
Red blood cells count (RBC)	335
Mean corpuscular volume (MCV)	335
Red blood cell distribution width (RDW)	335
Mean corpuscular hemoglobin (MCH)	336
Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)	336
Hematocrit (Hct)	337
Platelet count (Plt)	
<i>with the participation of O.V. Dymova, Yu.A. Morozov, I.I. Dementieva,</i>	
<i>M.A. Charnoy</i>	337
Mean platelet volume (MPV)	338
Reticulocytes	339
Mean reticulocyte volume (MRV)	339
Mean volume of the spherocytes (MSCV)	340
Immature reticulocyte fraction (IRF)	340
Leukocytes	341
Leukocyte formula	342
Erythrocyte sedimentation rate	344
Determination of blood group and Rh-factor	346

Biochemical and immunochemical tests

Requirements for the conditions and procedures for collection of biological material samples	
<i>M.G. Tvorogova, V.M. Sanfirova</i>	348
Enzymes	
<i>M.G. Tvorogova, V.M. Sanfirova</i>	350
Alanine aminotransferase	351
Alpha amylase	352
Aspartate aminotransferase	354
Gamma-glutamyltransferase	356
Acid phosphatase	357
Creatine kinase	358

Lactate dehydrogenase	360
Lipase	363
Cholinesterase	364
Alkaline phosphatase	366
Ions	
<i>M.G. Tvorogova, V.M. Sanfirova.</i>	367
Potassium	368
Calcium	372
Magnesium	378
Sodium	382
Phosphorus	386
Chlorine	390
Substrates	
<i>M.G. Tvorogova, V.M. Sanfirova.</i>	393
Blood proteins	394
<i>Total protein</i>	394
<i>Protein fractions</i>	395
<i>Albumin</i>	396
<i>α-2- macroglobulin</i>	399
<i>C-reactive protein</i>	
<i>E.N. Alexandrova</i>	400
<i>Haptoglobin</i>	401
<i>Myoglobin</i>	402
<i>Troponins I and T</i>	403
<i>Ceruloplasmin</i>	405
Urine proteins	406
<i>Total protein in urine</i>	406
<i>Albumin (microalbumin)</i>	409
Bilirubin	410
Vitamins	412
<i>Vitamin B12</i>	412
<i>Folic acid</i>	414
Homocysteine	415
Glucose metabolism tests	417
<i>Blood glucose</i>	419
<i>Glucose in urine</i>	421
<i>Glycated hemoglobin</i>	421
<i>Fructosamine</i>	422
Iron metabolism tests	423
<i>Iron</i>	423
<i>Transferrin</i>	426
<i>Ferritin</i>	427
<i>The total iron-binding capacity of blood serum. Latent (unsaturated)</i> <i>iron-binding capacity of blood serum.</i>	428
Creatinine	430
Lipid metabolism tests	433

Cholesterol	435
Low-density lipoprotein cholesterol	437
High-density lipoprotein cholesterol	437
Triglycerides	438
Apolipoproteins	440
Lipoprotein (a)	441
Urea	441
Uric acid	443
Hemostasis system tests	
O. V. Dymova, <u>Yu. A. Morozov</u> , I. I. Dementieva, M. A. Charnaya	446
«Cell-associated» blood coagulation model.	446
Fibrinolysis system.	450
Natural anticoagulant system.	451
Laboratory assessment of the state of the hemostasis system	452
<i>Collection and storage of samples for laboratory testing.</i>	453
<i>Testing methods.</i>	454
Screening methods for assessing the hemostasis system	454
<i>Prothrombin time</i>	454
<i>Thrombin time</i>	457
<i>Activated partial thromboplastin time</i>	458
<i>Fibrinogen concentration.</i>	459
Analysis of platelet hemostasis.	460
Platelet aggregation testing	460
Laboratory analysis of the natural anticoagulant system	465
<i>Antithrombin III.</i>	465
<i>C protein</i>	466
<i>S protein.</i>	467
Laboratory analysis of the fibrinolysis systems	468
<i>Determination of XIIa-kallikrein-dependent fibrinolysis.</i>	468
<i>Plasminogen</i>	469
<i>D-dimer.</i>	470
List of terms	475

■ Список сокращений

АГ	– антиген
АДГ	– антидиуретический гормон
АЖ	– амниотическая жидкость
АКТГ	– адренкортикотропный гормон
АНК	– амплификация нуклеиновых кислот
АРВ	– антиретровирусный
АМП	– антимикробные препараты
АТ	– антитело
АТ-IgA	– специфические антитела, иммуноглобулины класса А
АТ-IgG	– специфические антитела, иммуноглобулины класса G
АТ-IgM	– специфические антитела, иммуноглобулины класса М
АЧТВ (АПТВ)	– активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время
АЖ	– амниотическая жидкость
БАЛ	– бронхоальвеолярная лаважная жидкость
ВГВ	– вирус гепатита В
ВГС	– вирус гепатита С
ВИЧ	– вирус иммунодефицита человека
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ВУИ	– внутриутробная инфекция
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ГИФА	– гибридизационно-ферментный анализ
ГЭ	– геном-эквивалент
Да	– дальтон (Da)
ДВС-синдром	– синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЧ	– диагностическая чувствительность
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
ИБ	– иммунный блот
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИМ	– инфаркт миокарда
ИППП	– инфекции, передаваемые половым путем
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИХА	– иммунохроматографический анализ
ИХЛА	– иммунохемилюминесцентный анализ
КК	– креатинкиназа
КОР	– кислотно-основное равновесие
ЛЧ	– лекарственная чувствительность
МАНК	– методы амплификации нуклеиновых кислот

МЕ	– международная единица
МКБ-10	– Международная классификация болезней десятого пересмотра
МЛУ	– множественная лекарственная устойчивость
МИФ	– метод микроиммунофлуоресценции
МИФА	– метод иммуноферментного анализа на микрочастицах
ММ	– молекулярная масса
МСМ	– мужчины, имеющие секс с мужчинами
МФА	– метод флуоресцирующих антител
ОГ	– острый гепатит
ОКИ	– острые кишечные инфекции
ОРИ	– острые респираторные инфекции
ОРВИ	– острые респираторные инфекции вирусной этиологии
ОРЗ	– острые респираторные заболевания
ОТ-ПЦР	– метод полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией
НАСБА	– реакция транскрипционной амплификации (NASBA)
НК	– нуклеиновая кислота
ПДРФ	– полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (restriction fragment length polymorphism, RFLP)
п.н.	– пар нуклеотидов
ПИФ	– метод прямой иммунофлуоресценции (РИФ, РПИФ)
ПТГ	– паратиреоидный гормон
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	– ПЦР в реальном времени (Real-Time PCR)
РА	– реакция агглютинации
РИА	– радиоиммунный анализ
РИД	– радиальная иммунодиффузия
РИФ	– реакция иммунофлуоресценции (ПИФ, РПИФ)
РН	– реакция нейтрализации
РНГА	– реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РПГА)
РНИФ	– реакция непрямой иммунофлуоресценции
РПИФ	– реакция прямой иммунофлуоресценции (ПИФ, РИФ)
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РПГА	– реакция прямой гемагглютинации
РСК	– реакции связывания комплемента
РТГА	– реакция торможения гемагглютинации
СД	– сахарный диабет
СМЖ	– спинномозговая жидкость
СРБ	– С-реактивный белок
СПИД	– синдром приобретенного иммунодефицита
ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
УВО	– устойчивый вирусологический ответ
ЦМВ	– цитомегаловирус

ЦМВИ	– цитомегаловирусная инфекция
ЦНС	– центральная нервная система
ЭФ	– электрофорез
ЭХЛА	– метод электроиммунохемилюминесценции
bDNA	– метод разветвленной ДНК (branched chain DNA)
CDC	– Центр по контролю и профилактики заболеваний Министерства здравоохранения и социальных услуг США (Centers for Disease Control and Prevention)
FDA	– управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration)
FEP	– метод детекции продуктов амплификации по конечной точке (Fluorescence End Point)
HLA	– лейкоцитарные антигены человека (human leukocyte antigen)
HRM	– анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (high resolution melting), анализ кривых плавления амплифицированных фрагментов ДНК
IFCC	– Международная федерация клинической химии
IgA	– иммуноглобулины класса А
IgG	– иммуноглобулины класса G
IgM	– иммуноглобулины класса M
LAMP	– петлевая изотермическая амплификация (LOOP-mediated amplification)
LiPA	– метод обратной гибридизации с использованием олигонуклеотидных зондов (line probe assay)
MALDI-TOF MS	– метод идентификации микроорганизмов до рода и вида с помощью времяпролетного масс-спектрометра с матричной ионизацией (matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry)
NASBA	– реакция транскрипционной амплификации (nucleic acids sequence based amplification)
RAPD	– метод ПЦР со случайной амплификацией полиморфной ДНК (random amplification of polymorphic DNA)
RFLP	– полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (restriction fragment length polymorphism)
TMA	– транскрипция опосредованной амплификации (transcription mediated amplification)

■ Введение

Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний имеет богатую и длинную историю. Первыми методами преимущественно являлись **прямые** способы идентификации возбудителя, визуальные – методы микроскопии и классические микробиологические методы – культуральные. Несколько позднее разработаны **косвенные** способы диагностики инфекционных заболеваний – многочисленные иммунологические методы, основанные на реакции антиген-антитело. Название обусловлено косвенным характером результата, поскольку при применении данных способов лабораторной диагностики об этиологии заболевания судят не по выявлению конкретного возбудителя, а по ответу на него организма – обнаружению высокоспецифичных маркеров – антител к антигену инфекционного агента.

Очевидно, что в настоящее время микроскопические исследования, самые простые и дешевые среди рутинных лабораторных методов, не могут соответствовать современному состоянию диагностического процесса – микроскопия не является оптимальным выбором для идентификации не только вирусов, но и многих бактерий, простейших и грибов. К недостаткам микроскопических методов выявления возбудителей инфекционных заболеваний следует отнести их низкую аналитическую и, как следствие, диагностическую чувствительность, обусловленную в первую очередь субъективностью оценки результатов. Применение традиционных культуральных исследований, которые до сих пор являются «золотым стандартом» при обнаружении некоторых патогенов, имеет ряд ограничений в рутинной практике, что обусловлено длительностью проведения исследования, а так же наличием этиопатогенетически значимых трудно- и некультивируемых микроорганизмов.

На текущий момент спектр прямых методов выявления возбудителей инфекционных заболеваний расширен благодаря развитию лабораторной диагностики. Внедрение ранее недоступных высокотехнологичных методик в практику клинико-диагностических лабораторий позволяет выявлять специфические антигены и фрагменты нуклеиновых кислот возбудителя. Для обнаружения или количественного определения антигенов возбудителя используют многочисленные методы иммунохимии, различающиеся по способам регистрации продуктов реакции антиген–антитело. Для выявления ДНК или РНК возбудителя задействованы методы амплификации нуклеиновых кислот, из которых наибольшее распространение в нашей стране получил метод полимеразной цепной реакции. ПЦР-анализ дает возможность обнаружить или определить концентрацию ДНК или РНК микроорганизма в различных типах биологического материала, характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет проводить стандартизацию процедуры исследования, контролировать

процесс обработки материала на всех этапах.

Одновременно с расширением спектра прямых методов происходит и расширение и спектра косвенных методов диагностики. Часть методов, внедренных в лабораторную практику в 40-50-х гг. XX века, в настоящее время не применяются вследствие невозможности стандартизации, автоматизации, количественной оценки получаемых результатов, субъективности их оценки и заменены специфическими иммунохимическими методами с автоматизированной системой детекции результатов исследования: ИФА, иммуноблоттинг, электрохемилюминесценция, иммунохемилюминесценция и др.

В книге «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» статьи, посвященные выявлению возбудителей и маркеров инфекционных болезней, объединены в группы по различным параметрам классификаций: локализации возбудителя в организме – инфекции дыхательных путей, кишечные инфекции и др., а также этиологии возбудителя – ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, инфекции, вызываемые микобактериями и др. Несколько статей посвящено инфекционным заболеваниям, которые одновременно относят к различным группам. Так, к группе ToRCH-инфекций, объединяющей возбудителей перинатальных инфекций, помимо токсоплазмоза и краснухи традиционно относят герпетические инфекции, (в том числе цитомегаловирусную инфекцию), ВИЧ-инфекцию, парентеральные гепатиты и др. Оппортунистические инфекции, возбудители которых преимущественно вызывают патологический процесс у пациентов с разными проявлениями иммунодефицита, имеют протозойную, грибковую, вирусную и бактериальную природу. Среди возбудителей таких инфекций – *Toxoplasma gondii*, традиционно включенная в группу возбудителей ToRCH-инфекций, а так же *Human betaherpesvirus 5*, *Human alphaherpesvirus 2*, *Human alphaherpesvirus 1* и др.

Наряду со сведениями о современных направлениях в лабораторной диагностике инфекций, в настоящей книге представлены статьи, посвященные не менее важной теме – описанию основных видов лабораторных исследований, знания которых крайне необходимо в практике для выявления проявлений инфекционных болезней, их осложнений и контроля за лечением.

В настоящее время известно более 100 инфекционных болезней человека, возбудителями которых являются вирусы, бактерии, грибы, простейшие. Представляется очевидным, что наряду с внедрением новых методик и диагностических технологий в практическое здравоохранение, показания к применению различных лабораторных исследований позволит проводить верификацию инфекционных заболеваний на высоком методическом уровне в кратчайшие сроки, что чрезвычайно важно в рамках поставленных задач в современных условиях.

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И МАРКЕРОВ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

■ ВИЧ-инфекция

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) является РНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству *Retroviridae* рода *Lentivirus*. Кроме ВИЧ-1 (ВИЧ типа 1), в род лентивирусов входят такие представители, как ВИЧ типа 2, вирус иммунодефицита обезьян, вирус иммунодефицита кошек, вирус иммунодефицита крупного рогатого скота, вирус инфекционной анемии лошадей, вирус висна-мэди овец, вирус артрита-энцефалита коз и овец и лентивирус пум. В настоящее время ВИЧ типа 1 подразделяют на группы: М, N, O и P. Циркуляция вирусов групп N, O и P ограничивается Западной Африкой. Наиболее широко распространены вирусы, относящиеся к группе М, в состав которой входят 9 субтипов: А-D, F-H, J и К. Чрезвычайно высокое разнообразие вируса иммунодефицита принято связывать с тремя причинами. Во-первых, это наличие этапа обратной транскрипции в ходе репликации вируса, что связано с появлением ошибок, генерируемых ферментом обратной транскриптазой при синтезе кДНК на матрице вирусной РНК. Вторая причина – исключительно высокий уровень репликации вируса. Показано, что за сутки в организме ВИЧ-инфицированного образуется приблизительно 10^{11} новых вирусных частиц. Третьей причиной является хроническое течение болезни. Такое разнообразие является одним из факторов, благодаря которому до сих пор не разработана эффективная вакцина против ВИЧ. Именно это важнейшее обстоятельство влияет на особенности разработки и использования диагностических тестов для определения ВИЧ.

Репликация вируса в организме хозяина происходит в клетках, экспрессирующих на своей поверхности CD4+ рецепторы. В основном ими являются клетки иммунной системы. Репликация вируса ведет к преждевременной гибели клеток и нарушению иммунитета, что, в свою очередь, приводит к снижению сопротивляемости и развитию вторичных (оппортунистических) заболеваний. Непрерывное размножение вируса через некоторое, иногда довольно продолжительное время, приводит к иммунодефициту. Множественность поражений, связанных с развитием вторичных инфекций, является причиной разнообразия клинических признаков болезни.

При этом клиническая картина начальной стадии заболевания является неспецифической и включает в себя разнообразные ОРЗ-подобные симптомы. Наиболее частым признаком является увеличение лимфатических узлов (лимфаденопатия), что также случается при целом ряде других заболеваний. После инкубационного периода средней продолжительностью от одной до четырех недель наступает стадия острой инфекции, наиболее часто характеризующаяся лихорадкой, лимфаденопатией, артралгией, миалгией, потерей массы тела, дерматологическими и респираторными проявлениями. Длительность острой стадии обычно составляет от 5 до 44 дней, после чего наступает латентная фаза инфекции. В этой стадии единственным проявлением может быть увеличение лимфатических узлов. Длительность этой стадии может достигать десяти и более лет. Весь этот период продолжается активная репликация вируса, и его непрерывное уничтожение клетками иммунной системы. С течением времени в организме ВИЧ-инфицированного происходит падение концентрации CD4-лимфоцитов и нарастание иммунодефицита. Обычно, когда количество CD4-лимфоцитов падает до уровня менее 500 клеток в мкл, в организме больного начинают развиваться оппортунистические инфекции. При отсутствии специфического лечения через непродолжительное время больной умирает.

По состоянию на 31 декабря 2018 года в Российской Федерации проживало более 1 миллиона человек с установленным диагнозом ВИЧ-инфекция. Ежегодно регистрируется приблизительно 100 000 новых случаев болезни. Наиболее пораженной группой были люди в возрасте 30-44 года. Среди мужчин в возрасте от 35 до 39 лет инфицировано 3,2%. Среди населения в возрасте от 15 до 49 заражено 1,2%. Ежегодно увеличивается доля людей, инфицирующихся половым путем. Среди выявленных в 2018-м году больных 57,5% заразились при гетеросексуальных контактах. Важно отметить также рост количества смертей, связанных с ВИЧ. В 2017-м году ВИЧ-инфекция являлась причиной более половины всех смертей от инфекционных болезней.

Вследствие того, что клинические признаки, возникающие у больного в острой стадии, неспецифические, а также длительного периода латентной фазы, во время которой клинические признаки могут отсутствовать полностью, лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции чрезвычайно важна. При этом для отдельных контингентов, в частности, для новорожденных и взрослых, она различается. Кроме того, существуют особенности при выявлении ВИЧ-инфекции у доноров крови или ее компонентов. Важно также отметить необходимость лабораторной составляющей при оказании медицинской помощи лицам, инфицированным ВИЧ. Поскольку ВИЧ-инфекция является неизлечимым заболеванием, значимость лабораторных исследований сложно переоценить.

Распространенность ВИЧ, смертельный характер этого заболевания, особенности передачи возбудителя явились основанием для обозначения круга

лиц, обязанных проходить Медицинское освидетельствование на ВИЧ-инфекцию в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами.

Медицинское освидетельствование на ВИЧ-инфекцию

Показания к обследованию

Обязательному медицинскому освидетельствованию на ВИЧ-инфекцию в соответствии с СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции» подлежат:

- доноры крови, плазмы крови, спермы и других биологических жидкостей, тканей и органов, а также беременные в случае забора абортной и плацентарной крови для производства биологических препаратов при каждом взятии донорского материала;
- врачи, средний и младший медицинский персонал центров по профилактике и борьбе со СПИД, учреждений здравоохранения, специализированных отделений и структурных подразделений учреждений здравоохранения, занятые непосредственным обследованием, диагностикой, лечением, обслуживанием, а также проведением судебно-медицинской экспертизы и другой работы с лицами, инфицированными ВИЧ, имеющие с ними непосредственный контакт; медицинские работники в стационарах (отделениях) хирургического профиля при поступлении на работу и при периодических медицинских осмотрах;
- врачи, средний и младший медицинский персонал лабораторий, которые осуществляют обследование населения на ВИЧ-инфекцию и исследование крови и биологических материалов, полученных от лиц, инфицированных ВИЧ при поступлении на работу и при периодических медицинских осмотрах;
- научные работники, специалисты, служащие и рабочие научно-исследовательских учреждений, предприятий (производств) по изготовлению медицинских иммунобиологических препаратов и других организаций, работа которых связана с материалами, содержащими ВИЧ при поступлении на работу и при периодических медицинских осмотрах;
- лица при призыве на военную службу, поступающие на военную службу (приравненную службу) по контракту, поступающие в военно-учебные заведения (учебные военные центры, военные кафедры, факультеты военного обучения) при призыве, поступлении на службу, при поступлении в военно-учебные заведения;
- иностранные граждане и лица без гражданства при обращении за получением разрешения на гражданство, вида на жительство, патента или разрешения на работу в Российской Федерации, разрешения о временном пребывании, при въезде на территорию Российской Федерации иностранных граждан на срок более 3-х месяцев, лица, обращающиеся за получением статуса беженца, либо лица, ищущие убежища.

Показания для обследования на ВИЧ/СПИД в целях улучшения качества диагностики ВИЧ-инфекции

К таким категориям относятся больные с хотя бы одним из следующих клинических проявлений:

- лихорадящие более 1 месяца;
- имеющие увеличение лимфоузлов двух и более групп свыше 1 месяца;
- с диареей, длящейся более 1 месяца;
- с необъяснимой потерей массы тела на 10 и более процентов;
- с затяжными, рецидивирующими и возвратными пневмониями или пневмониями, не поддающимися обычной терапии;
- с затяжными и рецидивирующими гнойно-бактериальными, паразитарными заболеваниями, сепсисом;
- с подострым энцефалитом и слабоумием у ранее здоровых лиц;
- с волосистой лейкоплакией языка;
- с хроническими и рецидивирующими бактериальными, грибковыми и вирусными заболеваниями кожи и слизистых, в том числе с рецидивирующей пиодермией;
- женщины с хроническими воспалительными заболеваниями женской репродуктивной системы неясной этиологии.

Больные с подозрением или подтвержденным диагнозом:

- наркомания (с парентеральным путем введения наркотиков);
- заболевания, передающиеся половым путем;
- саркома Капоши;
- лимфома мозга;
- Т-клеточный лейкоз;
- легочный и внелегочный туберкулез;
- острые и хронические гепатиты В и С;
- заболевание, обусловленное цитомегаловирусом;
- генерализованная или хроническая форма инфекции, обусловленная вирусом простого герпеса;
- рецидивирующий опоясывающий герпес у лиц моложе 60 лет;
- мононуклеоз (через 3 месяца после начала заболевания);
- пневмоцистоз (пневмонии);
- токсоплазмоз (центральной нервной системы);
- криптококкоз (внелегочного);
- криптоспоридиоз;
- изоспороз;
- гистоплазмоз;
- стронгилоидоз;
- кандидоз пищевода, бронхов, трахеи или легких;
- глубокие микозы;
- атипичные микобактериозы;
- прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия;
- анемии различного генеза.

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции включает определение АТ к ВИЧ, АГ ВИЧ, РНК ВИЧ, провирусной ДНК ВИЧ и мониторинг течения заболевания и эффективности терапии (определение концентрации РНК ВИЧ, иммунного статуса, оценка устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам и определение тропизма ВИЧ, фармакогенетические исследования).

Материал для исследования

- Плазма крови (ЭДТА или цитрат Na) – обнаружение и определение концентрации РНК ВИЧ;
- Сыворотка крови – обнаружение АГ ВИЧ и АТ к ВИЧ, обнаружение и определение концентрации РНК ВИЧ;
- цельная кровь или лейкоциты крови (ЭДТА или цитрат Na) – обнаружение ДНК и РНК ВИЧ;
- сухие пятна крови – обнаружение РНК и ДНК ВИЧ.

Лабораторная диагностика играет решающее значение в постановке диагноза ВИЧ-инфекции, которая в стандартном варианте заключается в обнаружении в сыворотке крови АТ к ВИЧ и АГ вируса методами ИФА или ИХЛА с последующим подтверждением положительных результатов методом ИБ.В настоящее время для диагностики используются наборы ИФА/ИХЛА четвертого поколения, позволяющие выявлять одновременно р24 АГ и суммарные АТ к ВИЧ, в то время как тесты третьего поколения позволяли определять только АТ.

При оценке результатов определения р24 АГ и АТ к ВИЧ в первые недели после заражения, когда концентрация АГ вируса слишком мала для обнаружения, а АТ к ВИЧ еще не выработаны (период серологического окна), отрицательный результат исследования не свидетельствует однозначно об отсутствии вируса. У отдельных лиц период серологического окна может затянуться на несколько месяцев, поэтому при наличии данных, свидетельствующих о контакте обследуемого с инфицированными ВИЧ, рекомендуют проведение повторных исследований через 2-3 месяца. Ложноотрицательные результаты выявления АТ к ВИЧ могут быть получены также в терминальной стадии болезни, характеризующейся тяжелым поражением иммунной системы с глубоким нарушением процесса образования антител.

Положительный результат, полученный методом ИФА/ИХЛА, указывает на вероятность заражения ВИЧ-инфекцией, но иногда этот результат может быть ложноположительным при наличии у пациента ряда хронических заболеваний – онкологических, аллергических, аутоиммунных, а также во время беременности и вскоре после проведенной вакцинации.

В случае получения положительного результата исследование повторяется еще два раза и выполняется с помощью того же набора реагентов. В случае получения суммарно двух положительных результатов сыворотка пациента отправляется в референсную лабораторию, где для подтвержде-

ния результата проводится исследование образца методом ИФА при использовании набора реагентов другого производителя. Если получен отрицательный результат, то сыворотка тестируется с помощью третьего набора реагентов. При получении положительного результата сыворотка анализируется методом ИБ. В случае получения положительного результата ИБ пациент направляется к врачу-инфекционисту уполномоченной медицинской организации, которой обычно является центр по профилактике и борьбе со СПИД. При получении отрицательного или сомнительного результата при проведении ИБ биологический образец рекомендуется проанализировать методом ИФА для обнаружения р24 антигена ВИЧ или методом ПЦР-РВ для обнаружения РНК/ДНК ВИЧ.

Для выявления лиц, инфицированных ВИЧ, могут использоваться быстрые тесты (тесты, которые могут быть проведены без специального оборудования, и результат может быть получен в течение 1 часа). Тесты могут применяться: для обследования беременных женщин с неизвестным ВИЧ-статусом, в случае возникновения аварийных ситуаций, при скрининговых обследованиях во время проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий, при тестировании целевых групп населения во время эпидемиологических исследований. Каждое исследование с помощью быстрых тестов должно сопровождаться параллельным тестированием с помощью ИФА, ИХЛА, ИБ или направлением пациента на обследование этими методами. Выдача заключения о наличии или отсутствии ВИЧ-инфекции только на основании результатов быстрого теста не допускается.

Диагностика ВИЧ-инфекции у новорожденных и детей раннего возраста

Показания к обследованию

Показанием к обследованию у новорожденных и детей до 18 месяцев является ВИЧ-инфекция у матери.

Материал для исследования

- Плазма крови (ЭДТА или цитрат Na) – обнаружение РНК ВИЧ;
- цельная кровь или лейкоциты крови (ЭДТА или цитрат Na) – обнаружение ДНК и РНК ВИЧ;
- сухие пятна крови – обнаружение РНК и ДНК ВИЧ.

Диагностика ВИЧ-инфекции у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, затруднена до 18 месяцев, поскольку в этот период времени в их крови присутствуют материнские АТ к ВИЧ. Это не позволяет использовать стандартный подход, основанный на определении специфических АТ. В этих случаях используют молекулярно-биологические методы, позволяющие выявлять фрагменты генома ВИЧ в крови на ранних сроках инфицирования. Было показано, что у большинства инфицирован-

ных детей провирусная ДНК ВИЧ может быть выявлена в первом месяце жизни и практически у всех к шестому месяцу. В случае подозрения на внутриутробное заражение анализ на наличие РНК/ДНК ВИЧ с помощью ПЦР-РВ выполняется в первые 48 часов жизни ребенка (для исследования нельзя использовать пуповинную кровь) и в возрасте 14-21 дня. Первое плановое тестирование для обнаружения РНК/ДНК ВИЧ проводится через 2 недели после окончания приема АРВ препаратов (обычно в возрасте 1,5-2 месяцев). При получении положительного результата немедленно должно быть проведено второе исследование, выполненное на повторно забранном образце крови. В случае получения отрицательного результата второе плановое исследование проводится в возрасте 4-6 месяцев. Получение двух отрицательных результатов исследования (в случае отсутствия грудного вскармливания) свидетельствует против наличия у ребенка ВИЧ-инфекции; получение двух положительных результатов исследования является лабораторным подтверждением диагноза ВИЧ-инфекции.

Выявление ВИЧ-инфицированных лиц в службе донорства

Показания к обследованию

Донорство крови и ее компонентов, органов и тканей, семенных клеток.

Материал для исследования

- Сыворотка крови – обнаружение АТ к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и АГ ВИЧ р24;
- плазма крови (ЭДТА или цитрат Na) – обнаружение РНК ВИЧ.

Донорская кровь в обязательном порядке подвергается лабораторному тестированию для обнаружения возбудителей гемотрансмиссивных инфекций, в том числе ВИЧ. В ходе исследования образца крови донора с помощью методов ИФА/ИХЛА осуществляется определение наличия АТ к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и АГ ВИЧ р24. Первое исследование выполняется однократно. При получении положительного результата анализ методами ИФА/ИХЛА повторяется дважды, и в случае получения еще хотя бы одного положительного результата, донорский материал забраковывается, а образец отправляется на исследование в референсную лабораторию. Молекулярно-биологические исследования, выявляющие генетический материал (РНК, ДНК) возбудителей, проводятся параллельно с исследованиями для выявления маркеров ВИЧ, ВГВ и ВГС. Такие исследования могут быть выполнены в единичной постановке или в формате мини-пула, размер которого определяется производителем наборов реагентов. Использование молекулярно-биологических методов позволяет сократить период так называемого «окна», периода, когда человек уже инфицирован, однако АГ ВИЧ и специфические АТ присутствуют в организме больного в недостаточном количестве для обнаружения.

Пулирование образцов донорской крови проводится с целью сокращения стоимости тестирования донорской крови, а также для повышения

производительности лаборатории. Однако необходимо понимать, что эта процедура снижает диагностическую чувствительность выполняемых исследований и повышает риск получения отрицательного результата для образцов, имеющих низкую концентрацию возбудителей. Поэтому необходимо стремиться к уменьшению размера мини-пулов при тестировании биологических образцов, полученных от доноров плазмы крови, а также проводить тестирование короткоживущих компонентов крови доноров в индивидуальном порядке.

РНК ВИЧ является оптимальным маркером для тестирования донорской крови в период серологического окна, так как появляется в крови раньше всех остальных (в среднем опережая антиген р24 на 5 дней) и быстро достигает максимальной концентрации. Преимуществом этого маркера является возможность его концентрации из большого объема плазмы крови, а также возможность одновременного тестирования других возбудителей гемотрансмиссивных инфекций.

В случае получения положительного результата при тестировании мини-пула для обнаружения любого возбудителя (ВИЧ, ВГС, ВГВ) необходимо каждый образец, входивший в данный мини-пул, двукратно исследовать в индивидуальном порядке.

Индивидуальные образцы, в которых при расшифровке обнаружен положительный результат выявления одного из маркеров, должны быть забракованы. В случае получения отрицательного результата для всех индивидуальных образцов крови результат тестирования мини-пула расценивается как ложноположительный, и доноры признаются годными для кроводачи.

Для выявления РНК ВИЧ применяют МАНК (ПЦР-РВ, ТМА, NASBA). Для исследования донорской крови должны использоваться наборы реагентов, аналитическая чувствительность которых составляет 500 копий/мл при тестировании индивидуальных образцов. При тестировании донорской крови в формате мини-пула должны использоваться наборы реагентов, чувствительность которых должна быть выше указанной пропорционально размеру пула, то есть, если мини-пул состоит из 10 индивидуальных образцов, то использовать можно набор реагентов с чувствительностью не ниже 50 копий/мл.

Мониторинг течения заболевания у ВИЧ-инфицированных пациентов

Определение концентрации РНК ВИЧ (вирусной нагрузки) в плазме крови проводится:

- до начала лечения: для оценки прогноза течения заболевания, принятия решения о начале АРВ терапии и/или для измерения стартового значения вирусной нагрузки непосредственно перед началом приема лекарственных препаратов;
- в процессе лечения: для определения эффективности проводимой АРВ

терапии;

- у беременных ВИЧ-инфицированных женщин за 4 недели до предполагаемых родов для принятия решения о проведении кесарева сечения.

Материал для исследования

- Плазма крови (ЭДТА или цитрат Na) – количественное определение РНК ВИЧ.

После постановки диагноза ВИЧ-инфекции в России пациентов регистрируют в Центре по профилактике и борьбе со СПИДом по месту жительства. При постановке на учет проводится первичное обследование, целью которого является подтверждение диагноза, определение стадии ВИЧ-инфекции, выявление вторичных заболеваний, определение наличия показаний к АРВ лечению, химиопрофилактике и лечению вторичных заболеваний. При первичном обследовании выявляют имеющиеся у больного сопутствующие заболевания, которые могут осложнить течение ВИЧ-инфекции. Из лабораторных показателей при первичном обследовании оценивают:

- общий анализ крови;
- биохимический анализ крови;
- общий анализ мочи;
- маркеры вирусных гепатитов В и С, сифилиса;
- уровень CD4+ и CD8+ лимфоцитов;
- концентрацию РНК ВИЧ.

В дальнейшем проводятся повторные плановые обследования, частота которых зависит от стадии заболевания. Цель планового обследования – определение стадии болезни и скорости ее прогрессирования.

В основе развития СПИДа лежит, в первую очередь, разрушение Т-лимфоцитов, несущих CD4-рецепторы. В связи с этим проведение диагностики и наблюдение за прогрессированием заболевания невозможно без контроля субпопуляции Т-хелперов. Концентрация Т-лимфоцитов – чрезвычайно переменный показатель. Достоверно значимым отличием в уровне CD4+ лимфоцитов между двумя исследованиями считают отличие более чем на 30% для абсолютных значений и более чем на 3% для относительных значений. В целом, снижение числа клеток CD4+ (абсолютное и относительное) обнаруживается у лиц, инфицирование которых произошло не менее года назад. С другой стороны, на ранних стадиях инфекции нередко оказывается резко повышенным число CD8+ лимфоцитов (Т-супрессоров) как в периферической крови, так и в увеличенных лимфоузлах.

При развитии у пациента СПИДа в большинстве случаев наблюдается сниженное общее число CD4+ лимфоцитов, тогда как абсолютное значение содержания CD8+ лимфоцитов остается в пределах нормы. Соответственно, резко снижается соотношение CD4+/CD8+.

Вирусная нагрузка (концентрация РНК ВИЧ в плазме крови) считается основным лабораторным показателем для оценки скорости прогрессирования ВИЧ-инфекции. Накоплен огромный опыт, показывающий четкую

зависимость риска прогрессирования от концентрации РНК ВИЧ в плазме крови. Прогноз заболевания неблагоприятен в том случае, если ее концентрация РНК ВИЧ превышает 100 000 копий/мл.

В ходе исследований было показано, что АРТ не только улучшает состояние ВИЧ-инфицированного, уменьшая концентрацию вируса в крови и других органах и тканях организма, но и значительно снижает риск передачи возбудителя. В случае недетектируемой вирусной нагрузки больной становится практически незаразным. Поэтому в настоящее время АРВ-терапия рассматривается не только как лечебное, но и как противоэпидемическое средство. Современные клинические рекомендации указывают на необходимость как можно более раннего начала лечения ВИЧ-инфицированных на любых стадиях болезни с помощью АРВ препаратов.

У пациентов, находящихся на АРВ терапии, проводят те же исследования, что при диспансерном наблюдении до начала лечения, однако частота проведения некоторых исследований меняется:

- абсолютное и процентное содержание CD4+ и CD8+ лимфоцитов (каждые 12 недель лечения);
- концентрация РНК ВИЧ в плазме крови (через 4 и 12 недель от начала лечения, затем каждые 12 недель);
- общий (клинический) анализ крови (каждые 12 недель лечения);
- общий анализ мочи (каждые 12 недель лечения).

Из лабораторных критериев оценки эффективности лечения наиболее информативными считаются уровень CD4+ лимфоцитов и вирусная нагрузка. В среднем за первый год лечения у пациентов, не получавших раньше АРВ-препаратов, число CD4+ лимфоцитов увеличивается примерно на 50-150 клеток/мкл. Отсутствие повышения числа CD4+ лимфоцитов более чем на 50 клеток/мкл в течение первого года лечения свидетельствует об иммунологической неэффективности лечения.

Вирусная нагрузка – самый ранний показатель успеха или неудачи лечения, который почти на месяц опережает изменения числа CD4+ лимфоцитов. Для определения концентрации РНК ВИЧ используются наборы реагентов с использованием метода ПЦР-РВ, bDNA (разветвленной ДНК) и NASBA. В Российской Федерации в настоящее время наиболее широко распространены наборы, основанные на методе ПЦР. С целью улучшения воспроизводимости получаемых результатов рекомендуется проводить исследования вирусной нагрузки у конкретного пациента с использованием наборов реагентов одного формата и одного производителя.

В случае эффективной АРВ терапии должно происходить снижение вирусной нагрузки. Статистически значимым изменением вирусной нагрузки считают изменение более чем в 3 раза или более чем на 0,5 lg. Первое исследование концентрации вируса после начала терапии необходимо провести через 4-8 недель. Оптимальным снижением вирусной нагрузки в ответ на терапию считают снижение на 1,5-2,0 lg через 4 недели лечения. У боль-

шинства ВИЧ-инфицированных пациентов с эффективной терапией достичь полной вирусной супрессии (менее 50 копий РНК ВИЧ/мл) обычно удается на 12-24 неделе лечения. Если вирусная нагрузка однажды снизилась до неопределяемого уровня, а затем проведенное дважды измерение с интервалом 4-8 недель показало, что она вновь возросла до определяемых значений, существует риск вирусологической неэффективности лечения. Чаще всего это свидетельствует о развитии лекарственной устойчивости ВИЧ и требует скорейшего изменения схемы лечения. Небольшие подъемы вирусной нагрузки от неопределяемого уровня до 50-200 копий/мл («всплески») могут регистрироваться и без развития устойчивых вариантов вируса, но, тем не менее, это должно стать поводом для обсуждения с пациентом вопросов своевременного приема антиретровирусных препаратов. Любой «всплеск» необходимо устранить в течение 4 недель.

Определение лекарственной устойчивости ВИЧ

Показания к обследованию

Исследование определения лекарственной устойчивости ВИЧ рекомендуется проводить:

- ВИЧ-инфицированным лицам при неэффективности АРВ-терапии, если нет других явных причин неэффективности лечения (нарушение приема препаратов, нарушение всасывания препарата, сопутствующие или недавно перенесенные инфекционные заболевания, недавняя вакцинация);
- ВИЧ-инфицированным лицам в период острой инфекции перед началом АРВ-терапии, если заражение ВИЧ произошло от партнера с неэффективной АРВ-терапией.

Тест не рекомендуется проводить:

- после перевода пациента на новую схему АРВ терапии;
- если значение вирусной нагрузки более 500 копий/мл, но менее 1000 копий/мл, то получение результата анализа не гарантировано;

Материал для исследования

- Плазма крови (ЭДТА или цитрат Na), сухие пятна крови.

Внедрение АРВ препаратов в практику лечения ВИЧ-инфекции позволило значительно увеличить продолжительность и улучшить качество жизни пациентов. Однако возникновение лекарственно-устойчивых штаммов ВИЧ – одна из основных причин неэффективности АРВ терапии.

Быстрое развитие устойчивости обусловлено высокой скоростью репликации ВИЧ, а также очень большой частотой ошибок репликации, совершаемых обратной транскриптазой вируса. Это приводит к частому появлению мутаций и постоянному образованию новых вариантов вируса даже в отсутствие лечения. Под давлением АРВ препаратов происходит селекция

устойчивых вариантов вируса, которые начинают активно реплицироваться, занимая доминирующее положение. Первый индикатор развития лекарственной устойчивости – увеличение вирусной нагрузки у пациента на фоне приема АРВ препаратов. При сохранении прежней схемы терапии ВИЧ-инфекция продолжает прогрессировать. Для оптимальной модификации схемы лечения необходимо знать профиль устойчивости вируса у пациента.

Основным методом определения лекарственной устойчивости ВИЧ в России и в мире является выявление специфических мутаций устойчивости в генах ВИЧ, которые являются мишенями для современных АРВ препаратов (гены обратной транскриптазы, протеазы, интегразы) методом определения нуклеотидной последовательности (секвенирования) генома ВИЧ.

Результатом исследования лекарственной устойчивости ВИЧ с помощью генотипического подхода является список выявленных мутаций в геноме вируса, приводящих к фенотипическим изменениям, которые выражаются в способности вируса к репликации в присутствии АРВ препаратов. На основании этого подбирается комбинация препаратов для наиболее эффективной терапии.

Для проведения интерпретации результатов секвенирования используют списки известных мутаций резистентности или формализованные алгоритмы виртуального фенотипирования. Данные алгоритмы могут быть включены в программное обеспечение наборов реагентов для определения лекарственной устойчивости ВИЧ. Однако ввиду постоянного пополнения баз мутаций устойчивости ВИЧ и усовершенствования алгоритмов интерпретации рекомендуется использовать международные открытые базы данных, размещенные в сети Интернет. ВОЗ рекомендует использовать для интерпретации результатов базу данных и алгоритмы Стэнфордского университета (<https://hivdb.stanford.edu/>). Результаты интерпретации представлены в таком виде, что для каждого препарата указана степень резистентности ВИЧ по шкале чувствительности к препарату (потенциально-низкой, низкой, средней или высокой степени).

Исследование лекарственной устойчивости ВИЧ к АРВ препаратам имеет ряд ограничений, которые необходимо учитывать, оценивая результаты исследования и проводя его интерпретацию:

- наборы реагентов для определения резистентности ВИЧ выявляют только доминантные варианты вируса. Минорные варианты, составляющие менее 20% от общей популяции вируса в крови, и варианты, которые сохраняются в «скрытых резервуарах», могут иметь мутации устойчивости, но не обнаруживаться.
- характер выявленной лекарственной устойчивости касается только тех препаратов, которые пациент принимал на момент исследования, либо прием которых был прекращен за 1-4 недели до тестирования. Поэтому при выборе схемы лечения важно учитывать не только выявленные в настоящий момент мутации, но и то, какие АРВ препараты пациент

принимал в прошлом, каковы были результаты предыдущих тестов определения резистентности, поскольку лекарственно-устойчивые варианты ВИЧ могут сохраняться в резервуарах длительное время.

- после отмены АРВ терапии вновь появляется и размножается вирус дикого типа (так как жизнеспособность и репликативная активность вируса дикого типа выше). Обычно восстановление популяции вируса дикого типа происходит в течение 4 недель, хотя этот период зависит от используемых препаратов. Поэтому в случае неэффективности АРВ терапии взятие крови для определения лекарственной устойчивости ВИЧ необходимо произвести до отмены препарата либо в течение 4 недель после отмены. Если неэффективная схема терапии меняется, то взятие крови для исследования необходимо провести до начала новой схемы терапии.

Определение тропизма ВИЧ

Показание к обследованию

- Назначение в составе АРВ терапии препаратов из класса ССR5-антагонисты.

Материал для исследования

- Плазма крови (ЭДТА или цитрат Na);
- цельная кровь или лейкоциты крови (ЭДТА или цитрат Na);
- сухие пятна крови.

Проникновение ВИЧ в клетки человека сопровождается взаимодействием белка вируса gp120 с рецептором CD4 и одним из клеточных корецепторов: ССR5 или СХСR4. Соответственно различают вирусы трех типов: обладающих тропностью к рецептору ССR5 – R5-тропные вирусы, обладающих тропностью к рецептору СХСR4 – X4-тропные вирусы, и вирусы, обладающие двойной тропностью. Маравирик, являющийся антагонистом корецептора ССR5, эффективно блокирует размножение вируса, использующего данный корецептор в ходе проникновения в клетку. Однако активность препарата маравирик ограничивается R5-тропными вирусами, он не эффективен против X4-тропных, а также R5X4-тропных вирусов. Поэтому перед его назначением необходимо определить тропизм ВИЧ у пациента. Для определения вирусного тропизма в Российской Федерации используют генотипический подход, основанный на секвенировании РНК или ДНК ВИЧ. Показано, что тропизм вируса во многом определяется аминокислотной последовательностью гипервариабельной петли V3, расположенной в гене белка оболочки. Полученную в результате секвенирования нуклеотидную последовательность петли V3 анализируют с помощью специальных алгоритмов и оценивают вероятность той или иной тропности вируса. Для проведения оценки тропности ВИЧ на основании нуклеотидной последовательности обычно используют открытые онлайн ресурсы, например, базу данных «geno2pheno» (<https://www.geno2pheno.org/>).

Результатом определения тропизма ВИЧ является установление тропности: CCR5 или CXCR4. В случае, если вирус является R5-тропным, назначение препарата класса CCR5-антагонистов возможно. Если же вирус является X4-тропным или имеет двойную тропность (R5X4), использование препаратов класса CCR5-антагонистов запрещено вследствие их неэффективности.

Анализ для определения тропизма ВИЧ назначают после принятия решения о смене АРВ терапии (после доказанной неэффективности существующей схемы, в том числе методом определения мутаций устойчивости ВИЧ) и переходе на класс ингибиторов CCR5. Вследствие высокой изменчивости ВИЧ такой тест необходимо провести непосредственно перед назначением CCR5-антагониста. Тест также может быть рекомендован в случае вирусологической неэффективности применяемого препарата маравирок.

Фармакогенетические исследования

Показания к обследованию

- Назначение в составе АРВ терапии препарата абакавир.

Материал для исследования

- цельная кровь или лейкоциты крови (ЭДТА или цитрат Na);
- сухие пятна крови;
- щечные соскобы.

В настоящее время одним из интенсивно развивающихся направлений диагностики стал поиск прогностических генетических маркеров течения ВИЧ-инфекции и ответа на АРВ-терапию. Выявлено несколько десятков полиморфизмов генов человека, определяющих степень восприимчивости и быстроту прогрессии ВИЧ-инфекции (например, мутации в гене рецептора CCR5), вероятность развития аллергических реакций в ответ на АРВ препараты (HLA В*5701), скорость метаболизма лекарственных препаратов, влияющая на эффективность терапии и степень выраженности побочных эффектов (полиморфизмы генов *CYP2D6*, *CYP2C9* и др.). На сегодняшний день в Российской Федерации для использования в клинической практике рекомендовано единственное фармакогенетическое исследование – обнаружение аллеля главного комплекса гистосовместимости HLA В*5701, как доказанной причины развития у пациентов реакции гиперчувствительности при приеме АРВ препарата абакавир. Реакция гиперчувствительности к абакавиру – мультиорганный клинический синдром, обычно обнаруживаемый в течение первых 6 недель после начала приема этого препарата. Такая реакция была обнаружена, в среднем, у 5-8% пациентов, участвовавших в клинических исследованиях. При прекращении приема абакавира все симптомы реакции гиперчувствительности пропадают в течение нескольких дней, однако повторное назначение и прием абакавира может вызвать острый тяжелый приступ реакции гипер-

чувствительности, который может носить угрожающий жизни характер.

Практически все истинные реакции гиперчувствительности при приеме препарата абакавир обусловлены генетической предрасположенностью – носительством аллеля HLA B*5701 главного комплекса гистосовместимости I класса. Пациентам-носителям аллеля HLA B*5701 APB терапия, в состав которой входит абакавир, строго противопоказана. Указанный тест проводят однократно, результаты должны быть занесены в медицинскую карту больного. Для обнаружения аллеля HLA B*5701 используют метод ПЦР-РВ, ПЦР с последующим плавлением амплифицированных фрагментов ДНК.

Обнаружение у пациента аллеля HLA B*5701 не означает 100% вероятность развития реакции гиперчувствительности при лечении абакавиром. Примерно у 33-50% пациентов, имеющих аллель HLA B*5701, реакции гиперчувствительности при приеме абакавира не развивается.

Обнаружение аллеля HLA B*5701 у пациентов, имеющих положительный опыт приема абакавира в течение более чем 2-х месяцев, не считается показанием к отмене препарата.

Отсутствие HLA B*5701 не гарантирует отсутствие не связанных с абакавиром форм реакции гиперчувствительности.

Исследование выявления аллеля HLAB*5701 рекомендуется:

- при начале терапии вне зависимости от схемы APB терапии;
- при продолжении терапии, если планируется переход на абакавир-содержащие схемы.

В случае если пациент имеет положительный опыт приема абакавира в течение более 2-х месяцев, в проведении теста на наличие аллеля HLA B*5701 нет необходимости.

Материал для исследования

- Плазма крови (ЭДТА или цитрат Na) – выявление РНК ВИЧ в качественном формате, определение концентрации РНК ВИЧ, определение лекарственной устойчивости ВИЧ, определение тропизма вируса;
- цельная кровь или лейкоциты крови (ЭДТА или цитрат Na) – выявление ДНК ВИЧ в качественном формате, определение тропизма вируса; фармакогенетические исследования;
- сухие пятна крови – выявление РНК или ДНК ВИЧ в качественном формате, определение лекарственной устойчивости ВИЧ, определение тропизма вируса, фармакогенетические исследования;
- щечные соскобы – фармакогенетические исследования.

Литература

1. Д. Бартлетт, Д. Галлант, П. Фам Клинические аспекты ВИЧ-инфекции 2009-2010. – М.: Р.Валент, 2010. – 490 с.
2. Бобкова М.Р., Грезина Л.А., Дементьева Н.Е. и соавт. Клинические рекомендации «Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ» // Лабораторная служба. – 2017. – №3. – С. 217-237.

3. Бюллетень №43 ВИЧ-инфекция, 2018. Федеральный научно-методического центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.
4. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение./ Под общ.ред. В.В. Покровского. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2000. – 496 с.
5. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство / под ред. акад. РАМН В.В. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 608 с.
6. Кириченко А.А., Киреев Д.Е., Лопатухин А.Э и соавт. Уровень и структура лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов без опыта приема антиретровирусных препаратов с момента начала применения антиретровирусной терапии в Российской Федерации // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2019. – № 2. – С. 75-83.
7. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е. и соавт. Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987-2015 гг. // Терапевтический архив. – 2017. – № 11. – С. 44-49.
8. Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Поляков А.Н.и соавт. Первый опыт применения стандартизированной генотипической методики определения тропизма ВИЧ // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – №6. – С.46-48.
9. Рекомендации по лечению ВИЧ-инфекции и связанных с ней заболеваний, химио-профилактике заражения ВИЧ // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2018. – №4.- С. 5-85.
10. Методические рекомендации МР 3.1.5.0075/1-13 «Надзор за распространением штаммов ВИЧ резистентных к антиретровирусным препаратам». (утв. Главным санитарным врачом Российской Федерации 20 августа 2013 г.).
11. Постановление Правительства РФ от 31 декабря 2010 г. №1230 «Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии».
12. СанПиН 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции» (редакция от 21.07.2016).
13. Becerra J., Bildstein L., Gach J. Recent Insights into the HIV/AIDS Pandemic // Microb Cell. – 2016. – Vol.3. – P.:451-475.
14. Chang J., Tarasova T., Shanmugam V. et al. Performance of an early infant diagnostic test, AmpliSens DNA-HIV-FRT, using dried blood spots collected from children born to human immunodeficiency virus-infected mothers in Ukraine // J Clin Microbiol. -2015. – Vol.53. – P.3853-3858.
15. Chudy M., Weber-Schehl M., Pichl L. et al. Blood screening nucleic acid amplification tests for human immunodeficiency virus Type 1 may require two different amplification targets // Transfusion. – 2012. – Vol.52. – P:431-439.
16. Chudy M., Kress J., Halbauer J. et al. Risk Minimization Measures for Blood Screening HIV-1 Nucleic Acid Amplification Technique Assays in Germany // Transfus Med Hemother. – 2014. – Vol. 41. – P.45-51.
17. Clutter D., Jordan M., Bertagnolio S., Shafer R. HIV-1 drug resistance and resistance testing // Infect Genet Evol. -2016. – Vol. 46. – P.292-307.
18. Cornett J., Kirn T. Laboratory diagnosis of HIV in adults: a review of current methods // Clin Infect Dis. -2013. – Vol. 57. – P.712-718.
19. GBD 2017 HIV collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and mortality of HIV, 1980-2017, and forecasts to 2030, for 195 countries and territories: a systematic analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study 2017 // Lancet HIV. 2019 Aug 19. pii: S2352-3018(19)30196-1. doi: 10.1016/S2352-3018(19)30196-1.

20. Gullett J., Nolte F. Quantitative nucleic acid amplification methods for viral infections // Clin Chem. – 2015. – Vol. 61. – P.72-78.
21. Hemelaar J. Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic // J Infect. – 2013. – Vol. 66. – P. 391-400.
22. Iyidogan P., Anderson K. Current perspectives on HIV-1 antiretroviral drug resistance // Viruses. – 2014. – Vol. 24. – P.4095-4139.
23. Maartens G., Celum C., Lewin S. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention // Lancet. – 2014. – Vol 384. – P.258-271.
24. Poveda E., Paredes R., Moreno S. et al. Update on clinical and methodological recommendations for genotypic determination of HIV tropism to guide the usage of CCR5 antagonists // AIDS Rev. – 2012. – Vol. 14. – P.208-217.
25. Shaw G., Hunter E. HIV transmission // Cold Spring Harb Perspect Med. – 2012. – Nov 1;2(11). pii: a006965. doi: 10.1101/cshperspect.a006965.
26. Sollis K., Smit P., Fiscus S. et al. Systematic review of the performance of HIV viral load technologies on plasma samples // PLoS One. 2014 Feb 18;9(2):e85869. doi: 10.1371/journal.pone.0085869.
27. Vandekerckhove L., Wensing A., Kaiser R. et al. European Consensus Group on clinical management of tropism testing. European guidelines on the clinical management of HIV-1 tropism testing // Lancet Infect Dis. – 2011. – Vol.11. – P.394-407.
28. Wensing A., Calvez V., Günthard H. et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1 // Top Antivir Med. – 2017. – Vol.24. – P.132-133.
29. Wesolowski L., Wroblewski K., Bennett S. et al. Nucleic acid testing by public health referral laboratories for public health laboratories using the U.S. HIV diagnostic testing algorithm // J Clin Virol. – 2015. – Vol.65. – P.6-10.
30. WHO recommendations on the diagnosis of HIV infection in infants and children. WHO, 2010.

■ Вирусные гепатиты

Вирусные гепатиты – группа инфекционных заболеваний печени, возбудителями которых являются гепатотропные вирусы, принадлежащие к различным семействам. Причиной возникновения вирусных гепатитов являются 5 основных вирусов (табл. 1).

Таблица 1

Вирусы, вызывающие вирусные гепатиты

Возбудитель	Семейство	Геном	Основной механизм передачи	Хроническое течение
Вирус гепатита А (ВГА, HAV)	<i>Picornaviridae</i>	РНК, 7500 нк	фекально-оральный	нет
Вирус гепатита В (ВГВ, HBV)	<i>Hepadnaviridae</i>	ДНК, 3200 пн	парентеральный	у детей – 30-90%; у взрослых – 5-10%
Вирус гепатита С (ВГС, HCV)	<i>Flaviviridae</i>	РНК, 9500 нк	парентеральный	40-80%
Вирус гепатита D (ВГД, HDV)	<i>Deltavirus (viroid)</i>	РНК, 1700 нк	парентеральный	коинфекция – редко, суперинфекция – часто
Вирус гепатита Е (ВГЕ, HEV)	<i>Hepeviridae</i>	РНК, 7500 нк	фекально-оральный	редко (у лиц с иммунодефицитом)

В зависимости от ведущих путей передачи, все вирусы гепатитов условно подразделяются на две основные группы: энтеральные – вирусы гепатитов А и Е и парентеральные – вирусы гепатитов В, С и D. Для энтеральных гепатитов характерен в основном фекально-оральный механизм передачи, эти вирусы вызывают острый гепатит, в редких случаях наблюдается хронический гепатит Е (ХГЕ) у лиц с иммунодефицитом (пациенты, находящиеся на иммуносупрессивной терапии, ВИЧ-инфицированные и др.). Профилактика энтеральных гепатитов сводится к улучшению санитарно-гигиенических условий труда и быта. Вирусы гепатитов В, С и D передаются преимущественно через кровь (ее компоненты) и способны вызвать не только острый, но и хронический вирусный гепатит.

Ранее к гепатотропным вирусам относили вирус гепатита G (HGV) и вирус ТТ (TTV), однако проведенные исследования не установили четкой взаимосвязи между данными инфекционными агентами и развитием гепатита.

По клиническим признакам заболевания и характерным изменениям биохимических показателей крови врач может поставить диагноз, но этиологическую расшифровку заболевания можно провести только с помощью специальных методов исследования, определяющих наличие возбудителя или маркеров вируса гепатита. Помимо установления факта инфицированности тем или иным возбудителем методы этиологической диагностики используются для решения следующих задач:

- мониторинг течения заболевания;
- установление наличия показаний к противовирусному лечению;
- выбор оптимальной тактики лечения;
- мониторинг эффективности проводимого лечения;
- оценка эффективности проведенной терапии;
- пред- и поствакцинальный скрининг при проведении вакцинопрофилактики гепатитов А и В.

Методы этиологической диагностики гепатитов разделяют на прямые (выявление АГ или ДНК/РНК вируса) и косвенные (выявление специфических АТ к соответствующему вирусу). Методы обнаружения и количественной оценки АГ вирусов гепатита и АТ к ним применяют для выявления инфицированных лиц, определения различных стадий инфекции и прогноза течения заболевания, для оценки напряженности иммунитета при вакцинопрофилактике гепатитов А и В. АГ и АТ выявляют с помощью различных иммунохимических методов (ИФА, ИХЛА и др.) в пробах сыворотки крови.

Для выявления и количественной оценки ДНК/РНК вирусов применяют молекулярно-биологические методы, наиболее распространенным из которых является ПЦР. Исследование проводят в сыворотке или плазме крови.

Молекулярно-биологические методы позволяют:

- выявить в исследуемом материале ДНК или РНК возбудителя (качественный формат);
- оценить вирусную нагрузку (количественный формат);

- определить генотип возбудителя;
- выявить клинически значимые мутации вируса.

Гепатит А

Гепатит А – острое инфекционное заболевание, сопровождающееся поражением печени, возбудителем которого является РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Picornaviridae*. Вирус гепатита А представлен шестью генотипами (I-VI) и одним серотипом. По сравнению с другими представителями рода энтеровирусов ВГА более устойчив к физико-химическим воздействиям. При температуре плюс 20 °С вирус сохраняется в почве в течение 60 дней. С понижением температуры длительность сохранения жизнеспособности вируса значительно увеличивается, в питьевой воде при температуре плюс 4 °С инфекционные свойства сохраняются более года.

ГА – антропонозная инфекция, при которой единственным источником вируса является человек. Передача ВГА осуществляется посредством фекально-орального механизма, который реализуется всеми путями, характерными для кишечных инфекций: водным, пищевым и контактно-бытовым. Имели место случаи посттрансфузионного ГА и вспышки инфекции среди больных гемофилией, получавших препараты факторов свертывания, а также среди потребителей инъекционных наркотиков.

Инкубационный период колеблется от 7 до 35 дней (в редких случаях достигает 50 дней). ВГА в наибольшей концентрации выявляется в фекалиях больного в последние 7-10 дней инкубации и в первые дни болезни, соответствующие по продолжительности преджелтушному периоду, т.е. от 2 до 14 дней (чаще 5-7 дней). С появлением желтухи у большинства больных выделение вируса прекращается или его концентрация в фекалиях значительно сокращается, и лишь в отдельных случаях выделение продолжается в течение 2-3 недель. Длительная виремия может наблюдаться у лиц с иммунодефицитом. Хроническое течение заболевания не установлено. После перенесенного ГА формируется стойкий пожизненный иммунитет.

Показания к обследованию

- Пациенты с признаками ОГ;
- лица, контактировавшие с больным (контактные лица);
- перед проведением вакцинопрофилактики ГА.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление АТ к вирусу гепатита А и РНК ВГА.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Anti-HAV IgM, маркер острой фазы заболевания, начинают вырабатываться в конце инкубационного периода, синтезируются у всех инфицированных ВГА независимо от течения заболевания, циркулируют в крови в среднем в течение 3-4 месяцев.

Anti-HAV IgG, маркер перенесенного ГА или поствакцинального иммунитета, у инфицированных ВГА начинают синтезироваться в конце первой – начале второй недели болезни, в большинстве случаев сохраняются пожизненно, обеспечивая стойкий иммунитет.

РНК ВГА появляется в крови в середине инкубационного периода и является первым диагностическим маркером ГА, который можно выявить в крови пациента. После появления симптомов болезни вирусемия продолжается в среднем в течение 60 дней. У некоторых пациентов период вирусемии заканчивается к моменту появления симптомов заболевания. Обнаружение РНК ВГА является наиболее информативным для выявления заболевших среди контактных лиц вследствие раннего появления этого маркера и его высокой концентрации в инкубационном периоде.

Показания к применению различных лабораторных исследований и особенности интерпретации их результатов у разных категорий обследуемых

Диагностика ОГ

Проводится исследование на наличие anti-HAV IgM. Диагноз устанавливается при выявлении anti-HAV IgM в сыворотке крови пациента с подозрением на гепатит А. Альтернативным способом диагностики инфекции является обнаружение РНК ВГА.

Обследование контактных лиц

В лабораториях, оснащенных оборудованием для проведения молекулярно-биологических и иммунохимических исследований, у контактных лиц целесообразно выполнять исследования по обнаружению в сыворотке крови РНК ВГА и anti-HAV IgG.

Обнаружение в сыворотке (плазме) крови контактного лица РНК ВГА вне зависимости от наличия/отсутствия anti-HAV IgG свидетельствует о заболевании ГА.

Отсутствие в сыворотке (плазме) крови РНК ВГА при отсутствии anti-HAV IgG свидетельствует о восприимчивости контактного лица к вирусу и является показанием для проведения вакцинопрофилактики.

Отсутствие в сыворотке (плазме) крови РНК ВГА при наличии anti-HAV IgG свидетельствует о ранее перенесенной инфекции или эффективной вакцинации.

В лабораториях, не имеющих оборудования для проведения молекулярно-биологических исследований, у контактных лиц необходимо выполнять исследования по обнаружению в сыворотке крови anti-HAV IgM и anti-HAV IgG.

Обнаружение в сыворотке крови контактного лица anti-HAV IgM при отсутствии anti-HAV IgG свидетельствует о его заболевании ГА. Необходимо учитывать низкое положительное предсказательное значение anti-HAV IgM у здоровых контактных лиц, что обусловлено высокой частотой ложноположительных результатов (5-10%).

Обнаружение в сыворотке крови контактного лица anti-HAV IgM при наличии anti-HAV IgG свидетельствует о текущем либо недавно перенесенном ГА.

Отсутствие в сыворотке крови anti-HAV IgM при отсутствии anti-HAV IgG свидетельствует о восприимчивости контактного лица к ВГА и является показанием для проведения вакцинопрофилактики.

Отсутствие в сыворотке крови anti-HAV IgM при наличии anti-HAV IgG свидетельствует о ранее перенесенной инфекции или эффективной вакцинации.

Обследование перед проведением вакцинопрофилактики гепатита А

Проводится исследование для обнаружения anti-HAV IgG.

При обнаружении в сыворотке крови anti-HAV IgG вакцинопрофилактика не проводится ввиду наличия иммунитета к ВГА.

Отсутствие в сыворотке крови anti-HAV IgG является показанием для проведения вакцинопрофилактики.

Гепатит В

Гепатит В – широко распространенное инфекционное заболевание человека, вызываемое ДНК-содержащим ВГВ, относящимся к семейству *Нepadnaviridae*. Вирус представлен 9 генотипами, которые обозначают латинскими прописными буквами от А до I. Их распределение имеет географические и этнические особенности. Генотипы ВГВ ассоциируются с прогнозом течения и исходами заболевания, эффективностью противовирусного лечения, а также путями и факторами передачи инфекции.

Характерными свойствами ВГВ являются его чрезвычайно высокие инфекционность и устойчивость к действию факторов окружающей среды. В цельной крови и ее препаратах ВГВ сохраняется годами. ВГВ чувствителен к воздействию растворителей липидов, инактивируется при кипячении в течение 30 мин.

Основными источниками инфекции являются больные хроническим гепатитом В (ХГВ), заражение ВГВ от больных острым гепатитом В (ОГВ) составляет 4-6%. Носительство ВГВ целесообразно рассматривать как стадию (фазу) течения ХГВ, а не как отдельную нозологическую форму.

Заражение ВГВ происходит при непосредственном попадании вируса в кровь (при парентеральных вмешательствах, гемотрансфузиях), через слизистые оболочки, повреждения кожных покровов (при половых контактах, тесном бытовом контакте), а также от инфицированной матери ребенку (перинатальная передача). Нарушение санитарно-противоэпидемического режима в медицинских и немедицинских организациях при наличии риска распространения ГВ, использование низкокочувствительных методов обнаружения ВГВ при тестировании препаратов крови могут приводить к случаям групповой заболеваемости ГВ.

Инкубационный период ОГВ в среднем составляет 75 дней, но может варьировать от 30 до 180 дней. Острый период чаще всего протекает в безжелтушной или других труднодиагностируемых клинических формах. Манифестные формы ОГВ встречаются приблизительно в 1% случаев при перинатальном инфицировании, в 10% случаев – при инфицировании в детстве (в возрасте от 1 до 5 лет) и в 30% случаев – при инфицировании в более позднем возрасте (старше 5 лет). Фульминантный гепатит у детей встречается редко, но наблюдается у 0,5-1% взрослых с ОГВ, показатель летальности при нем – 20-33%.

Частота формирования ХГВ зависит от возраста инфицирования (у новорожденных – до 90%, у детей от 1 до 4 лет – 30-50%, у взрослых – 5-10%). Критерием хронической инфекции принято считать выявление HBeAg в сыворотке крови в течение 6 и более месяцев.

В настоящее время согласно рекомендациям EASL выделяют пять клинически значимых фаз инфекции, вызванной ВГВ (табл. 2). Критерии лабораторной диагностики вариантов инфекции, вызываемой ВГВ, представлены в таблице 3.

Таблица 2

Классификация фаз инфекции, вызванной ВГВ

Классификация EASL (2017)	Ранее принятая классификация
HBeAg-положительная хроническая инфекция	Стадия иммунной толерантности
HBeAg-положительный хронический гепатит	HBeAg-положительный ХГВ
HBeAg-негативная хроническая инфекция	Неактивное носительство вируса
HBeAg-негативный хронический гепатит	HBeAg-негативный ХГВ
HBeAg-негативная фаза	Скрытый ГВ

Наиболее тяжелыми исходами ХГВ являются цирроз печени, который развивается вследствие прогрессирующего фиброза, и гепатоцеллюлярная карцинома.

HBeAg-положительная хроническая инфекция свойственна инфицированным детям, рожденным от матерей, инфицированных ВГВ (до 85% случаев). Данная фаза инфекции характеризуется следующими признаками:

- выявление HBeAg в сыворотке крови в течение 6 месяцев и более;
- концентрация ДНК ВГВ в плазме крови более 10^7 МЕ/мл;
- отсутствие повышенных значений активности АСТ и АЛТ в период наблюдений;
- наличие в сыворотке крови HBeAg;
- отсутствие или минимальные признаки выраженного поражения печени при гистологическом исследовании.

Диагностическими критериями HBeAg-положительного хронического гепатита являются:

- выявление в сыворотке крови HBeAg;
- выявление HBeAg в сыворотке крови в течение 6 месяцев и более;

- концентрация ДНК ВГВ в сыворотке крови 10^4 - 10^7 МЕ/мл;
- постоянное или периодическое повышение уровней АЛТ и АСТ;
- признаки умеренного или выраженного поражения печени по результатам гистологического исследования.

НВеАg-негативная хроническая инфекция – персистенция инфекции, вызванной ВГВ, без подтвержденных воспалительно-некротических изменений в печени.

К диагностическим критериям НВеАg-негативной хронической инфекции относят:

- выявление НВsАg в сыворотке крови в течение 6 месяцев и более;
- концентрация ДНК ВГВ в плазме крови менее 2 000 МЕ/мл;
- отсутствие в сыворотке НВеАg при наличии анти-НВе;
- отсутствие патологических значений активности АСТ и АЛТ в период наблюдений;
- отсутствие признаков выраженного поражения печени при гистологическом исследовании.

Диагностическими критериями НВеАg-негативного хронического гепатита являются:

- отсутствие в сыворотке крови НВеАg;
- выявление НВsАg в сыворотке крови в течение 6 месяцев и более;
- концентрация ДНК ВГВ в сыворотке крови более 2000 МЕ/мл;
- высокий уровень АЛТ;
- признаки умеренного или выраженного поражения печени по результатам гистологического исследования.

Таблица 3

Критерии лабораторной диагностики различных вариантов инфекции, вызванной ВГВ

Маркер	ОГВ	Перенесенный ГВ	Иммунитет после вакцинации	НВеАg-позитивная хроническая инфекция	НВеАg-позитивный хронический гепатит	НВеАg-негативный хронический гепатит	НВеАg-негативная хроническая инфекция
НВsАg	+	-	-	+	+	+	+
a-НВs	-	+	+	-	-	-	-
a-НВc IgG	+	+	-	+	+	+	+
a-НВc IgM	+	-	-	-	-	-	-
НВеАg	+/-	-	-	+	+	-	-
a-НВе	-/+	+	-	-	-	+	+
ДНК ВГВ	+	-	-	++	+	+	+/-
Активность АЛТ	повышена	норма	норма	норма	повышена	повышена/ норма	норма

Необходимо помнить, что хроническая инфекция, вызванная ВГВ – динамический процесс, для которого характерна относительно быстрая смена фаз заболевания, в связи с чем необходим постоянный контроль за

лабораторными и клиническими показателями пациента.

Этиологическая лабораторная диагностика включает определение поверхностного (HBsAg) и е-антигенов (HBeAg), АТ к ним (анти-HBs, анти-HBe), АТ к белку нуклеокапсида (анти-HBc IgM, анти-HBc IgG), выявление и количественное определение ДНК ВГВ.

Обнаружение поверхностного антигена (HBsAg) вируса гепатита В

HBsAg – белок поверхностной оболочки вируса, является основным маркером, используемым для скрининга определенных групп населения с целью выявления лиц, инфицированных ВГВ. HBsAg обнаруживается в сыворотке крови в среднем через 4-6 недель от момента инфицирования (в зависимости от аналитической чувствительности используемых для диагностики наборов реагентов) и является первым маркером при ГВ. Быстрое исчезновение HBsAg в первые дни появления симптомов ОГ может предшествовать развитию фульминантного гепатита. Исчезновение HBsAg в течение трех месяцев после перенесенного ОГВ свидетельствует о выздоровлении. Длительное выявление HBsAg в сыворотке крови (свыше 6 месяцев после появления первых клинических симптомов заболевания) свидетельствует о хронизации инфекции.

Показания к обследованию

- Пациенты с признаками ОГ;
- беременные;
- доноры;
- реципиенты крови и ее компонентов;
- дети, рожденные от матерей, инфицированных ВГВ;
- персонал организаций, осуществляющих заготовку, переработку, хранение и обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов;
- персонал отделений гемодиализа, пересадки почки, сердечно-сосудистой и легочной хирургии, гематологии;
- персонал клиничко-диагностических и биохимических лабораторий;
- персонал хирургических, урологических, акушерско-гинекологических, офтальмологических, отоларингологических, анестезиологических, реаниматологических, стоматологических, инфекционных, гастроэнтерологических стационаров, отделений и кабинетов поликлиник (в т. ч. процедурных, прививочных), персонал станций и отделений скорой помощи;
- пациенты центров и отделений гемодиализа, пересадки почки, сердечно-сосудистой и легочной хирургии, гематологии;
- больные с любой хронической патологией (туберкулез, онкология, психоневрология и др.), в т. ч. с поражением печени;
- пациенты наркологических и кожно-венерологических диспансеров, кабинетов, стационаров, исключая больных с дерматомикозами и чесоткой;
- пациенты перед поступлением на плановые хирургические вмешательства,

- опекаемые и персонал учреждений с круглосуточным пребыванием детей или взрослых (дома ребенка, детские дома, специнтернаты, школы-интернаты и др.);
- контактные в очагах ГВ (острых и хронических форм);

Выявление HBsAg включает исследования с использованием двух наборов реагентов – скринингового и подтверждающего. Скрининговые наборы характеризуются высокой чувствительностью и относительно низкой специфичностью и используются для первичного исследования образцов. Пробы, давшие положительный результат в скрининге, должны быть обязательно исследованы с использованием подтверждающих наборов, которые характеризуются относительно низкой чувствительностью и высокой специфичностью. Положительными образцами («HBsAg – обнаружен») считаются только те образцы, для которых получен положительный результат в исследовании, проведенном с использованием подтверждающего набора. Наборы реагентов различаются по своей аналитической чувствительности и способности выявлять мутантные формы HBsAg.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований у разных категорий обследуемых

Диагностика ОГ и проведение скрининга

- Выявление в сыворотке крови HBsAg свидетельствует об инфицированности ВГВ;
- отсутствие в сыворотке крови HBsAg свидетельствует об отсутствии инфицирования ВГВ. Необходимо учитывать ситуации, когда, несмотря на присутствие вируса, HBsAg не удается детектировать;
- начальный период заболевания (период «серологического окна»);
- заболевание вызвано мутантным по HBsAg штаммом ВГВ (при использовании для диагностики наборов реагентов, неспособных выявлять такие мутантные формы вируса);
- скрытая форма гепатита В («occult» hepatitis B) – HBsAg в сыворотке инфицированных не выявляется, ДНК ВГВ – выявляется в плазме крови или тканях печени.

Пациентам с подозрением на ГВ, у которых отсутствует HBsAg, рекомендуется проводить исследования для выявления ДНК ВГВ.

Обследование перед проведением вакцинопрофилактики гепатита В

- Отсутствие в сыворотке крови HBsAg и анти-HBs является показанием для проведения вакцинопрофилактики;
- отсутствие в сыворотке крови HBsAg при наличии анти-HBs свидетельствует о наличии иммунитета к ВГВ в результате перенесенной ранее инфекции или эффективной вакцинации. Подобный результат исследования является показанием для количественного определения анти-HBs для оценки напряженности иммунитета;
- наличие в сыворотке крови HBsAg при отсутствии анти-HBs свидетельствует об инфицированности ВГВ.

Определение концентрации HBsAg вируса гепатита В

Для оценки эффективности противовирусной терапии ХГВ в настоящее время используется определение концентрации ДНК ВГВ. Однако прогнозирование устойчивого ответа на лечение по-прежнему остается проблематичным. Одним из подходов к решению этой задачи является определение концентрации HBsAg в процессе противовирусной терапии. Известно, что рецидив виремии после прекращения лечения обусловлен сохранением транскрипционно активной кольцевой ковалентно замкнутой ДНК ВГВ в гепатоцитах, уровень которой коррелирует с концентрацией HBsAg. В ряде исследований показано, что динамика снижения HBsAg связана с вероятностью достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО*) при лечении ХГВ ПЕГ-интерфероном (ПЕГ-ИНФ). Количественное определение уровня HBsAg рекомендовано EASLk использованию для мониторинга терапии инфекции.

Показания к обследованию

Больные ХГВ до начала противовирусной терапии ПЕГ-ИНФ, на 12 и 24 неделях лечения. Больные ХГВ, проходящие терапию аналогами нуклеозидов/нуклеотидов.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

При лечении ПЕГ-ИНФ HBeAg-положительных пациентов, заболевание которых вызвано ВГВ, принадлежащим к генотипам А или D:

- отсутствие снижения уровня HBsAg на 12 неделю свидетельствует о неэффективности проводимой терапии, требуется изменение тактики лечения;
- значение уровня HBsAg более 20000 МЕ/мл на 24 неделю лечения свидетельствует о неэффективности проводимой терапии, требуется изменение тактики лечения;

При лечении ПЕГ-ИНФ HBeAg-положительных пациентов, заболевание которых вызвано ВГВ, принадлежащим к генотипам В или С:

- значение уровня HBsAg более 20000 МЕ/мл на 12 или 24 неделю лечения свидетельствует о неэффективности проводимой терапии, требуется изменение тактики лечения;

При лечении ПЕГ-ИНФ HBeAg-негативных пациентов, заболевание которых вызвано ВГВ, принадлежащим к генотипу D:

- снижение уровня HBsAg на 12 неделе лечения свидетельствует об эффективности проводимой терапии позволяет прогнозировать достижение устойчивого ответа;
- при отсутствии снижения уровня HBsAg на 12 неделе лечения, необходимо провести исследование уровня вирусной нагрузки. Снижение уровня вирусной нагрузки на $2 \log_{10}$ по сравнению со значением до начала терапии, свидетельствует об эффективности проводимой терапии позволяет прогнозировать достижение устойчивого ответа. Отсутствие снижения

* УВО – для пациентов с исходным диагнозом «HBeAg-положительный ХГВ» – HBeAg-сероконверсия, концентрация ДНК ВГВ <2000 МЕ/мл через 12 месяцев после окончания терапии, для пациентов с исходным диагнозом «HBeAg-негативный ХГВ» – концентрация ДНК ВГВ <2000 МЕ/мл и нормальный уровень АЛТ через 6 месяцев после окончания терапии.

уровня вирусной нагрузки на $2 \log_{10}$ свидетельствует о неэффективности проводимой терапии, требуется изменение тактики лечения.

При лечении пациентов аналогами нуклеозидов/нуклеотидов отсутствие HBsAg в сыворотке крови является оптимальной конечной точкой терапии, так как указывает на значительное подавление репликации вируса.

Обнаружение антител к HBsAg вируса гепатита В (анти-HBs)

АТ к HBsAg ВГВ (анти-HBs) вырабатываются в ответ на присутствие HBsAg в крови пациента. Анти-HBs – маркер перенесенного гепатита В или поствакциционного иммунитета. Выявление анти-HBs у больных ОГВ в стадии ранней реконвалесценции (обычно через 2-6 недель после того, как перестает обнаруживаться HBsAg) свидетельствует о выздоровлении пациента и приобретении им иммунитета к ВГВ. Выявление анти-HBs в период ОГ может предшествовать развитию фульминантного гепатита. Анти-HBs не выявляются у больных ХГВ. Анти-HBs обычно персистируют длительно, могут сохраняться пожизненно.

Показания к обследованию

Лица перед проведением вакцинопрофилактики гепатита В (одновременно с исследованием на наличие HBsAg).

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

См. «Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований/Проведение скрининга перед вакцинопрофилактикой гепатита В» при обнаружении HBsAg вируса гепатита В».

Определение концентрации антител к HBsAg вируса гепатита В (анти-HBs)

Количественное определение анти-HBs используется для оценки напряженности иммунитета к ВГВ и выбора тактики ревакцинации.

Показания к обследованию

- Лица после завершения полного курса вакцинопрофилактики ГВ для оценки результатов иммунизации и выбора тактики ревакцинации. Исследование проводится через 1-2 месяца после введения последней дозы вакцины;
- лица, у которых при проведении скрининга перед вакцинопрофилактикой ГВ выявлены анти-HBs для оценки напряженности иммунитета.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

- от 0 до 10 мМЕ/мл – концентрация анти-HBs ниже защитного уровня, рекомендуется вакцинация/ревакцинация*;
- от 10 до 100 мМЕ/мл – низкая концентрация анти-HBs, рекомендуется проведение повторного исследования через 1 год;
- более 100 мМЕ/мл – высокая концентрация анти-HBs, рекомендуется

* Данные представлены как рекомендации German Permanent Revaccination Commission, также рекомендуется учитывать критерии ревакцинации, указанные в паспорте применяемой вакцины.

проведение повторного исследования через 5 лет.

Обнаружение антител класса IgM к Core-антигену ВГВ (анти-НВс IgM)

Core-антиген вируса гепатита В (НВсAg) – белок внутренней оболочки (нуклеокапсида) ВГВ. Данный белок синтезируется в цитоплазме зараженной клетки, не проникает через клеточную мембрану, вследствие чего обнаруживается в ткани печени с помощью иммуногистохимических методов исследования и не обнаруживается в сыворотке крови. Большую диагностическую значимость имеют АТ к НВсAg (анти-НВс), обнаружение которых отмечают в крови после появления первых клинических симптомов заболевания. Маркером острой инфекции являются анти-НВс IgM, которые обнаруживаются в крови через 1-2 недели после появления НВсAg, достигают максимальных значений через 2-3 месяца с момента обнаружения НВсAg, после чего их уровень начинает снижаться до недетектируемого (могут выявляться в течение 6 месяцев после заражения). Повторное появление во время течения ХГВ делает анти-НВсIgM ненадежным индикатором недавней первичной ВГВ-инфекции.

Показания к обследованию

- Пациенты с признаками ОГ;
- лица, у которых выявлен НВсAg.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

- Выявление в сыворотке крови анти-НВс IgM свидетельствует об ОГВ;
- отсутствие в сыворотке крови анти-НВс IgM свидетельствует об отсутствии острой фазы заболевания.

Обнаружение антител класса IgG к Core-антигену ВГВ (анти-НВсIgG)

Анти-НВс IgG являются маркером как перенесенной, так и хронической инфекции, вызванной ВГВ. Анти-НВс IgG появляются практически одновременно с анти-НВс IgM, достигают максимальной концентрации через 5-6 месяцев после появления НВсAg и сохраняются пожизненно.

Показания к обследованию

Лица, у которых выявлен НВсAg.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Интерпретацию результатов обнаружения анти-НВс IgG в тестируемом образце проводят только с учетом выявления других маркеров ГВ.

Обнаружение промежуточного антигена вируса гепатита В (НВеAg) и анти-НВе антител

НВеAg – белок, который синтезируется на матрице Core-гена (гена, ко-

дирующего HBeAg), но не участвует в формировании вирусной частицы. Выявление HBeAg в сыворотке крови свидетельствует об активной репликации ВГВ. При острой инфекции, которая завершается выздоровлением, HBeAg появляется в сыворотке крови вслед за поверхностным белком вируса и перестает обнаруживаться до исчезновения HBsAg. При хронической инфекции HBeAg может обнаруживаться в крови в течение длительного времени (HBeAg-позитивный ХГВ).

Анти-HBe обнаруживаются в сыворотке крови после исчезновения HBeAg и продолжают персистировать многие годы. Их появление является признаком благоприятного течения заболевания и свидетельствует о снижении активности вирусной репликации. Необходимо учитывать тот факт, что могут встречаться штаммы ВГВ, у которых возникающие мутации приводят к прекращению синтеза или к снижению уровня продукции HBeAg. У пациентов, инфицированных такими штаммами, также детектируется анти-HBe при отсутствии HBeAg.

Показания к обследованию

- Лица, у которых выявлен HBsAg;
- повторное обследование лиц, у которых выявлен HBeAg (исследование проводится раз в 6 или 12 месяцев).

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

- Выявление в сыворотке крови HBeAg при отсутствии анти-HBe свидетельствует об активной репликации ВГВ;
- отсутствие в сыворотке крови HBeAg при наличии анти-HBe, как правило, является признаком благоприятного течения заболевания и свидетельствует о снижении активности вирусной репликации.

Обнаружение ДНК вируса гепатита В

Выявление ДНК ВГВ в плазме крови является доказательством инфицированности ВГВ. ДНК ВГВ появляется в крови в среднем через месяц после инфицирования и является первым диагностическим маркером ВГВ. HBsAg появляется в крови заболевшего позже. Проведение исследования для выявления ДНК ВГВ позволяет:

- проводить раннюю диагностику ОГВ;
- выявлять скрытые формы ВГВ;
- выявлять мутантные по HBsAg штаммы ВГВ.

Показания к обследованию

- Пациенты с признаками ОГ;
- пациенты с диагнозом «Гепатит неясной этиологии»;
- больные ХГВ на 48 неделе лечения аналогами нуклеозидов/нуклеотидов для оценки достижения вирусологического ответа;
- доноры крови, органов и тканей;

- контактные лица в очаге ГВ.

Обнаружение ДНК ВГВ выполняют методом ПЦР (качественный формат). Для мониторинга противовирусной терапии необходимо использовать так называемые ультрачувствительные тесты, аналитическая чувствительность которых составляет 10 МЕ/мл и выше.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Диагностика ГВ

- Выявление в плазме крови ДНК ВГВ свидетельствует об инфицированности ВГВ;
- отсутствие в плазме крови ДНК ВГВ свидетельствует об отсутствии инфекции, вызванной ВГВ.

Мониторинг эффективности противовирусного лечения ХГВ

Лечение ХГВ проводят с применением аналогов нуклеозидов/нуклеотидов. Вирусологический ответ на лечение оценивают на 48 неделе приема препаратов.

- Отсутствие ДНК ВГВ в плазме крови свидетельствует о достижении вирусологического ответа;
- выявление в плазме крови ДНК ВГВ свидетельствует, что вирусологический ответ не достигнут.

Количественное определение ДНК вируса гепатита В

Определение концентрации ДНК ВГВ в крови (вирусная нагрузка) при ГВ измеряется в международных единицах на мл (МЕ/мл), в условиях калибровки с использованием признанного международного стандарта, или в копиях/мл. Соотношение между копией/МЕ в наборах реагентов разных производителей различно – от 1,5 до 8 (в среднем – 5). В настоящее время границей между высокой и низкой вирусной нагрузкой ВГВ принято считать 2 000 МЕ/мл (10 000 копий/мл).

Определение концентрации ДНК ВГВ в крови используется для определения различных стадий ХГВ и мониторинга эффективности противовирусной терапии. Поскольку при лечении ХГВ полная эрадикация вируса практически невозможна, целью лечения является снижение риска развития неблагоприятных исходов заболевания (цирроза печени или гепатоцеллюлярной карциномы), что может быть достигнуто при стойком подавлении репликации вируса. Именно поэтому основным критерием оценки ответа на лечение является уровень ДНК ВГВ в крови, который отражает активность репликации вируса в клетках печени.

Показания к обследованию

- Лица, у которых выявлен HBsAg;
- больные ХГВ до начала противовирусной терапии и во время ее проведения;

- больные ХГВ, находящиеся на противовирусной терапии, с подозрением на вирусологический рецидив, тестируются через 1 мес после нарастания концентрации ДНК ВГВ без отмены противовирусного препарата.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований у разных категорий обследуемых

Диагностика инфицированных ВГВ

Вирусная нагрузка в плазме крови в совокупности с другими маркерами позволяет определить стадию заболевания при хронизации инфекции, вызванной ВГВ.

Мониторинг эффективности противовирусного лечения ХГВ

Количественное исследование ДНК ВГВ в плазме крови является обязательным исследованием до начала и в процессе противовирусного лечения для оценки его эффективности. При использовании препаратов с высоким генетическим барьером (энтекавир, тенофовир) необходимо проводить исследование уровня ДНК ВГВ каждые 3-4 месяца в течение первого года терапии и каждые 6-12 месяцев, начиная со второго года лечения. В зависимости от полученных результатов (табл. 4) терапия выбранным препаратом продолжается, или проводится корректировка схемы лечения.

Таблица 4

Ответ на лечение аналогами нуклеозидов/нуклеотидов*

Тип ответа на лечение	Результаты количественной оценки уровня ДНК ВГВ в плазме крови
Первичная резистентность (устойчивость)	Снижение концентрации ДНК ВГВ менее чем на $1 \log_{10}$ от начального уровня на 12 неделе лечения
Вирусологический ответ	Отсутствие ДНК ВГВ (рекомендуемая чувствительность качественного теста 10 МЕ/мл)
Частичный вирусологический ответ	Наличие ДНК ВГВ на 12 месяце лечения, при условии, что концентрация ДНК ВГВ снизилась более чем на $1 \log_{10}$ от начального уровня
Вирусологический рецидив	Подтвержденное возрастание концентрации ДНК ВГВ более чем на $1 \log_{10}$ от минимального уровня, достигнутого в процессе лечения
Устойчивый вирусологический ответ вне лечения	Снижение уровня ДНК ВГВ до значений менее 2000 МЕ/мл в течение 12 месяцев после окончания курса терапии

Определение генотипа вируса гепатита В

На основании филогенетического анализа ВГВ подразделяют на 9 генотипов, обозначаемых латинскими буквами от А до I. Для каждого генотипа характерна определенная географическая и этническая зона распространения. Генотип А превалирует в Северной Америке, Западной Европе и Центральной Африке. Генотипы В и С характерны для Китая и стран Юго-Восточной Азии. Генотип D доминирует в странах Восточной Европы, Средиземноморья и Индии, генотип Е – в Западной Африке, генотип F – в Южной Америке и на Аляске, а генотип H – среди жителей Центральной Америки. Распространенность генотипа G изучена недостаточно.

* По EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection.

В ходе исследований, проведенных в Центральном НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, на территории Российской Федерации была выявлена циркуляция трех генотипов ВГВ – D, A и C. Генотип D доминирует на территории РФ. Вторым по встречаемости является генотип A, причем в Европейской части России его доля составляет в среднем 5%, в Сибирском регионе – в среднем 10-15%, достигая максимума (почти 50%) в Республике Саха (Якутия). Генотип C является эндемичным для коренного населения Чукотского АО, где его доля достигает 25%. В остальных регионах РФ случаи инфекции, вызванные генотипом C ВГВ, являются, как правило, завозными и регистрируются крайне редко.

Заболевания, вызванные различными генотипами ВГВ, могут отличаться по клиническому течению и исходам. ГВ, вызванный вирусом генотипа C, чаще принимает хроническое течение и имеет больший риск трансформации в цирроз печени или гепатоцеллюлярную карциному по сравнению с другими генотипами.

Генотип ВГВ может влиять на эффективность лечения ХГВ препаратами интерферона. Пациенты, инфицированные вирусом генотипа A, значительно лучше отвечают на лечение препаратами интерферона по сравнению с пациентами, инфицированными вирусом других генотипов. Связь между генотипом ВГВ и эффективностью лечения ХГВ аналогами нуклеозидов/нуклеотидов не установлена.

Определение генотипа ВГВ способствует выявлению завозных случаев инфекции, определению прогноза течения и исхода заболевания ГВ и выбору оптимальной тактики лечения ХГВ.

Показания к обследованию

Больные ХГВ

Методы лабораторных исследований

- ПЦР;
- обратная гибридизация с зондами на мембране (LiPA);
- прямое секвенирование.

Материал для исследования

Плазма или сыворотка крови.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Генотип ВГВ, в совокупности с другими клинико-лабораторными данными, учитывается при определении тактики лечения.

Определение мутаций устойчивости вируса гепатита В к противовирусным препаратам

Лекарственная устойчивость (резистентность) – природная или приобретенная способность возбудителя болезни сохранять жизнедеятельность при воздействии на него лекарственных средств. Как правило, лечение ХГВ

проводится с применением аналогов нуклеозидов/нуклеотидов – ингибиторов РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы), которая кодируется Р-геном ВГВ. Аналоги нуклеозидов/нуклеотидов встраиваются в вирусный геном в процессе обратной транскрипции и конкурентно ингибируют вирусную репликацию. Как следствие, вирусная нагрузка у больных ХГВ эффективно снижается. При возникновении некоторых точечных мутаций в Р-гене ВГВ аналоги нуклеозидов/нуклеотидов теряют способность встраиваться в растущую цепь ДНК вследствие конформационного изменения локуса связывания обратной транскриптазы. Мутации лекарственной устойчивости подразделяются на:

- основные (первичные) – мутации, снижающие чувствительность к противовирусному препарату;
- компенсаторные (вторичные) – мутации, которые компенсируют функциональные дефекты активности полимеразы, связанные с появлением первичной мутации.

Мутации устойчивости обозначают по номеру позиции аминокислоты в домене обратной транскриптазы: аминокислота дикого типа указывается слева от номера аминокислоты, вариант мутации устойчивости – справа. Например, M204I – замена метионина, аминокислоты дикого типа, в 204 положении домена обратной транскриптазы на аминокислоту изолейцин, наличие которой в данной позиции связано с возникновением мутации лекарственной устойчивости.

Информация о наличии мутаций лекарственной устойчивости в геноме ВГВ оказывает значительную помощь в выборе препаратов противовирусной терапии и способствует более эффективному лечению заболевания.

Показания к обследованию

Больные ХГВ в определенных случаях перед началом противовирусной терапии и во время приема противовирусных препаратов (табл. 5).

Таблица 5

Критерии назначения исследований для определения устойчивости ВГВ к противовирусным препаратам*

Стадия противовирусной терапии	Характеристика пациента	Назначение исследования
До начала терапии	Пациент лечения ранее не получал	Нет
	Ранее прерванное лечение	Да
	Неудачное лечение	Да
Во время приема препаратов	Первичная резистентность (12 недель ПВТ)	Да*
	Вирусологический рецидив	Да

Материал для исследования

Плазма крови.

Методы лабораторных исследований

В клинической диагностике определение мутаций устойчивости вируса гепатита В к противовирусным препаратам включает ПЦР-амплифика-

* Если пациент сохраняет приверженность к лечению.

цию ревертазного домена Р-гена ВГВ и последующий анализ специфичных нуклеотидных последовательностей методов прямого секвенирования амплифицированного фрагмента. Данный метод способен выявлять мутации устойчивости, если доля популяции вируса с мутацией составляет более 20%. Метод позволяет идентифицировать все мутации, включая дополнительные потенциальные компенсаторные и новые неизвестные.

Метод обратной гибридизации (LiPA) позволяет обнаруживать мутации, когда доля мутантного варианта ВГВ составляет более 5% от общей популяции. Выявляет только известные мутации.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

В результате проведенного исследования врач получает информацию по каждой аминокислотной позиции, связанной с мутацией лекарственной устойчивости, и клиническую интерпретацию результатов исследования:

- ВГВ может быть устойчив к определенному противовирусному препарату, т. е. в ревертазном домене Р-гена ВГВ выявлены основные мутации устойчивости к этому препарату;
- ВГВ может быть чувствителен к противовирусному препарату, т. е. мутации устойчивости не обнаружены;
- у ВГВ возможно возникновение устойчивости к противовирусному препарату, т. е. выявлены только компенсаторные (вторичные) мутации устойчивости к этому препарату, основных мутаций не обнаружено.

Гепатит С

Гепатит С вызывается гепатотропным РНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству *Flaviviridae*. Вирус гепатита С представлен 7 генотипами и 67 субгенотипами.

ГС – антропонозная инфекция. Источником инфекции являются лица, инфицированные ВГС, в том числе находящиеся в инкубационном периоде. Вирус обнаруживается в крови и других биологических жидкостях организма (слезы, слюна, сперма, моча, пот, СМЖ). Инфицирование происходит при попадании вируса в кровь (медицинские и немедицинские парентеральные манипуляции). Одним из основных факторов риска инфицирования ВГС является употребление инъекционных наркотиков. Нарушение санитарно-противоэпидемического режима в медицинских и немедицинских организациях могут приводить к случаям групповой заболеваемости ГС. Риск заражения ГС при гетеросексуальном контакте низкий (около 1%), но возрастает при гомосексуальном – у мужчин, практикующих секс с мужчинами, в особенности при беспорядочных половых связях и коинфекции ВИЧ. Риск передачи вируса от инфицированной матери ребенку во время родов низкий (4-8%), но для детей, рожденных от матерей с коинфекцией ВИЧ достигает 10-25%.

Инкубационный период при ГС колеблется от 14 до 180 дней, чаще

составляя 6-8 недель. Острый период в большинстве случаев протекает бессимптомно, манифестное течение регистрируется не более чем в 30% случаев. Выздоровление (элиминация вируса из организма) после острого гепатита С (ОГС) наблюдается у 20-40% инфицированных, частота хронизации достигает 60-80% с возможным исходом в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному. Критерием хронизации ГС принято считать выявление ВГС более 6 месяцев. Термин «вирусоносители» для инфицированных ВГС не применяется.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление АТ к ВГС, РНК ВГС и Core-антигена ВГС.

Обнаружение антител класса IgM к вирусу гепатита С (anti-HCV IgM)

Выявление anti-HCV IgM в качестве маркера острой инфекции является неинформативным, так как АТ этого класса могут отсутствовать при острой инфекции, появляться после anti-HCV IgG, длительно циркулировать и обнаруживаться при хроническом гепатите С (ХГС).

Обнаружение антител класса IgG к вирусу гепатита С (anti-HCV IgG)

Anti-HCV IgG – основной маркер, используемый для скрининга с целью выявления лиц, инфицированных ВГС. Антитела anti-HCV IgG обнаруживаются в сыворотке крови в среднем через 60-70 дней после момента инфицирования. Наличие АТ этого класса не свидетельствует о продолжающейся репликации вируса и может являться признаком как текущей, так и перенесенной инфекции, т. к. после элиминации ВГС anti-HCV IgG сохраняются в течение многих лет.

Показания к обследованию

- Пациенты с признаками ОГ;
- беременные;
- доноры;
- реципиенты крови и ее компонентов, органов и тканей;
- персонал организаций, осуществляющих заготовку, переработку, хранение и обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов;
- персонал отделений (центров) гемодиализа, трансплантации органов, гематологии;
- персонал клиничко-диагностических лабораторий;
- персонал хирургических, урологических, акушерско-гинекологических, офтальмологических, отоларингологических, анестезиологических, реаниматологических, стоматологических, инфекционных, гастроэнтерологических стационаров, отделений и кабинетов поликлиник (в т. ч. процедурных, прививочных);
- персонал диспансеров, перинатальных центров, станций и отделений скорой помощи, центров медицины катастроф, ФАПов, здравпунктов;

- пациенты центров и отделений гемодиализа, пересадки почки, сердечно-сосудистой и легочной хирургии, гематологии;
- пациенты с хроническими инфекционными и соматическими заболеваниями (онкологические, психоневрологические, туберкулез, ВИЧ-инфекция и др.);
- пациенты наркологических и кожно-венерологических диспансеров, кабинетов, стационаров, исключая больных дерматомикозами и чесоткой;
- пациенты перед поступлением на плановые хирургические вмешательства;
- пациенты перед проведением химиотерапии;
- опекаемые и персонал учреждений с круглосуточным пребыванием детей или взрослых (дома ребенка, детские дома, специнтернаты, школы-интернаты и др.);
- контактные в очагах ХГС;
- лица, находящиеся в местах лишения свободы;
- лица, относящиеся к группам риска по заражению гепатитом С: потребители инъекционных наркотиков и их половые партнеры; лица, оказывающие услуги сексуального характера и их половые партнеры; мужчины, практикующие секс с мужчинами; лица с большим количеством случайных половых партнеров.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Исследование проводят с использованием двух наборов реагентов – скринингового и подтверждающего. Скрининговые наборы обладают высокой чувствительностью и относительно низкой специфичностью и используются для первичного исследования образцов. Положительные в скрининговом тесте образцы должны быть обязательно исследованы с использованием подтверждающих наборов, которые характеризуются относительно низкой чувствительностью и высокой специфичностью. Положительными образцами («anti-HCV IgG – обнаружены») считаются только те образцы, для которых получен положительный результат в подтверждающем тесте. Сомнительные пробы рекомендуется тестировать с использованием нескольких подтверждающих наборов реагентов (не менее двух) различных производителей. В настоящее время для выявления anti-HCV IgG применяются наборы реагентов 3-го поколения, которые позволяют определять АТ к четырем белкам (антигенам) ВГС (Core, NS3, NS4, NS5) и обладают высокой специфичностью и чувствительностью.

В качестве альтернативы могут быть использованы наборы реагентов для выявления спектра АТ к четырем вышеназванным белкам ВГС методом ИФА. Результат считается положительным при выявлении АТ даже к одному из белков.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление в сыворотке крови anti-HCV IgG может свидетельствовать как о текущей, так и о перенесенной инфекции, вызванной ВГС. Необходимо помнить о высокой частоте ложноположительных результатов в

некоторых группах пациентов (беременные, больные с онкологическими заболеваниями и др.). Выявление anti-HCV IgG является показанием для проведения исследования на РНК ВГС.

Необходимо учитывать, что отсутствие в сыворотке крови anti-HCV IgG не всегда свидетельствует об отсутствии текущей инфекции. АТ отсутствуют в периоде «серонегативного окна» и часто не определяются у лиц с иммунодефицитом. Одновременного тестирование на наличие anti-HCV IgG и РНК ВГС рекомендуется следующим группам:

- доноры крови (ее компонентов), органов и тканей, спермы;
- дети в возрасте до 12 месяцев, рожденные от инфицированных вирусом гепатита С матерей;
- дети, рожденные от ВИЧ-инфицированных матерей;
- лица с иммунодефицитом (больные онкологическими заболеваниями, пациенты на гемодиализе, пациенты, находящиеся на лечении иммунодепрессантами, и др.);
- лица, имеющие заболевание печени неясной этиологии;
- пациенты отделений гемодиализа, гематологии и трансплантации, пребывающие в медицинской организации более 1 месяца;
- контактные в очагах острого и хронического ГС.

Обнаружение РНК вируса гепатита С

РНК ВГС обнаруживается в плазме крови в среднем к 10-му дню после заражения и является первым диагностическим маркером ОГС, что позволяет диагностировать заболевание задолго до появления специфических АТ. Выявление РНК ВГС в плазме крови свидетельствует о наличии инфекции, вызванной ВГС.

Показания к обследованию

- Пациенты с положительным результатом обнаружения anti-HCV IgG;
- больные ХГС во время и после окончания противовирусного лечения;
- доноры крови (ее компонентов), органов и тканей, спермы;
- дети в возрасте до 12 месяцев, рожденные от инфицированных вирусом гепатита С матерей;
- дети, рожденные от ВИЧ-инфицированных матерей;
- лица с иммунодефицитом (больные онкологическими заболеваниями, пациенты на гемодиализе, пациенты, находящиеся на лечении иммунодепрессантами, и др.);
- лица, имеющие заболевание печени неясной этиологии;
- пациенты отделений гемодиализа, гематологии и трансплантации, пребывающие в медицинской организации более 1 месяца;
- контактные в очагах острого и хронического ГС.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Диагностика острого гепатита С

Выявление в плазме крови РНК ВГС при отсутствии anti-HCV IgG свидетельствует о ранней стадии заболевания, а также наблюдается у лиц с иммунодефицитом.

Выявление в плазме крови РНК ВГС при наличии anti-HCV IgG свидетельствует о наличии ОГС или ХГС.

Отсутствие в плазме крови РНК ВГС вне зависимости от наличия/отсутствия anti-HCV IgG свидетельствует о том, что клинические проявления ОГ не вызваны ВГС.

Исследования у лиц с выявленными anti-HCV IgG

Выявление в плазме крови РНК ВГС свидетельствует о наличии инфекции, вызванной ВГС.

Отсутствие в плазме крови РНК ВГС может свидетельствовать о перенесенном ГС, однако в ряде случаев возможен ложноположительный результат присутствия anti-HCV IgG. Для исключения текущей инфекции необходимо повторное определение РНК ВГС и anti-HCV IgG через 6 месяцев.

Мониторинг эффективности противовирусного лечения хронического гепатита С

Согласно рекомендациям ВОЗ и Европейской ассоциации по изучению печени, лечение ХГС проводят с применением препаратов прямого противовирусного действия. Выявление РНК ВГС в плазме крови является обязательным через 12 или 24 недели после окончания лечения для оценки его эффективности. Для мониторинга противовирусной терапии необходимо использовать ультрачувствительные тесты, аналитическая чувствительность которых составляет 10-20 МЕ/мл и выше.

При использовании комбинации ПЕГ-ИНФ и рибавирина терапия прекращается или определяется срок ее дальнейшего проведения в зависимости от полученных результатов исследования на наличие РНК ВГС (табл.6).

Таблица 6

Критерии ответа на противовирусное лечение ХГС

Ответ на противовирусное лечение ХГС	Результаты определения РНК вируса гепатита С, ультрачувствительный метод (рекомендуемая чувствительность 10-20 МЕ/мл или выше)
Быстрый вирусологический ответ	Отсутствие РНК ВГС на 4 неделе лечения
Ранний вирусологический ответ	Отсутствие РНК ВГС на 12 неделе лечения
Отсроченный вирусологический ответ	Отсутствие РНК ВГС на 24 неделе лечения
Ответ по окончании лечения	Отсутствие РНК ВГС сразу после окончания лечения
Устойчивый вирусологический ответ	Отсутствие РНК ВГС через 24 недели после окончания лечения

Обнаружение Core-антигена вируса гепатита С (Core-Ag ВГС)

Core-Ag ВГС – белок нуклеокапсида ВГС, выявление которого в сыворотке крови служит доказательством текущей инфекции, вызванной ВГС.

Core-Ag обнаруживается в сыворотке крови через несколько дней после появления РНК, что позволяет диагностировать ОГС в период «серонегативного окна». Существующие диагностические тесты для обнаружения Core-Ag обладают меньшей диагностической чувствительностью по сравнению с тестами для выявления РНК ВГС, однако в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Европейской ассоциации по изучению печени выявление Core-Ag может проводиться в тех случаях, когда исследование на РНК ВГС недоступно.

Показания к обследованию

Подтверждение текущей инфекции, вызванной ВГС, у пациентов с наличием anti-HCV IgG в случаях, когда исследование для обнаружения РНК ВГС недоступно.

Методы лабораторных исследований

В настоящее время доступны наборы реагентов для определения свободного Core-Ag, наборы для выявления свободного и связанного (с антителами) Core-Ag, а также комбинированные наборы, выявляющие одновременно Core-Ag и anti-HCV IgG.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Обнаружение Core-Ag свидетельствует о текущей инфекции, вызванной ВГС. Положительный результат исследования при использовании комбинированных наборов реагентов указывает на наличие в образце сыворотки крови anti-HCV IgG и/или Core-Ag HCV, что может свидетельствовать как о текущей, так и о перенесенной инфекции. Данный результат является показанием для назначения исследования с целью обнаружения РНК ВГС.

Отрицательный результат исследования с использованием комбинированных наборов реагентов указывает на отсутствие в образце сыворотки крови anti-HCV IgG и Core-Ag HCV, что свидетельствует об отсутствии инфицирования ВГС.

Количественное определение РНК вируса гепатита С

Количественное определение РНК ВГС в плазме крови применяется для выбора оптимальной тактики терапии препаратами ПЕГ-ИНФ и рибавирина и мониторинга ее эффективности. Концентрация РНК ВГС (вирусная нагрузка) измеряется в международных единицах на мл плазмы крови (МЕ/мл). В различных исследованиях низкой вирусной нагрузкой принято считать значения менее 400 000-800 000 МЕ/мл. Низкая вирусная нагрузка является независимым фактором, влияющим на достижение устойчивого вирусологического ответа. Пациенты с высокой вирусной нагрузкой до лечения хуже отвечают на противовирусную терапию препаратами интерферона.

Показания к обследованию

Больные ХГС перед началом противовирусной терапии препаратами ПЕГ-ИНФ и рибавирина и на 12-й неделе лечения.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Снижение концентрации РНК ВГС менее чем на $2 \log_{10}$ от начального уровня на 12-й неделе лечения свидетельствует о неэффективности проводимого лечения и служит показанием к прекращению терапии препаратами ПЕГ-ИНФ и рибавирина.

Определение генотипа вируса гепатита С

Согласно современной классификации, ВГС подразделяют на 7 генотипов, каждый из которых, в свою очередь, подразделяется на субтипы. Генотип вируса обозначается арабскими цифрами (1-7), а субтип – строчными латинскими буквами. Генотипы 1, 2 и 3 являются самыми распространенными в мире. Генотип 4 наиболее часто выявляется в Северной Африке, генотип 5 – в Южной Африке, генотип 6 – в Юго-Восточной Азии. Генотип 7 был выделен в Канаде от иммигранта из Центральной Африки. На территории РФ циркулируют 1a, 1b, 3a субтипы ВГС. Также в РФ регистрируются завозные случаи инфекции из стран Северной Африки, прежде всего из Египта (4 генотип) и Юго-Восточной Азии (6 генотип).

Генотип ВГС не влияет на клиническое течение заболевания, но является наиболее важным фактором, от которого зависит эффективность и тактика противовирусного лечения ХГС. При отсутствии риска повторного инфицирования, генотип ВГС определяется однократно. У некоторых пациентов возможно инфицирование несколькими генотипами ВГС. Нужно отметить, что пангенотипические схемы применения препаратов прямого противовирусного действия будут все в большей мере сокращать потребность в генотипировании ВГС перед проведением лечения.

Показания к обследованию

Больные ХГС до начала противовирусной терапии с целью определения тактики лечения.

Методы лабораторных исследований

- ПЦР;
- обратная гибридизация с зондами на мембране (LiPA);
- прямое секвенирование.

Материал для исследования

Плазма или сыворотка крови.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

В зависимости от выявленного генотипа ВГС определяется комбинация противовирусных препаратов и длительность их приема.

Гепатит D

Гепатит Дельта (ГД) – заболевание печени, возбудителем которого является ВГД – РНК-содержащий, гепатотропный вирион (несовершенный вирус), относящийся к семейству *Deltavirus*. ВГД способен к эффективной репликации только в присутствии ВГВ, который обеспечивает ВГД белком поверхностной оболочки – HBsAg.

Пути передачи инфекции аналогичны путям передачи ГВ (парентеральный, половой путь, возможна вертикальная передача).

Инфекция, вызванная ВГД, может протекать в двух формах – коинфекции и суперинфекции. Коинфекцией называется инфекционный процесс, когда происходит одновременное заражение ВГВ и ВГД. Коинфекция носит характер острого тяжелого заболевания с высоким риском развития фульминантного гепатита (до 20%). Суперинфекция – инфекционный процесс, который развивается при заражении больного с хронической формой инфекции, вызванной ВГВ. При суперинфекции в 70-80% случаев развивается цирроз печени. ВГД при ко- и суперинфекции подавляет репликацию ВГВ, поэтому у многих пациентов, инфицированных ВГВ+ВГД, не выявляются ДНК ВГВ и HBeAg.

Пациентов, инфицированных ВГВ, необходимо тестировать на наличие ВГД, поскольку течение болезни, терапевтические подходы и прогноз инфекции, вызванной ВГВ+ВГД, отличаются от таковых при ГВ.

Показания к обследованию

- Больные ОГВ;
- больные с признаками обострения ХГВ.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление РНК ВГД и АТ к ВГД.

Обнаружение антител класса IgM к вирусу гепатита D (anti-HDV IgM)

Anti-HDV IgM – маркер острой фазы заболевания, начинают вырабатываться в конце инкубационного периода, детектируемого уровня достигают в среднем на 10 день болезни, циркулируют в крови в течение 3-4 месяцев.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление в сыворотке крови anti-HDV IgM свидетельствует о коинфекции (суперинфекции) ВГД.

Отсутствие в сыворотке крови anti-HDV IgM может свидетельствовать об отсутствии инфицирования ВГД или о начальном периоде заболевания, когда специфические АТ еще не появились.

Обнаружение антител класса IgG к вирусу гепатита D (anti-HDV IgG)

Anti-HDV IgG – маркер перенесенной коинфекции или хронической суперинфекции ВГД.

Показания к обследованию

- Носители ВГВ;
- больные ХГВ.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление в сыворотке крови anti-HDV IgG может свидетельствовать как о перенесенной коинфекции ВГД, так и о текущей суперинфекции. Выявление anti-HDV IgG является показателем для назначения исследования на наличие РНК ВГД.

Отсутствие в сыворотке крови anti-HDV IgG свидетельствует об отсутствии инфицирования ВГД.

Обнаружение РНК вируса гепатита D

Выявление РНК вируса гепатита D в плазме крови является доказательством инфицированности ВГД. РНК ВГД является первым диагностическим маркером, обнаруживаемым в крови пациента. Специфические АТ появляются на 2-3 недели позже РНК. Обнаружение РНК ВГД является наиболее информативным для выявления инфицированных ВГД.

Показания к обследованию

- Больные ОГВ;
- носители ВГВ;
- больные ХГВ;
- больные ГД во время и после противовирусного лечения.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований*Диагностика ГД*

Выявление в плазме крови РНК ВГД однозначно свидетельствует о коинфекции (суперинфекции) ВГД.

Отсутствие в плазме крови РНК ВГД свидетельствует об отсутствии инфекции, вызванной ВГД.

Мониторинг эффективности противовирусного лечения ГД

В настоящее время не существует рекомендаций по мониторингу эффективности противовирусной терапии инфекции, вызванной ВГД. Результаты исследований показали, что для оценки эффективности терапии ПЕГ-ИНФ целесообразно проводить исследование для обнаружения РНК ВГД в плазме крови в процессе лечения (24-я и 48-я недели) и через 6 месяцев после его завершения (табл. 7).

Таблица 7

Критерии ответа на противовирусное лечение ХГД

Ответ на противовирусное лечение	Результаты определения РНК ВГД, ультрачувствительный метод
Предиктор достижения устойчивого вирусологического ответа	Отсутствие РНК ВГД на 24-й неделе лечения
Ответ по окончании лечения	Отсутствие РНК ВГД сразу после окончания лечения
Устойчивый вирусологический ответ	Отсутствие РНК ВГД через 24 недели после окончания лечения

Определение концентрации РНК вируса гепатита D

Количественное определение РНК ВГD в плазме крови целесообразно проводить в процессе противовирусного лечения для оценки его эффективности. Однако в настоящее время не существует рекомендаций по мониторингу эффективности противовирусной терапии инфекции, вызванной ВГD. По результатам проведенных исследований известно, что динамика снижения уровня РНК ВГD является важным показателем для оценки эффективности терапии ПЕГ-ИНФ. Количественное определение РНК ВГD в плазме крови проводится до начала противовирусного лечения ГD и на 24-й неделе лечения. Вирусная нагрузка при инфекции, вызванной ВГD, измеряется в копиях на мл.

Показания к обследованию

Больные ГD перед началом терапии и на 24-й неделе ее проведения.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Снижение концентрации РНК ВГD менее чем на $3 \log_{10}$ от начального уровня на 24-й неделе лечения свидетельствует о неэффективности проводимого лечения.

Снижение концентрации РНК ВГD более чем на $3 \log_{10}$ от начального уровня на 24-й неделе лечения свидетельствует об эффективности проводимого лечения.

Острый гепатит E

Острый гепатит E – острое заболевание печени с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя. Возбудителем является РНК-содержащий вирус гепатита E (ВГЕ, HEV) ВГЕ, относящийся к роду *Hepatovirus*. В настоящее время хорошо изучены четыре генотипа вируса (1-4), которые выявляются у людей. Генотипы 3 и 4 циркулируют среди многих видов животных (домашние и дикие свиньи, олени, косули, коровы, кролики, мангусты, леопарды, крысы, летучие мыши и др.). Также имеются сведения о четырех новых генотипах, выделенных от диких кабанов и верблюдов. HEV представлен одним серотипом.

ВГЕ менее устойчив к физико-химическим воздействиям по сравнению с вирусом гепатита A, хорошо сохраняется при температуре плюс 20 °C и ниже. При температуре от плюс 45 °C до плюс 70 °C вирус частично инактивируется, но может сохранять жизнеспособность в недостаточно термически обработанном мясе.

Источниками инфекции при гепатите E являются животные (прежде всего свиньи и кабаны) и человек (антропозоонозная инфекция). Гепатит E у животных протекает бессимптомно.

Основным механизмом передачи ВГЕ является фекально-оральный, который реализуется преимущественно водным или пищевым путем.

Водным путем наиболее часто передается ВГЕ генотипов 1 и 2 в странах тропического и субтропического пояса, где ОГЕ составляет более 50% случаев острого вирусного гепатита. Описаны единичные водные вспышки, связанные с 3 и 4 генотипами. Для ВГЕ 3 и 4 генотипов больше характерен пищевой путь передачи, который реализуется прежде всего при употреблении в пищу сырого или недостаточно термически обработанного мяса и субпродуктов (печени) инфицированных животных (свиней, кабанов, оленей и др.). Группу риска составляют работники животноводческих хозяйств, прежде всего осуществляющие уход за свиньями. Вертикальная передача ВГЕ от беременной женщины ее плоду наблюдается в странах с высоким уровнем заболеваемости. Высокая распространенность АТ к ВГЕ среди пациентов, находящихся на гемодиализе, указывает на возможность реализации парентерального пути передачи.

Инкубационный период у человека колеблется от 14 до 40 дней, в редких случаях достигая 60 дней. Клиническая картина при ОГЕ подобна симптоматике ОГА. Однако при ГЕ в ряде случаев возможно поражение почек (гломерулонефрит), присоединение неврологических симптомов (синдром Гийена-Барре, плечевые невриты, внутричерепная гипертензия, острый менингоэнцефалит и др.), гематологических нарушений (тромбоцитопения, анемия) и других симптомов. Отличительной особенностью клинического течения ГЕ, вызванного ВГЕ 1 и 2 генотипов, является высокая летальность среди беременных. ХГЕ наблюдается у лиц с иммунодефицитом (пациенты, находящиеся на иммуносупрессивной терапии, ВИЧ-инфицированные и др.) и характеризуется длительной (3 и более месяцев) циркуляцией вируса и развитием хронического воспалительного процесса в ткани печени с возможным переходом в цирроз печени.

Anti-HEV IgM – маркер острой фазы заболевания, начинают вырабатываться в конце инкубационного периода, циркулируют в крови в среднем в течение 3-х месяцев.

Anti-HEV IgG – маркер перенесенного острого гепатита Е (ОГЕ), начинают синтезироваться в конце первой – начале второй недели болезни и продолжают циркулировать не менее года. Длительность и стойкость иммунитета при гепатите Е неизвестна. Зарегистрированы случаи повторного инфицирования после перенесенного ОГЕ.

РНК ВГЕ появляется в крови и фекалиях в середине инкубационного периода и является первым диагностическим маркером ГЕ. Виремия продолжается в среднем 3-6 недель и у большинства больных исчезает в течение двух недель после появления симптомов. У некоторых пациентов период виремии заканчивается к моменту появления симптомов заболевания. В фекалиях РНК ВГЕ регистрируется в течение двух недель после прекращения виремии. При ХГЕ выделение вируса может продолжаться в течение многих лет.

Показания к обследованию

Обнаружение РНК HEV и/или anti-HEV IgM и anti-HEV IgG

- Пациенты с острым вирусным гепатитом (ОВГ) неуточненным (после исключения гепатита А, В и С) и инфекций, вызванных цитомегаловирусом и вирусом Эпштейна-Барр;
- контактные лица из очагов sporadic и групповой заболеваемости ОГЕ;
- пациенты с клиническими проявлениями острого гепатита после посещения неблагополучных по ГЕ регионов мира в пределах инкубационного периода;
- беременные женщины с признаками поражения гепатобилиарной системы неустановленной этиологии, прибывшие из неблагополучных по ГЕ территорий и стран;
- пациенты, получающие лечение в неврологических отделениях с сопутствующей патологией печени (особенно неясной этиологии),
- пациенты 40 лет и старше с хроническими заболеваниями печени, поступающие в стационар.

Обнаружение РНК HEV

- Лица с иммунодефицитом (больные онкологическими заболеваниями, пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию и др.) с признаками ОВГ;
- пациенты с ХВГ неуточненным;
- доноры органов;
- кандидаты на трансплантацию органов и реципиенты органов.

Этиологическая лабораторная диагностика ОГЕ включает одновременное выявление anti-HEV IgM и anti-HEV IgG. Альтернативным способом диагностики инфекции является обнаружение РНК ВГЕ.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Диагностика ОГЕ

Диагноз «ОГЕ» устанавливается при выявлении anti-HEV IgM и anti-HEV IgG или РНК ВГЕ в сыворотке крови пациента с подозрением на гепатит.

Обследование контактных лиц*

В лабораториях, оснащенных оборудованием для проведения молекулярно-биологических и иммунохимических исследований, у контактных лиц целесообразно выявлять в сыворотке крови РНК ВГЕ и anti-HEV IgM. Выявление в сыворотке (плазме) крови контактного лица РНК ВГЕ вне зависимости от наличия/отсутствия в сыворотке крови anti-HEV IgM свидетельствует о текущем заболевании. Отсутствие в сыворотке (плазме) крови РНК ВГЕ и anti-HEV IgM свидетельствует об отсутствии заболевания. Выявление в сыворотке крови только anti-HEV IgM свидетельствует о недавно перенесенном ГЕ.

В лабораториях, не имеющих оснащения для проведения молекулярно-

* Контактными лицами в очаге гепатита Е считаются лица, находящиеся в тесном общении с больным ОГЕ в конце инкубационного периода и в первые дни его болезни.

биологических исследований, у контактных лиц необходимо выявлять в сыворотке крови anti-HEV IgM.

Выявление в сыворотке крови контактного лица anti-HEV IgM может свидетельствовать как о текущей, так и о перенесенной инфекции, вызванной ВГЕ. Необходимо помнить о возможности получения ложноположительных результатов у здоровых контактных лиц.

Отсутствие в сыворотке крови anti-HEV IgM свидетельствует об отсутствии инфекции, вызванной ВГЕ.

Вирус гепатита G

Вирус гепатита G (HGV/GBV-C) – РНК-содержащий, лимфотропный вирус, относящийся к семейству *Flaviviridae*. Вирус представлен 6 генотипами (1-6). Инфицирование HGV происходит при непосредственном попадании вируса в кровь (при парентеральных вмешательствах, гемотрансфузиях) или через слизистые оболочки, повреждения кожного покрова (при половых контактах, вертикальной передаче). HGV был впервые изолирован в 1995 году из крови пациента с хроническим гепатитом, у которого отсутствовали маркеры других вирусных гепатитов, поэтому HGV был изначально отнесен к вирусам, вызывающим заболевания печени. Однако опубликованные результаты исследований противоречивы: большинство авторов не установили четкой взаимосвязи между этим вирусом и развитием гепатита; некоторые исследователи считают, что HGV может быть причиной гепатита в особых группах пациентов. Коинфекция HGV не оказывает влияние на заболевания, вызванные вирусами гепатитов В, С и D. Было показано, что HGV подавляет репликацию ВИЧ-1, вследствие чего существует прямая корреляция между выявлением HGV в крови и увеличением продолжительности жизни пациентов, инфицированных ВИЧ-1, не находящихся на антиретровирусной терапии.

Частота выявления HGV у условно здоровых лиц составляет около 20%. Выявление HGV не может однозначно свидетельствовать о его этиологической роли при поражении печени.

Основным диагностическим маркером вируса гепатита G является РНК HGV, поэтому лабораторная диагностика HGV проводится с использованием молекулярно-биологических методов исследования – в плазме или сыворотке крови определяют присутствие РНК HGV методом ПЦР.

Показания к обследованию

Больные с поражением печени неустановленной этиологии.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление в исследуемом биологическом материале РНК HGV свидетельствует о наличии вируса гепатита G.

Отсутствие в биологическом материале РНК HGV свидетельствует об отсутствии вируса гепатита G.

Литература

1. Михайлов М.И., Шахгильдян И.В., Онищенко Г.Г. Энтеральные вирусные гепатиты (этиология, эпидемиология, диагностика, профилактика) // ФГОУ «ВУНМЦ Росздрава», Москва. – 2007. – 349 с.
2. Руководство ВОЗ по тестированию на гепатиты В и С [Guidelines on hepatitis B and C testing]. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2018.
3. Чуланов В.П. Проблемы лекарственной резистентности при противовирусной терапии хронического гепатита В // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. – 2011. – № 3. – С. 167-172.
4. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) // ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, Москва. – 2003. – 383 с.
5. Методические указания МУ 3.1.2837-11. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Кишечные инфекции. Эпидемиологический надзор и профилактика вирусного гепатита А. (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28.01.2011).
6. Методические указания МУ 3.1.2792 «Эпидемиологический надзор за гепатитом В». (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 20 декабря 2010 г.).
7. Abbas Z., Abbas M. Management of hepatitis delta: Need for novel therapeutic options // World Journal of Gastroenterology. – 2015. – Vol. 21. – P. 9461–9465.
8. Aggarwal A., Perumpail R., Tummala S., Ahmed A. Hepatitis E virus infection in the liver transplant recipients: Clinical presentation and management // World Journal of Hepatology. – 2016. – Vol.8. – P. 117-122.
9. Aniță A., Gorgan L., Aniță D. et al. Evidence of hepatitis E infection in swine and humans in the East Region of Romania. International // Journal of Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 29. – P.439-444.
10. Blach S. et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study // Lancet Gastroenterol Hepatol. – 2017. – Vol.2. – P.161-176.
11. Bower W.A. et al. Duration of Viremia in Hepatitis A Virus Infection // Journal of Infectious Diseases. – 2000. – Vol. 182. – P.12-17.
12. Cornberg M., Wong V., Locarnini S. et al. The role of quantitative hepatitis B surface antigen revisited // Journal of Hepatology. – 2017. – Vol. 66. – P. 398-411.
13. Chulanov V., Pshenichnaya N., Leblebicioglu H. Genetic Diversity of the Hepatitis B Virus and Its Epidemiological Significance. In: Ozaras R., Tahan V. (eds) Viral Hepatitis: Chronic Hepatitis B. Springer, Cham., 2018. –P. 41-50.
14. Clayson E., Myint K., Snitbhan R. et al. Viremia, fecal shedding. And IgM and IgG responses in patient with hepatitis E // Journal of Infectious Diseases.-1995. – Vol. 172. – P. 927-933.
15. Dalton H., Kamar N., Baylis, S. et al. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection // Journal of Hepatology. – 2018. – Vol. 68. – P. 1256-1271.
16. Danta M. et al. Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours // AIDS. – 2007. – Vol. 21. – P. 983-991.
17. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018 // Journal of Hepatology. – 2018. – Vol. 69. – P.461-511.
18. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection // Journal of Hepatology. – 2017. – Vol. 67. – P.370-398.
19. Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection. – Geneva, Switzerland: World Health Organization, July 2018.
20. Haffar S., Bazerbachi F., Leise M. et al. Systematic review with meta-analysis: the associa-

- tion between hepatitis E seroprevalence and haemodialysis // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. – 2017. – Vol. 46. – P. 790-799.
21. Hepatitis C guidance 2018 update: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C virus infection // *Clinical Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 67. – P.1477-1492.
 22. Mavilia M., Wu G. HBV-HCV Coinfection: Viral Interactions, Management, and Viral Reactivation // *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. – 2018. – Vol. 6. – P. 1-10.
 23. Nainan O., Xia G., Vaughan G., Margolis H. Diagnosis of Hepatitis A virus infection: a molecular approach // *Clinical Microbiology Reviews*.- 2006. – Vol. 19. – P.63-79.
 24. Razavi-Shearer D. et al. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study // *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018. – Vol.3. – P.383-403.
 25. Reshetnyak, V., Karlovich, T., Ilchenko L. Hepatitis G virus // *World Journal of Gastroenterology*. – 2008. – Vol. 14. – P. 4725-4734.
 26. Smith D., Bukh J., Kuiken C. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource // *Hepatology*. – 2014. – Vol. 59. – P. 318-327.
 27. Taylor J., Purcell R., Farci P. Hepatitis D (delta) virus // In: Knipe DM, Howley PM editor. *Fields Virology*. Sixth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – P. 2222-2241.
 28. Van Der Poel W. Food and environmental routes of Hepatitis E virus transmission // *Current Opinion in Virology*. – 2014. – Vol. 4. – P.91-96.
 29. Velkov S., Ott J., Protzer U., Michler T. The global hepatitis B virus genotype distribution approximated from available genotyping data // *Genes* 9(10). 2018. <https://doi.org/10.3390/genes9100495>(дата обращения: 19.12.2019)
 30. Wang, T., Chen, J., Zhang, Q. et al. Prevalence of hepatitis G virus infection among 67,348 blood donors in mainland China // *BMC Public Health*. – 2019. – Vol. 19. – P. 1-10.
 31. World Health Organization. Global hepatitis report, 2017. – Geneva: World Health Organization, 2017. – 83 p. – URL: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (дата обращения: 19.12.2019).]
 32. Xiang J, et al. Effect of coinfection with GB virus C on survival among patients with HIV infection // *New England Journal of Medicine*.-2001. – Vol. 345. – P.707–714.
 33. Yeo Y., Ho, H., Yang H. et al. Factors associated with rates of HBsAg seroclearance in adults with chronic HBV infection: a systematic review and meta-analysis // *Gastroenterology*. – 2019. – Vol. 156. – P. 635-646.
 34. Yurdaydin C., Abbas Z., But, M. et al. Treating chronic hepatitis delta: The need for surrogate markers of treatment efficacy // *Journal of Hepatology*. – 2019. – Vol. 70. – P. 1008-1015.

■ Герпес-вирусные инфекции

Герпес-вирусы (*herpein* (греч.) – ползать, *herpo* (лат.) – ползаю) – крупные оболочечные ДНК-содержащие вирусы, способные поражать различные органы и системы организма хозяина и вызывающие разнообразные широко распространенные инфекционные заболевания человека и других млекопитающих, а также птиц, рептилий, земноводных, рыб.

Все вирусы семейства *Herpesviridae* сходны между собой по морфоло-

гическим признакам, типу репродукции, тканевому тропизму, способности персистенции и латенции в организме инфицированного хозяина. В настоящее время семейство в зависимости от типа чувствительных клеток, в которых протекает инфекционный процесс, характера репродукции, а так же структуры генома подразделяют на три подсемейства: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* и *Gammaherpesvirinae*.

Для вирусов подсемейства *Alphaherpesvirinae* характерны относительно короткий цикл репликации (24 часа), быстрое выраженное цитопатическое действие в культуре клеток *in vitro*. Вирусы данного подсемейства обладают способностью репликации в различных типах клеток *in vivo* и установлению латентной инфекции, в основном, в сенсорных ганглиях. Вирусы подсемейства *Betaherpesvirinae* имеют более длительный цикл репликации (более 7 дней), оказывают медленное цитопатическое действие в культуре клеток *in vitro*. При латенции персистируют в секреторных железах, лимфоретикулярных клетках, почках и других тканях. Вирусы подсемейства *Gammaherpesvirinae* обладают тропностью к Т- или В-лимфоцитам, *in vitro* репликация происходит в лимфобластоидных клетках. В латентном состоянии обнаруживаются в лимфоидной ткани. Для вирусов данного подсемейства характерна длительная персистенция и способность к трансформации клеток с развитием злокачественных новообразований. На текущий момент три подсемейства семейства *Herpesviridae* включают 89 видов, из которых 9 патогенны для человека (табл. 8). В 2016 г. Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) внесены изменения в номенклатуре видов семейства *Herpesviridae*: в видовом названии добавлен префикс, указывающий на подсемейство.

Таблица 8

Классификация вирусов семейства *Herpesviridae*, патогенных для человека

Подсемейство	Род	Вид		
		Название согласно номенклатуре ICTV, 2016 г.	Общепринятое название (синонимы)	
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	<i>Human alphaherpesvirus 1</i>	вирус простого герпеса 1	ВПГ-1
		<i>Human alphaherpesvirus 2</i>	вирус простого герпеса 2	ВПГ-2
	<i>Varicellovirus</i>	<i>Human alphaherpesvirus 3</i>	вирус герпеса человека 3 вирус Варицелла-Зостер вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая	ВГЧ-3 ВВЗ
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Human betaherpesvirus 5</i>	вирус герпеса человека 5 цитомегаловирус человека	ВГЧ-5 ЦМВ
	<i>Roseolovirus</i>	<i>Human betaherpesvirus 6A</i>	вирус герпеса человека 6А	ВГЧ-6А
		<i>Human betaherpesvirus 6B</i>	вирус герпеса человека 6В	ВГЧ-6В
		<i>Human betaherpesvirus 7</i>	вирус герпеса человека 7	ВГЧ-7
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Lymphocryptovirus</i>	<i>Human gammaherpesvirus 4</i>	вирус герпеса человека 4 вирус Эпштейна-Бар	ВГЧ-4 ВЭБ
	<i>Rhadinovirus</i>	<i>Human gammaherpesvirus 8</i>	вирус герпеса человека 8	ВГЧ-8

По данным ВОЗ, до 90% населения Земли инфицировано вирусами семейства *Herpesviridae*, патогенными для человека. Инфицированность ВПГ-1 в ряде европейских стран достигает 50-80%, ВПГ-2 – 10-25%. Инфекция, вызываемая ВГЧ-4, – одна из самых распространенных инфекций в мире, к 40 годам более 90% населения имеют вирусоспецифические АТ-IgG. Согласно представленным данным, до 50% молодых людей (до 18 летнего возраста) в развитых странах инфицировано ВЭБ. В США АТ-IgG к АГ ВЭБ в крови обнаруживают у 95% лиц, достигших 35-летнего возраста. Уровень инфицированности взрослых ВГЧ-5 в среднем достигает 70%, но при этом варьирует в широких пределах в зависимости от этнических и в большей мере от социально-экономических факторов. Присутствие вирусоспецифических АТ в популяции с высоким социально-экономическим уровнем составляет 40-60%, низким – 80-100%. 10-20% детей сталкиваются с вирусом до наступления половой зрелости, с возрастом доля инфицированных увеличивается. Инфекция, вызываемая ВГЧ-6, обнаружена у 90% взрослого населения развитых стран мира. Более 95% детей старше двух лет имеют специфические АТ-IgG к АГ ВГЧ-6А и/или ВГЧ-6В; частота выделения ВГЧ-7 у детей в возрасте старше 36 месяцев достигает 100%. Инфицированность населения ВГЧ-8 в различных странах мира существенно варьирует и четко коррелирует с уровнем заболеваемости саркомой Капоши. При этом частота выявления лиц, имеющих вирусоспецифические АТ в общей популяции (за исключением ВИЧ-инфицированных) в большинстве стран Африки к югу от Сахары превышает 50%, в странах Средиземноморского региона имеет среднее значение в пределах 10-30%, в Северной Европе, Азии и США составляет менее 10%. Инфицирование может реализовываться как одним, так и несколькими видами возбудителей одновременно.

Резервуаром и источником инфекций, вызываемых вирусами семейства *Herpesviridae*, патогенными для человека, являются вирусоносители и больные манифестными, стертными и латентными формами заболевания. Факторы передачи: кровь, слюна, моча и др. Пути передачи: воздушно-капельный, контактно-бытовой, половой, вертикальный, парентеральный. Выделяют врожденные и приобретенные герпес-вирусные инфекции.

В целом, герпес-вирусные инфекции характеризуются хроническим рецидивирующим течением и пожизненным персистированием возбудителя в организме. Частота рецидивов связана со снижением иммунных сил организма, что зависит от многих провоцирующих факторов (стресс, эндокринные нарушения, естественная иммуносупрессия при беременности, ВИЧ-инфекция, изменение географической зоны проживания, гипертония, употребление алкоголя, снижение иммунитета на фоне приема иммунодепрессантов и пр.). Однако стоит отметить, что в ряде случаев герпес-вирусные инфекции протекают асимптомно, а клинически выраженное заболевание носит доброкачественный характер. В то же время,

герпес-вирусы могут быть причиной тяжелой патологии, приводящей к летальному исходу, особенно у лиц с выраженными нарушениями иммунитета. Среди инфекций, вызываемых ВПГ-1 и ВПГ-2, наибольшую угрозу для здоровья представляют нейроинфекции (летальность достигает 20%, частота инвалидизации – 50%), офтальмогерпес (развитие катаракты или глаукомы почти в 50% случаев); генитальный герпес (существенное нарушение качества жизни). Доказана роль ряда герпес-вирусов (ВЭБ, ВГЧ-8) в развитии злокачественных новообразований: лимфома Беркитта, В-клеточная лимфома, саркома Капоши, многоочаговая болезнь Кастлемана и др. Герпес-вирусы занимают важное место в группе возбудителей ToRCH-инфекций. ГЦМВИ занимают ведущее место в причине мертворождений, преждевременных родов, младенческой смертности, заболеваемости новорожденных и ранней инвалидизации.

Основные синдромы и заболевания, ассоциированные с вирусами семейства *Herpesviridae*, патогенными для человека, представлены в таблице (табл.9).

Таблица 9

Синдромы и/или заболевания, ассоциированные с вирусами семейства *Herpesviridae*, патогенными для человека

Наименование вируса	Основные ассоциированные заболевания и синдромы
<i>Human alphaherpesvirus 1</i>	Герпетическая экзема. Герпетический везикулярный дерматит. Герпетический гингивостоматит и фаринготонзилит. Герпетический менингит. Герпетический энцефалит. Герпетическая болезнь глаз. Герпесвирусный [herpes simplex] гепатит. Герпетическая пневмония. Аногенитальная герпетическая вирусная инфекция. Герпетические инфекции половых органов и мочеполового тракта. Герпетические инфекции перианальных кожных покровов и прямой кишки. Врожденная инфекция, вызванная вирусом простого герпеса [herpes simplex].
<i>Human alphaherpesvirus 2</i>	
<i>Human alphaherpesvirus 3</i>	Ветряная оспа. Ветряная оспа с менингитом. Ветряная оспа с энцефалитом. Ветряная оспа с пневмонией. Опоясывающий лишай. Опоясывающий лишай с энцефалитом. Опоясывающий лишай с менингитом. Опоясывающий лишай с другими осложнениями со стороны нервной системы. Опоясывающий лишай с глазными осложнениями. Диссеминированный опоясывающий лишай. Врожденная ветряная оспа.
<i>Humangammaherpesvirus 4</i>	Мононуклеоз, вызванный гамма-герпетическим вирусом. Лимфома Беркитта. Лимфома Ходжкина. Диффузная В-крупноклеточная лимфома. Экстранодальная НК/Т-клеточная лимфома. Назофарингеальная карцинома. Карцинома желудка. Волосатая лейкоплакия.
<i>Human betaherpesvirus 5</i>	Цитомегаловирусный мононуклеоз. Цитомегаловирусный пневмонит. Цитомегаловирусный гепатит. Цитомегаловирусный панкреатит. Врожденная ЦМВИ.
<i>Human betaherpesvirus 6A</i>	Экзантема внезапная (шестая болезнь). Лихорадка новорожденных с судорожным синдромом. Мононуклеозоподобный синдром. Энцефалит. Миалгический энцефаломиелит (совместно с ВГЧ-7). Пневмония. Гепатит. Кофактор ВИЧ.
<i>Human betaherpesvirus 6B</i>	
<i>Human betaherpesvirus 7</i>	Экзантема внезапная (шестая болезнь). Лихорадка без сыпи. Фебрильные судороги. Мононуклеозоподобный синдром. Гепатит. Миалгический энцефаломиелит.
<i>Human gammaherpesvirus 8</i>	Саркома Капоши. Мультицентрическая болезнь Кастлемана. Первичная лимфома серозных оболочек.

Для лабораторной диагностики герпес-вирусных инфекций были разработаны и с успехом применялись различные методы: визуальное вы-

явление при использовании световой микроскопии, выделение вируса на чувствительных клеточных культурах, обнаружение АГ с использованием различных иммунохимических методов, выявление ДНК с помощью МАНК (преимущественно ПЦР), определение вирусоспецифических АГ к АГ возбудителя.

В настоящее время определено, что диагностика герпес-вирусных инфекций невозможна без применения комплекса современных лабораторных методов. Сложности в диагностике герпес-вирусных инфекций обусловлены широким распространением в популяции, сходными механизмами и путями передачи возбудителей, их пантропностью, отсутствием патогномичных клинических симптомов заболеваний, способностью герпес-вирусов к длительной персистенции и латентности в организме человека с возможностью последующей реактивации, формированию генерализованных форм инфекции, а также большой вероятностью развития микст-инфекций. Следует подчеркнуть, что МАНК, а именно ПЦР-РВ с возможностью детекции результатов амплификации в количественном формате, признаны на сегодняшний момент как наиболее доступные и быстрые методы, применяемые с целью эффективной диагностики и мониторинга герпес-вирусных инфекций. При интерпретации результатов следует учитывать, что факт инфицированности герпес-вирусами не свидетельствует об активности инфекционного процесса, а обнаружение в крови ДНК ВЭБ, ВГЧ-6А/В в ряде случаев не всегда означает дальнейшее развитие манифестной формы инфекции или подтверждает, что данный возбудитель является этиологической причиной имеющейся патологии.

Инфекция, вызываемая вирусом простого герпеса

В настоящее время вирус простого герпеса (ВПГ, *Herpes simplex virus*, HSV) семейство *Herpesviridae*, подсемейство *Alphaherpesvirinae*, род *Simplexvirus* включает в себя два уникальных ДНК-содержащих вида: *Human alphaherpesvirus 1* (вирус простого герпеса 1, ВПГ-1) и *Human alphaherpesvirus 2* (вирус простого герпеса 2, ВПГ-2). ВПГ-1 и ВПГ-2 сходны по морфологии, способу репродукции, размерам вириона, структуре генома и способности индуцировать у человека латентную, острую и хроническую инфекции различной степени тяжести: от характерных везикулезных или пустулезных высыпаний на коже и слизистых оболочках до поражений ЦНС.

ВПГ-1 и ВПГ-2 вызывают орофарингеальный, лабиальный герпес, генитальный герпес, герпес кожи, офтальмогерпес, герпетические энцефалиты, пневмонии. Наибольшую угрозу для здоровья человека представляют офтальмогерпес (развитие катаракты или глаукомы в 50% случаев), генитальный герпес (нарушение качества жизни). ВПГ-1 является основным этиологическим агентом герпетического энцефалита у взрослого населения стран умеренного климата, при этом только у 6-10% больных отмеча-

ется одновременное поражение кожи.

ВПГ неустойчив к воздействию физических и химических факторов, легко разрушается под воздействием ультрафиолетовых и рентгеновских лучей, а также органических растворителей. При температуре 50-52 °С как ВПГ-1, так и ВПГ-2 инактивируется через 30 мин., при низких температурах (минус 20-70 °С) – способен сохранять жизнеспособность до нескольких лет.

Резервуаром и источником инфекции, вызываемой ВПГ, являются вирусоносители и больные манифестными, стертыми и латентными формами заболевания. Факторы передачи: кровь, слюна, моча, сперма, везикулярный и вагинальный секрет. Пути передачи: воздушно-капельный, половой, контактно-бытовой, вертикальный, парентеральный.

Согласно статистическим данным ВОЗ, инфекции, обусловленные ВПГ, занимают второе место по распространенности среди вирусных заболеваний человека. В ходе проведения эпидемиологических исследований установлено, что распространенность ВПГ-1, оцениваемая по наличию вирусспецифических АТ, составляет 50-70% в развитых странах и достигает 100% в развивающихся странах; ВПГ-2 – варьирует от 10 до 40% и может достигать 60-95% у ВИЧ-инфицированных и работников коммерческого секса. ВПГ-1 часто ассоциируют преимущественно с орофарингеальным, лабиальным герпесом, тогда как ВПГ-2 – с генитальным герпесом. Однако такое распределение характерно только для определенных популяций (например, для жителей Северной Африки), тогда как в развитых странах причиной большинства случаев генитального герпеса является ВПГ-1. При этом заболеваемость генитальным герпесом в разных странах достигает 80-200 случаев на 100 тыс. населения, и этот показатель продолжает расти.

Инкубационный период составляет 2-10 дней. Первичная герпетическая инфекция чаще всего характеризуется появлением везикулезных или пустулезных высыпаний (сопровождающихся покраснением, зудом) на коже и/или слизистых оболочках, с последующим разрывом и появлением ран и язв. Входными воротами для ВПГ-1 и ВПГ-2 являются поврежденные слизистые оболочки и кожные покровы. Размножение вируса в клетках эпителия приводит к образованию очага сгруппированных пузырьков (папул, везикул), в которых содержатся вирусные частицы. Далее гематогенно и/или по периферическим нервам вирус достигает ганглии, где сохраняется пожизненно. При активации ВПГ запускается механизм замкнутого цикла – репликация вируса и его циклическая миграция между чувствительным ганглием и поверхностью кожного покрова или слизистой оболочки. Выделение ВПГ продолжается значительное время при первичном инфицировании (ДНК выявляется в плазме крови в течение 4-6 недель), при рецидивах – не более 10 дней. У лиц с выраженным иммунодефицитом (в т.ч. при ВИЧ-инфекции), недоношенных новорожденных может происходить лимфогенная и гематогенная диссеминация возбудителя с последующим преодолением гематоэнцефалического барьера и раз-

витием герпетического энцефалита.

Формирование противогерпетического иммунитета происходит как при манифестном, так и при бессимптомном течении инфекции. При первом контакте АГ с клетками иммунной системы в течение 14-28 дней формируется первичный иммунный ответ, который у иммунокомпетентных лиц проявляется образованием интерферонов, выработкой специфических АТ (вначале – IgM, впоследствии – IgA и IgG), повышением активности естественных киллеров – NK-клеток и формированием мощного пула высокоспециализированных киллеров. В случае реактивации или реинфекции возникает повторный контакт клеток иммунной системы с АГ, образуются вирусоспецифические АТ и Т-киллеры. Реактивация сопровождается продукцией специфических АТ-IgM (редко и даже при наличии типичных клинических симптомов), АТ-IgA (чаще) и АТ-IgG к АГ ВПГ.

Показано, что ВПГ-1 является основным этиологическим агентом офтальмогерпеса, протекающего в форме кератита или кератоиридоциклита, реже увеита; ретинита и блефароконъюнктивита (единично). В ряде случаев заболевание может привести к помутнению роговицы и вторичной глаукоме.

ВПГ вызывает хроническое рецидивирующее заболевание – генитальный герпес. Клинические проявления первичного эпизода инфекции, вызванной разными видами вируса, сходны, однако инфекции, вызванной ВПГ-2, в гораздо большей степени свойственен рецидивирующий характер. Передача вируса происходит при половых контактах, при этом очаг инфекции локализуется на слизистой и коже половых органов, перигенитальной зоны. Первичный эпизод протекает острее (обычно с симптомами интоксикации), чем последующие рецидивы. Часто возникают симптомы дизурии; выявляются клинические признаки кольпита, эрозии шейки матки у женщин. Герпетические эрозивно-язвенные поражения на слизистых оболочках и кожных покровах половых органов, и даже бессимптомно протекающий активный генитальный герпес, повышают риск передачи и заражения ВИЧ на 50% или, согласно представленным данным других исследований, почти в 6 раз, также повышается риск заражения другими возбудителями ИППП.

На ранних стадиях ВИЧ-инфекции при количестве CD4⁺-лимфоцитов 500-200 кл./мкл течение заболеваний, вызванных ВПГ-1 или ВПГ-2, короткое и типичное. У больных на более поздних стадиях ВИЧ-инфекции при снижении количества CD4⁺-клеток менее 50 кл./мкл отсутствует тенденция к самостоятельному заживлению эрозивно-язвенных дефектов кожи и слизистых оболочек. У больных СПИДом с наличием глубокого иммунодефицита заболевание нередко протекает атипично: болезнь начинается остро и медленно прогрессирует до тяжелых проявлений энцефалита. Согласно представленным данным, частота герпетического энцефалита среди поражений ЦНС при ВИЧ-инфекции составляет около 1-3%.

Инфекции, вызываемые ВПГ-1 и ВПГ-2, занимают важное место в груп-

пе ToRCH-инфекций. Герпетическая инфекция даже при бессимптомном течении (более типично для ВПГ-2, чем для ВПГ-1) способна вызвать целый ряд патологий у беременной и новорожденного. Инфицирование плода и новорожденного ВПГ возможно в анте-, интра- и неонатальном периодах. Риск вертикальной передачи при первичном инфицировании матери во время текущей беременности составляет 50-75%, при рецидиве – 4%. Внутриутробное инфицирование плода может привести к самопроизвольному выкидышу, гибели плода, мертворождению, поражению ЦНС (менингоэнцефалит, энцефалит), органов зрения и слуха, порокам развития ЖКТ, микроцефалии. При этом в 80% случаев инфицирование заканчивается гибелью плода. Частота развития неонатального герпеса составляет около 10 случаев на 100 тыс. деторождений в мире. Риск развития неонатального герпеса наиболее высок в случаях проявления генитального герпеса у беременной женщины в пределах месяца до родов.

Особенно вероятна опасность заражения плода в процессе родов при первичной или рецидивирующей генитальной инфекции у матери. Такое заражение на 50% повышает смертность новорожденных или развитие у них тяжелых повреждений головного мозга или глаз. У женщин, перенесших генитальный герпес до беременности, риск передачи ВПГ детям крайне низок. Антенатальное заражение является причиной неонатального герпеса не более чем в 5% случаев, интранатальное – 75-80%, постнатальное – 5%.

В целом, постановка диагноза у различных групп пациентов при типичных клинических проявлениях герпетической инфекции трудностей не представляет, однако при атипичных формах заболевания верификация основывается в первую очередь на результатах лабораторных исследований. При этом приоритетными являются исследования, направленные на выявление маркеров, характеризующих активность инфекции.

Показания к обследованию

- Женщины и мужчины, имеющие в анамнезе либо на момент обращения типичные герпетические высыпания любой локализации (в т.ч. рецидивирующий генитальный герпес) или наличие везикулезных, пустулезных высыпаний и/или эрозивно-язвенных поражений на коже, ягодицах, бедрах, половых органах; зуд или жжение в области гениталий, жжение и боль при мочеиспускании неясной этиологии, слизисто-гнойные выделения из влагалища (для женщин);
- женщины и мужчины с атипичной формой заболевания: отсутствие зуда или жжения, отсутствие везикул, веррукозные образования, обширные кожные поражения;
- наличие полового контакта с партнером, имеющим генитальный герпес;
- планирование беременности (предгравидарная подготовка);
- женщины с отягощенным акушерским анамнезом (перинатальные потери, рождение ребенка с врожденными пороками развития);

- беременные женщины с первичной или рецидивирующей герпетической инфекцией;
- дети с признаками ВУИ, врожденными пороками развития или наличием на коже и/или слизистых оболочках везикул или корочек, судорожной активностью;
- дети, рожденные от матерей, перенесших генитальный герпес во время беременности;
- пациенты (в первую очередь новорожденные) с сепсисом, гепатитами, энцефалитом, пневмонией, поражением глаз (увеит, кератит, ретинит, ретинальный некроз), поражением ЖКТ;
- пациенты с иммунодефицитом, в т.ч. ВИЧ-инфицированные.

Дифференциальная диагностика

- Контактный дерматит, инфекционные заболевания, сопровождающиеся везикулезными высыпаниями на коже и слизистых оболочках (ветряная оспа, опоясывающий герпес, пиодермия и др.); эрозивно-язвенные поражения гениталий, обусловленные *Treponema pallidum*, *Haemophilus discreyi*; болезнь Крона, синдром Бехчета, фиксированная токсикодермия, кератоконъюнктивиты аденовирусной этиологии;
- при менингоэнцефалитах инфекционного синдрома (длительный субфебрилитет, лимфаденопатия, гепато- или гепатоспленомегалия), – ЦМВИ, инфекция, вызванная ВЭБ; токсоплазмоз; бактериальные инфекции и др.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение и идентификация вируса в культуре клеток, микроскопическое исследование, выявление АГ или ДНК возбудителя, определение специфических АТ классов IgA, IgM, IgG (суммарные к АГ ВПГ обоих видов или видоспецифичные) и авидности АТ-IgG (суммарных к АГ ВПГ обоих видов или видоспецифичные).

Материал для исследования

- Содержимое/отделяемое везикул, пустул и/или эрозивно-язвенных поражений слизистых оболочек, кожи и других локусов (носоглотка, уретра, влагалище, цервикальный канал, конъюнктивы), СМЖ, кровь – культуральные исследования, микроскопические исследования, выявление АГ, ДНК;
- мазки (соскобы) со слизистых оболочек носоглотки, полости рта, уретры, влагалища, цервикального канала, конъюнктивы (при отсутствии видимых везикулезных, пустулезных высыпаний или эрозивно-язвенных поражений), моча – выявление ДНК;
- сыворотка или плазма крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Среди методов лабораторной диагностики «золотым стандартом» долгое время считали выделение ВПГ в культуре клеток из крови, СМЖ, содержимого везикул, пустул и других локусов (носоглотка, уретра, влагалище,

цервикальный канал, конъюнктивы). Данный метод обладает высокими показателями диагностической чувствительности (85-100%) и специфичности (100%). Однако показано, что при нарушении технологии проведения исследования (например, несоблюдения условий хранения и транспортировки биологических образцов) данные показатели могут существенно снижаться. В настоящее время длительность анализа, трудоемкость его выполнения, высокая стоимость и необходимость соблюдения определенных условий проведения исследований затрудняет применение вирусологического (культурального) метода при рутинной лабораторной диагностике.

Содержимое везикул, пустул; СМЖ; отделяемое носоглотки, конъюнктивы, уретры, влагалища, цервикального канала могут быть использованы для микроскопических, цитологических исследований. Однако при их проведении следует учитывать, что данные исследования имеют крайне низкую диагностическую специфичность (не позволяют провести дифференцирование от других видов вирусов герпеса человека) и чувствительность (не более 60%) и не могут считаться надежными при диагностике инфекций, вызываемых ВПГ-1 и ВПГ-2.

Выявление АГ ВПГ в крови, СМЖ, содержимом везикулезных, пустулезных высыпаний и других локусов (носоглотки, конъюнктивы, уретры, влагалища, цервикального канала) проводят методами РИФ, РНИФ, ИФА с использованием моноклональных или высокоочищенных поликлональных АТ. Диагностическая чувствительность выявления АГ ВПГ при использовании метода ИФА возрастает до 95% и более, диагностическая специфичность (при манифестной герпетической инфекции) варьирует от 62 до 100%. Однако на текущий момент большинство наборов реагентов, предназначенных для выявления АГ ВПГ, не позволяют провести дифференцирование видов.

Выявление ДНК ВПГ-1 и/или ВПГ-2 в различном биологическом материале при использовании ПЦР превосходит чувствительность обнаружения ВПГ при использовании вирусологического исследования. Выявление ДНК ВПГ в мазках, соскобах со слизистых оболочек ротовой полости, урогенитального тракта; в содержимом/отделяемом везикул, пустул и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек; СМЖ (по показаниям) с помощью МАНК является методом выбора. При этом несомненную ценность имеет количественное определение ДНК ВПГ методом ПЦР-РВ, полученные результаты исследования можно использовать как с диагностической целью, так и для оценки активности инфекционного процесса и эффективности проводимой терапии.

Для определения АТ к ВПГ разных классов IgA, IgG, IgM, суммарных к АГ ВПГ обоих видов или видоспецифичных, в сыворотке/плазме периферической крови применяют методы ИФА. Наиболее высокое диагностическое значение имеет детекция АТ-IgM как показателя активности процесса. Выявление АТ-IgM может свидетельствовать об остром заболевании,

первичном, реинфекции, суперинфекции или реактивации. Однако в клинически выраженных случаях, в т.ч. при типичном течении генитального или неонатального герпеса, специфические АТ-IgM выявляются редко (3-6%). Определение avidности специфических АТ-IgG к АГ ВПГ позволяет оценить сроки инфицирования, дифференцировать первичную инфекцию (низкоавидные АТ-IgG) от инфекции, перенесенной в прошлом и рецидивирующей инфекции (высокоавидные).

К достоинствам метода выявления вирусоспецифических АТ разных классов относятся простота, высокая специфичность и чувствительность и невысокая стоимость; недостаткам – возможность получения ложноположительных результатов за счет перекрестных реакций с АТ к АГ других возбудителей (особенно при определении АТ-IgM).

Показания к применению различных лабораторных исследований

Определение специфических АТ к АГ ВПГ-1, ВПГ-2 целесообразно проводить для скрининга при предгравидарной подготовке (АТ-IgG) и беременных женщин (АТ-IgM, АТ-IgG), а также для подтверждения первичной герпетической инфекции и установления диагноза у лиц с бессимптомным или атипичным течением болезни.

При подозрении на ВУИ у новорожденных целесообразно применить выявление ДНК вируса в различных биологических образцах (содержимое/отделяемое везикулезных, пустулезных высыпаний, эрозивно-язвенных поражений слизистых оболочек и кожи; мазки, соскобы со слизистых оболочек ротоглотки, конъюнктивы (при отсутствии видимых везикулезных, пустулезных высыпаний или эрозивно-язвенных поражений); кровь, СМЖ (по показаниям), моча и др.), а также определение вирусоспецифических АТ-IgM и АТ-IgA в сыворотке или плазме крови, как дополнительное, но необязательное исследование. Учитывая высокую диагностическую значимость определения ДНК вируса методом ПЦР и наличие зависимости между летальностью новорожденных и вирусемией ВПГ, ряд исследователей рекомендует использовать данный метод для лабораторного скрининга генерализованной герпетической инфекции у детей, относящихся к группе высокого риска.

Выявление АГ ВПГ в различных образцах биологического материала предлагается применять в качестве экспресс-тестов для дифференцирования видов вируса при скрининге популяций с высоким уровнем заболеваемости, а также при мониторинге заболевания.

В лабораторной диагностике менингоэнцефалита, энцефалита, обусловленных ВПГ, у пациентов с иммунодефицитом, в том числе с ВИЧ-инфекцией, наиболее информативно использование количественного определения ДНК ВПГ в СМЖ методом ПЦР-РВ. При этом исследования, направленные на обнаружение АТ-IgM, АТ-IgG к АГ ВПГ в сыворотке/плазме крови, в большинстве случаев неинформативны.

Особенности интерпретации результатов

Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM может свидетельствовать о первичной инфекции, реже – о реактивации или реинфекции, АТ-IgA – об активности инфекционного процесса (затяжное течение при дебюте герпетической инфекции, реинфекции или реактивации). Выявление высокоавидных АТ-IgG без увеличения их концентрации в динамике отражает наличие латентной инфекции (инфицирование).

Лабораторным подтверждением первичной инфекции при исследовании парных образцов сыворотки или плазмы периферической крови с интервалом 14 дней одновременно в одном опыте является выявление вирусоспецифических АТ-IgM и/или обнаружение (сероконверсия) или 4-кратное и более увеличение концентрации низкоавидных вирусоспецифических АТ-IgG во втором образце.

Выявление ДНК ВПГ-1 и/или ВПГ-2 методом ПЦР позволяет при однократном тестировании пуповинной крови установить факт внутриутробного инфицирования плода; а при проведении обследования в первые 24-48 часов после рождения лабораторно подтвердить врожденную инфекцию, вызванную ВПГ. О неонатальном инфицировании так же косвенно может свидетельствовать присутствие АТ-IgM и/или АТ-IgA в сыворотке или плазме крови. Определение АТ-IgG у новорожденных является малоинформативным вследствие циркуляции материнских АТ, полученных ребенком трансплацентарно.

Выявление ДНК ВПГ свидетельствует о наличии активной (репликативной) стадии герпетической инфекции с учетом выраженности клинических проявлений. Следует отметить, что исследование, направленное на обнаружение ДНК ВПГ в периферической крови иммунокомпетентных пациентов в подавляющем большинстве случаев мало информативно, что обусловлено кратковременностью период агематогенной диссеминации ВПГ, и, следовательно, возможностью получения ложноотрицательного результата анализа, несмотря на развитие клинически выраженного заболевания.

Инфекция, вызываемая вирусом Варицелла-Зостер

Вирус Варицелла-Зостер (ВВЗ, вирус герпеса человека 3, *Varicella-Zoster virus*) – *Human alphaherpesvirus 3* – ДНК-содержащий вирус семейства *Herpesviridae*, подсемейства *Alphaherpesvirinae*, рода *Varicellovirus*, для которого характерны высокая цитопатическая активность с относительно коротким репликативным циклом. ВВЗ является этиологическим агентом двух клинически различно проявляющихся заболеваний человека: ветряной оспы и опоясывающего лишая. Ветряная оспа представляет собой острое вирусное инфекционное заболевание, характеризующееся поражением кожи и слизистых оболочек в виде полиморфной макуло-папулезно-везикулезной сыпи, сохраняющейся 3-4 дня, умеренно выраженной лихорадкой и

симптомами общей интоксикации, преимущественно доброкачественным течением. Опоясывающий лишай развивается у 10-20% пациентов, ранее перенесших ветряную оспу, и представляет собой спорадическое заболевание, возникающее в результате реактивации в организме вируса, проявляющееся воспалением задних корешков спинного мозга и межпозвоночных ганглиев, а также лихорадкой, общей интоксикацией и везикулезной экзантемой по ходу вовлеченных в процесс чувствительных нервов.

ВВЗ неустойчив во внешней среде, чувствителен к УФ-облучению, инактивируется при температуре 50-52 °С в течение 30 мин., однако длительно сохраняется при низких температурах (от минус 65 °С и ниже) и хорошо переносит повторные замораживания-оттаивания.

Резервуаром и источником ВВЗ является человек, больной ветряной оспой или опоясывающим лишаем. Инкубационный период при ветряной оспе составляет от 10 до 21 дня (в среднем 13-17 дней). Индекс контагиозности – 75-90%. Период, в течение которого источник ВВЗ может заразить окружающих его лиц, длится с конца инкубационного периода и до истечения 5 дней с момента появления последних элементов сыпи. Механизм передачи ВВЗ преимущественно аспирационный (аэрогенный), реализуется воздушно-капельным и контактными путями. Возможна вертикальная и парентеральная передача вируса.

Ветряная оспа широко распространена во всем мире. В настоящее время в РФ заболеваемость ветряной оспой продолжает оставаться на высоком уровне: показатель 544,59 на 100 тыс. населения (в том числе у детей до 17 лет – 2673,31) в 2016 г., 571,22 на 100 тыс. населения (в том числе у детей до 17 лет – 2700,20) в 2018 г. Распространенность опоясывающего лишая в различных странах мира составляет 0,4-1,6 случаев заболевания на 1000 пациентов в год в возрасте до 20 лет и 4,5-11,8 случаев на 1000 пациентов в год в старших возрастных группах. В РФ официальных сведений по распространенности опоясывающего лишая не представлено из-за отсутствия обязательного статистического учета.

Входными воротами для ВВЗ преимущественно являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей, в эпителиальных клетках которых он размножается, затем гематогенно и трансаксонально вирус попадает в ганглии спинномозговых, черепно-мозговых нервов, а так же ганглии чревного и подозного сплетений вегетативной нервной системы, где в латентном состоянии персистирует пожизненно, сохраняя способность к реактивации. Наибольший тропизм ВВЗ имеет к клеткам шиповатого слоя кожи, где возникают дистрофические изменения, приводящие к их гибели, образуются полости, наполненные серозным экссудатом, клиническим эквивалентом которых являются типичные для ветряной оспы элементы сыпи. Наиболее частым осложнением ветряной оспы является бактериальная суперинфекция кожи, мягких тканей, чаще стафилококковой или стрептококковой этиологии. Летальность и развитие тяжелых осложнений, таких

как энцефалиты, менингиты, васкулопатии, параличи черепных нервов, миелиты, мозжечковые атаксии, миокардиты, пневмонии, гломерулонефриты, достаточно редки (около 5%). Основными факторами риска тяжелого течения заболевания являются иммунодефицитные состояния любого генеза, затрагивающим клеточное звено иммунитета, индуцированным фоновым заболеванием или лекарственной терапией: лейкозы, солидные опухоли, ВИЧ-инфекция, иммуносупрессивная терапия, а также терапия кортикостероидами. На фоне иммуносупрессии поражаются также слизистые оболочки мочевыводящих путей, желудочно-кишечного тракта. Изменения в виде мелких некрозов с геморрагическим пояском можно обнаружить в печени, почках, легких и других органах.

У 80-90% людей инфицирование ВВЗ происходит в первые 6-8 лет жизни. Риск заболевания здоровых лиц в течение жизни составляет более 95%. Постинфекционный иммунитет напряженный, поддерживается персистенцией вируса в организме. Случаи повторного заболевания практически неизвестны. Эндогенная реактивация ВВЗ связана со снижением активности клеточно-опосредованного иммунитета, возникающего после перенесенного стресса, травмы, инфекционного или соматического заболевания, в результате ятрогенной или приобретенной иммуносупрессии, вследствие чего развивается опоясывающий лишай. К другим факторам риска относятся: возраст (преимущественно более 55-60 лет), сахарный диабет, генетическая предрасположенность. После редукции высыпаний опоясывающий лишай в 40% случаев осложняется постгерпетической невралгией. К значительно редким осложнениям относят синдром Рамзеля-Хунта, развитие парезов черепных и периферических нервов, васкуло- и миелопатии, острый некроз сетчатки и церебеллит. Показано, что ВИЧ-инфицированные подвергаются более высокому риску развития осложнений опоясывающего лишая и тяжелых форм генерализованной инфекции.

Острая инфекция, вызванная ВВЗ, во время беременности довольно редка, поскольку только 5-10% всех женщин детородного возраста не имеют защитных специфических АТ к АГ вируса. ВВЗ может передаваться плоду антенатально, интранатально и новорожденному ребенку постнатально. При развитии инфекции возможны осложнения беременности: самопроизвольные выкидыши, неразвивающаяся беременность в первой ее половине и фетальный ветряночный синдром у 12% пораженных плодов. Частота эмбриопатий и фетопатий после перенесенной ветряной оспы в первые 20 недель беременности составляет около 2%, а после 25-й недели зарегистрированы лишь единичные случаи.

Все случаи заболевания ветряной оспой новорожденных до 11 дня жизни (включительно) являются врожденной инфекцией. К врожденным формам относятся синдром врожденной ветряной оспы и неонатальная (врожденная) ветряная оспа. Синдром врожденной ветряной оспы выявляется у 5% новорожденных, если заболевание беременной ветряной

оспой произошло в I триместре беременности, и характеризуется пороками развития конечностей (укорочение, деформация), головного мозга (микроцефалия, гидроцефалия, корковая атрофия, диафрагмальный паралич) и органов зрения (катаракта), а также параличами и судорожным синдромом. При заболевании беременной менее чем за 10 суток до родов у плода может развиваться неонатальная ветряная оспа. При этом клинические признаки у новорожденного появляются сразу после рождения. Наиболее тяжело протекает инфекция у детей, матери которых заболели ветряной оспой в период за 5 дней до и 48 часов после родов. В 20% случаев это приводит к развитию диссеминированной фульминантной ветряной оспы новорожденного. Летальность при этом достигает 20-30%. Следует учитывать, что новорожденный, заболевший ветряной оспой, развившейся в результате заболевания беременной за 16 и менее дней до родов, является источником ВВЗ, а новорожденный с синдром врожденной ветряной оспы не является таковым. Клинические проявления ветряной оспы у новорожденного спустя 12 дней после рождения свидетельствуют о постнатальном заражении. В целом, ветряная оспа, перенесенная внутриутробно или ребенком в возрасте до года, является предпосылкой для ранней манифестации опоясывающего лишая.

При заболевании опоясывающим лишаем женщины во время беременности осложнений со стороны плода не наблюдается.

Основным профилактическим мероприятием, направленным на защиту населения от ветряной оспы, является специфическая вакцинопрофилактика, которая обеспечивает создание невосприимчивости к данной инфекции. Вакцины против ветряной оспы доступны на мировом рынке с 1974 года. Положительные результаты оценки их безопасности и эффективности, а также проведенный анализ обоснованности затрат на массовую иммунизацию против ветряной оспы, подтвердили целесообразность внедрения вакцинопрофилактики ветряной оспы в программы детской иммунизации ряда индустриально развитых стран. Наличие типичных проявлений ветряной оспы, опоясывающего лишая в большинстве случаев позволяет установить диагноз на основании клинико-эпидемиологических, клинико-анамнестических данных, соответственно. Однако с учетом возможности атипичного и стертого течения инфекции, вызванной ВВЗ, особенно у вакцинированных лиц, развития осложнений в виде энцефалита, перинатальной патологии (внутриутробная инфекция, врожденные пороки развития) в ряде случаев требуется обязательное лабораторное подтверждение.

Окончательный диагноз ветряной оспы устанавливается на основании клинических данных и (или) при наличии лабораторного подтверждения диагноза или эпидемиологической связи с другими лабораторно подтвержденными случаями данного заболевания. Окончательный диагноз опоясывающего лишая устанавливается на основании клинико-анамнестических и/или при наличии лабораторного подтверждения диагноза.

Дифференциальная диагностика

Заболевания, сопровождающиеся везикулезной сыпью: герпетическая инфекция (ВПГ-1, ВПГ-2), энтеровирусная инфекция, стрептодермия, аллергический контактный дерматит и др.

Показания к обследованию

- Наличие макуло-папулезно-везикулезной сыпи, особенно у беременных и новорожденных;
- установленный или предполагаемый контакт с больным ветряной оспой или опоясывающим лишаем или с подозрением на данные нозологические формы;
- дифференциальная диагностика экзантемных заболеваний;
- новорожденные, матери которых заболели ветряной оспой за 5 дней до и в первые 48 часов после родов;
- новорожденные при подозрении на ВУИ, с врожденными пороками развития;
- энцефалит неясной этиологии;
- оценка постинфекционного или поствакцинального иммунитета к ВВЗ.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное обнаружение вируса методом микроскопии, выделение вируса в культуре клеток, обнаружение его АГ или ДНК, определение специфических АТ к АГ ВВЗ.

Материал для исследования

- Везикулярная жидкость, соскобы с пораженных участков кожи (дна везикул) – микроскопические исследования, культуральные исследования, обнаружение АГ, выявление ДНК;
- отделяемое ротоглотки, слюна, кровь (периферическая и пуповинная), СМЖ, амниотическая жидкость, биоптаты плаценты – выявление и количественное определение ДНК;
- сыворотка/плазма крови, СМЖ – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Микроскопия препаратов содержимого везикул, соскобов с пораженных участков кожи, окрашенных по методу Морозова (выявление телец Арагао – скопления вируса) или Романовского-Гимзы (проба Цанка), позволяет обнаружить гигантские многоядерные клетки, наличие которых свидетельствует, что причиной поражения является вирус семейства *Herpesviridae*. Однако данный метод обладает низкой диагностической чувствительностью и специфичностью – не позволяет отличить ВВЗ от ВПГ.

Выделение ВВЗ на чувствительных (эмбриональных) культурах клеток применяется преимущественно в вирусологических лабораториях и для рутинной диагностики в клинико-диагностических лабораториях не используется. Следует отметить, что данное исследование имеет невысокую чувствительность, требует значительных временных затрат (нескольких дней) для получения результата, часто предоставляет ложноотрицательный результат.

Для диагностики заболеваний, вызываемых ВВЗ, может быть использовано определение АГ методом ПИФ. Однако метод не нашел широкого применения в клинической практике ввиду необходимости тщательной пробоподготовки и низкой чувствительности.

Основную роль в лабораторной диагностике инфекций, вызываемых ВВЗ, отводят выявлению и количественному определению ДНК вируса методами АНК (преимущественно ПЦР) и обнаружению специфических АТ-IgM, АТ-IgG к АГ вируса с использованием ИФА. На текущий момент наиболее распространенным тестом для лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых ВВЗ, является именно определение специфических АТ с использованием ИФА в качественном или количественном формате. Для оценки сроков инфицирования, установления периода развития инфекционного процесса, дифференцирования острой инфекции от инфекции, перенесенной в прошлом, и первичной инфекции от реактивации проводится определение авидности вирусоспецифических АТ-IgG. Дополнительным исследованием при диагностике энцефаломиелита или энцефалита, вызванного ВВЗ, является параллельное обнаружение вирусоспецифических АТ-IgG в крови и СМЖ методом ИФА с расчетом величины интратекальной продукции. Выявление интратекальной продукции вирусоспецифических АТ в СМЖ свидетельствует о вовлечении в инфекционный процесс ЦНС. Однако данное исследование не применяется для рутинной клинической диагностики заболевания и в подавляющем большинстве случаев предпочтение отдается прямым методам диагностики – обнаружению и количественному определению ДНК вируса.

Многочисленные исследования последних лет доказали, что обнаружение ДНК ВВЗ с использованием ПЦР является методом выбора при диагностике ветряной оспы и опоясывающего лишая. Применение ПЦР позволяет выявлять и количественно определять ДНК ВВЗ на ранних стадиях развития инфекционного процесса, в период «серологического окна» и при бессимптомном течении заболевания.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Индикаторами активной инфекции является наличие ДНК ВВЗ и вирусоспецифических АТ-IgM. Специфические АТ-IgM к АГ ВВЗ появляются в крови на 4-7 сутки, достигая максимального уровня через 3-5 недель от первичного инфицирования, и сохраняются в течение нескольких месяцев. Вирусоспецифические АТ-IgG появляются в крови в более поздние сроки (на 10-14 сутки) и выявляются пожизненно, поэтому для установления факта первичного инфицирования целесообразно их количественное определение в динамике. Определение вирусоспецифических АТ-IgG используется в скрининговых исследованиях для определения наличия иммунитета к ВВЗ.

Лабораторное обследование беременных с ветряной оспой направлено главным образом на подтверждение или опровержение факта трансплацентарной передачи ВВЗ от матери к плоду. Установление данного факта

осуществляется на основании идентификации ДНК ВВЗ в амниотической жидкости, пуповинной крови. Выбор биологического материала определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: амниотическая жидкость (процедура амниоцентеза) – 16-23 недели; пуповинная кровь (кордоцентез) – 20-24 недели. При подозрении на синдром врожденной ветряной оспы, неонатальную ветряную оспу используют определение ДНК вируса в различных биологических образцах новорожденного. Исследование проводится до 11 дня жизни ребенка включительно.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM – маркеров острой фазы заболевания – свидетельствует о первичном инфицировании или реактивации инфекции. Обнаружение АТ-IgG свидетельствует о наличии постинфекционного или поствакцинального иммунитета к ВВЗ, указывает на существующую латентную инфекцию. При отсутствии АТ-IgM и обнаружении АТ-IgG к АГ вируса рекомендуется проведение повторного обследования с интервалом 10-14 дней. О текущей инфекции (реинфекции, реактивации) свидетельствует 4-х кратное и более увеличение концентрации вирусоспецифических АТ-IgG во втором образце при проведении тестирования парных образцов сыворотки/плазмы периферической крови. В случае первичного инфицирования будут выявляться низкоавидные вирусоспецифические АТ-IgG, при реинфекции и реактивации – высокоавидные.

При использовании только косвенных методов лабораторной диагностики – выявлении вирусоспецифических АТ, нередко возникают затруднения в интерпретации результатов. Обнаружение ДНК ВВЗ методом ПЦР способствует корректной интерпретации данных и верификации диагноза заболевания. Обнаружение ДНК ВВЗ в различном биологическом материале позволяет при однократном тестировании лабораторно подтвердить диагноз «ветряная оспа», «опоясывающий лишай», установить факт внутриутробного инфицирования плода.

Положительные результаты выявления специфических АТ к АГ ВВЗ в сыворотке/плазме крови новорожденных или детей первых 6 месяцев жизни не являются однозначным свидетельством инфицирования: обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM может быть связано с контаминацией пуповинной крови материнской, АТ-IgG – с трансплацентарной передачей материнских АТ. С другой стороны в ряде случаев ложноотрицательные результаты выявления АТ-IgM к АГ ВВЗ в неонатальном периоде обусловлены наличием иммунологической толерантности новорожденных. Положительные результаты определения АТ в пуповинной крови должны быть подтверждены выявлением ДНК ВВЗ методами АНК. Идентификация ДНК ВВЗ в ткани плаценты подтверждает диагноз, но отсутствие не исключает его.

У больных ВИЧ-инфекцией с атипичными клиническими проявлениями кожных поражений в диагностике ветряной оспы и опоясывающего лишая отдается предпочтение обнаружению ДНК ВВЗ методом ПЦР.

В лабораторной диагностике менингоэнцефалита, энцефалита, обусловленных ВВЗ, у пациентов с иммунодефицитом, в том числе с ВИЧ-инфекцией, наиболее информативно использование количественного определения ДНК ВВЗ в СМЖ методом ПЦР. При этом исследования, направленные на выявление АТ-IgM, АТ-IgG к АГ ВВЗ в сыворотке/плазме периферической крови, в большинстве случаев неинформативны.

Инфекция, вызываемая вирусом Эпштейна-Барр

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) – *Human gammaherpesvirus 4* – ДНК-содержащий вирус, принадлежит семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptovirus*. Инфекция, вызываемая ВЭБ – антропонозное заболевание; источником является больной человек или вирусоноситель.

ВЭБ впервые обнаружен в биоптатах пациентов с лимфомами Беркитта в 1964 г. вирусологами М. Epstein и I. Barr. ВЭБ обладает выраженным тропизмом к В-лимфоцитам, где происходит его размножение, Т-клеткам и клеткам лимфоидных образований. Кроме того, ВЭБ способен длительно персистировать в эпителиоцитах назофарингеальной области и слюнных желез.

В процессе репликации ВЭБ экспрессируется свыше 70 различных вирусоспецифических белков, из них выделяют несколько групп иммуногенных, определение АТ к которым имеет большое значение для диагностики ВЭБ-инфекции и дает возможность различать острую и перенесенную инфекцию, а также ее реактивацию, дифференцировать стадии инфекционного процесса:

- EA (Early antigen) – ранний АГ, кодируемый генами BHRF-1 и BMRF-1;
- EBNA (Epstein-Barr nuclear antigen) – ядерный АГ, кодируемый геном EBNA-1;
- VCA (Viral capsid antigen) – капсидный АГ, кодируемый генами BCLF-1 и BALF-4;
- LMP (Latent membraneprotein) – латентный мембранный белок, кодируемый генами LMP-2A/B, LMP-1.

Инфекция, вызываемая ВЭБ – одна из самых распространенных в мире, к 40 годам более 90% населения имеют специфические АТ-IgG к вирусу. Как правило, первичное инфицирование происходит в детском или подростковом возрасте. Пути передачи вируса различны: воздушно-капельный, контактно-бытовой, парентеральный, половой, трансплацентарный. Факторами передачи вируса являются слюна, кровь, сперма; цервикальный, вагинальный секреты и др. Вирус пожизненно сохраняется в В-лимфоцитах с возможностью его реактивации, как под действием факторов

внешней среды, так и при снижении иммунного статуса человека.

Исход первичной инфекции, вызываемой ВЭБ является следствием взаимодействия различных факторов и представляется несколькими вариантами: выздоровление, латентная форма – бессимптомная персистенция возбудителя или вирусоносительство, при котором происходит периодическое выделение ВЭБ в окружающую среду, представляющее риск для заражения, и хроническая рецидивирующая форма, когда персистенция вируса манифестируется клинической симптоматикой заболевания в течение длительного времени.

Инфицирование ВЭБ может приводить к возникновению заболеваний, различных как по клиническим признакам, так и по тяжести протекания. Среди заболеваний, ассоциированных с ВЭБ, важное медико-социальное значение имеет инфекционный мононуклеоз (90-95%). С 1990 г. в РФ введен обязательный учет заболеваемости инфекционным мононуклеозом, ежегодно регистрируется 40-80 случаев на 100 тыс. населения.

Описаны многочисленные ассоциации ВЭБ с рядом онкологических заболеваний: лимфомой Беркитта, лимфомой Ходжкина, диффузной В-крупноклеточной лимфомой, НК/Т-клеточными лимфомами, назофарингеальной карциномой, карциномой желудка и др., в том числе у ВИЧ-инфицированных пациентов. Выявление ДНК ВЭБ в пораженных участках методом FISH подтверждает этиологическую роль ВЭБ в развитии данных заболеваний. ВЭБ играет ключевую роль в развитии посттрансплантационного лимфопролиферативного поражения (ПТЛП) у пациентов после перенесенной трансплантации внутренних органов. Развитие ПТЛП у реципиентов солидных органов и стволовых клеток в условиях ятрогенной иммуносупрессии сопровождается ВЭБ-инфекцией в 60-70% случаев.

Известно, что ВЭБ может приводить к внутриутробному инфицированию плода с неблагоприятными исходами беременности и влиять на состояние здоровья новорожденных и детей раннего возраста.

Неуклонный рост инфицированности, преобладание атипичных форм течения заболевания, высокий риск канцерогенеза обосновывают необходимость проведения тщательной лабораторной диагностики инфекции, вызываемой ВЭБ.

Показания для обследования

- Подтверждение диагноза инфекционного мононуклеоза;
- мононуклеозоподобный синдром у лиц с ослаблением иммунитета (ВИЧ-инфицированные, химиотерапия по поводу злокачественных новообразований, иммуносупрессивная терапия при трансплантации внутренних органов и т.п.);
- лимфаденопатия (с преимущественным увеличением затылочных, заднешейных и подчелюстных лимфоузлов);
- рецидивирующие воспалительные заболевания ротоглотки;
- профилактические скрининговые исследования;

- высыпания на коже (мононуклеозоподобная сыпь);
- гепатит неясной этиологии;
- гепатоспленомегалия;
- патология ЖКТ, плохо поддающаяся стандартной терапии;
- наличие отягощенного акушерского анамнеза (перинатальные потери, рождение ребенка с врожденными пороками развития);
- наличие в анамнезе у беременных женщин или женщин, планирующих беременность, перенесенного инфекционного мононуклеоза;
- дети, имеющие симптоматику врожденной инфекции, пороки развития или рожденные женщинами из группы риска по внутриутробной передаче ВЭБ;
- пациенты (в первую очередь новорожденные) с сепсисом, гепатитами, менингоэнцефалитом, пневмонией, поражением ЖКТ.

Дифференциальная диагностика

Аденовирусная инфекция, краснуха, корь, ЦМВИ (мононуклеозоподобная форма), острая ВИЧ-инфекция (мононуклеозоподобный синдром), псевдотуберкулез (мононуклеозоподобный синдром); ангина, дифтерия ротоглотки, лимфогранулематоз.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление ДНК и АГ возбудителя, определение АТ к антигенам ВЭБ.

Материал для исследования

- Кровь, плазма крови, лимфоциты или лейкоциты, мокрота, моча, слюна, СМЖ, соскобы из зева, смывы из носоглотки – выявление ДНК; определение АГ;
- сыворотка крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Несмотря на возможность выделения ВЭБ в культуре клеток, данный подход не используется в клинической практике, так как выделение ВЭБ может свидетельствовать лишь об инфицировании пациента вирусом, но не позволяет дифференцировать острую и перенесенную ВЭБ-инфекции и, как следствие, имеет низкую диагностическую ценность. Кроме того, выделение ВЭБ в культуре клеток является процессом трудоемким, дорогостоящим, требующим высокой квалификации персонала.

Обнаружение специфических АТ к АГ ВЭБ в сыворотке крови широко используется для диагностики ВЭБ-инфекции. Одновременное определение сразу трех маркеров (IgG VCA, IgM VCA и IgG EBNA), как правило, позволяет дифференцировать острую инфекцию и наличие перенесенной ВЭБ-инфекции у иммунокомпетентных пациентов. Важным методом диагностики в последние годы стало определение авидности специфических АТ-IgG к VCA ВЭБ. Обнаружение низкоавидных вирусоспецифических АТ-IgG к VCA свидетельствует об острой и инфекции, высокоавидных – о хронической.

Определение АГ ВЭБ в биоптатах опухолевых тканей проводится с ис-

пользованием вестерн-блота, РИФ, проточной цитометрии и ELISA. Наиболее информативным методом детекции белков вируса в биопсийном материале является иммуногистохимический анализ, позволяющий устанавливать локализацию АГ, что существенно облегчает оценку клинической значимости полученного результата. Определение спектра экспрессируемых белков, возможность локализации вирусных АГ в опухолевых тканях позволяет проводить дифференциальную диагностику ВЭБ-ассоциированных онкологических заболеваний. Идентификация АГ ВЭБ в опухолевых клетках особенно эффективна в диагностике назофарингеальной карциномы, первичной лимфомы ЦНС и в дифференциальной диагностике ПТЛП и реакций отторжения трансплантата.

Определение ДНК ВЭБ в различном биологическом материале в настоящее время все чаще используется в практике клинических лабораторий для диагностики и мониторинга ВЭБ-ассоциированных заболеваний. Исследование, направленное на выявление ДНК ВЭБ, может быть проведено при использовании различного биологического материала: кровь, плазма крови, лейкоциты крови, СМЖ, амниотическая жидкость, слюна, мазки (соскобы или смывы) из ротоглотки, бронхоальвеолярная лаважная жидкость, биоптаты внутренних органов. В ряде исследований описан опыт применения ПЦР-РВ для обнаружения ДНК ВЭБ в биоптатах опухолевых тканей.

Метод FISH для выявления коротких цепей нетранслируемых участков мРНК (EBER, Epstein-Barr-virus encoded RNAs) считается «золотым стандартом» для обнаружения и локализации ВЭБ в тканях. EBER фактически представляет собой два участка мРНК: EBER1 и EBER2, кодируемые двумя отдельными, но гомологичными генами вируса. По мнению ряда авторов, FISH для выявления коротких цепей нетранслируемых участков мРНК ВЭБ является наилучшим методом диагностики латентной ВЭБ-инфекции.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Определение АТ IgM и IgG к отдельным белкам позволяет более точно определять фазу течения инфекции, учитывая высокую частоту персистенции вируса (табл. 10).

Таблица 10
Интерпретация результатов выявления комплекса АТ при ВЭБИ [по Hess, 2004]

Интерпретация	АТ VCA		АТ EA IgG	АТ NA IgG
	IgM	IgG		
Отсутствие инфицирования	-	-	-	-
Очень ранняя первичная инфекция	+	-	-	-
Ранняя первичная инфекция	+	+	+	-
Поздняя первичная инфекция	+/-	+	-/+	+
Паст-инфекция	-	+	-	+
Реактивация	+/-	+	+	+

Определение специфических АТ к АГ ВЭБ очевидно затруднено у лиц с нарушениями иммунитета различной природы, в том числе и ВИЧ-инфи-

цированных. У подобных пациентов для диагностики ВЭБ-инфекции рекомендуется использование прямых методов лабораторной диагностики.

Выявление ДНК методом ПЦР является наиболее информативным методом в диагностике инфекционного мононуклеоза, позволяет диагностировать заболевание в остром периоде до 100% случаев. Кроме того, определение вирусной нагрузки ВЭБ в крови является надежным параметром в алгоритме диагностики ВЭБ-ассоциированных заболеваний у иммунокомпromетированных пациентов.

Первичная ВЭБ-инфекция характеризуется высокими значениями концентрации ДНК вируса в крови, при купировании заболевания уровень ее снижается до неопределяемых значений, но может вновь возрасти при реактивации вируса. В тоже время у здоровых носителей ДНК ВЭБ может быть обнаружена во фракции лимфоидных клеток и определяться в концентрации до 50 ГЭ ВЭБ/10⁶ мононуклеарных клеток. Следовательно, применение качественного формата определения ДНК ВЭБ с помощью МАНК затрудняет клиническую интерпретацию положительного результата, поскольку не позволяет отличать активную и латентную инфекцию и поэтому имеет низкую диагностическую значимость. Применение наборов реагентов, основанные на МАНК, в количественном формате (позволяет не только обнаруживать ДНК ВЭБ, но и определять ее концентрацию в биологическом материале) дает возможность дифференцировать острую форму ВЭБ-инфекции от носительства, а также проводить динамическое наблюдение за течением инфекционного процесса, оценить эффективность проводимой терапии.

Определение концентрации ДНК ВЭБ позволяет проводить скрининг пациентов с высоким риском развития ПТЛП с целью раннего медикаментозного вмешательства, поскольку вирусная нагрузка возрастает еще за несколько месяцев до клинического проявления ПТЛП и достигает чрезвычайно высокого уровня, иногда более 10⁶ копий ДНК ВЭБ/мл крови. Увеличение концентрации ДНК вируса также может быть связано с развитием ВЭБ-обусловленных злокачественных опухолей. Высокая концентрация ДНК ВЭБ в плазме крови не только указывает на наличие активной инфекции, но также может служить маркером определенных форм онкологических заболеваний.

Цитомегаловирусная инфекция

Вирус герпеса человека 5 типа или цитомегаловирус человека (ВГЧ-5, ЦМВ) – *Human betaherpesvirus 5* – ДНК-содержащий вирус, принадлежит семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Cytomegalovirus*. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) – хроническая антропонозная болезнь вирусной этиологии, характеризующаяся различными формами патологического процесса – от латентной инфекции до клинически выраженного

генерализованного заболевания. В зависимости от механизма инфицирования различают приобретенную (постнатальную) и врожденную ЦМВИ.

ЦМВ термолабилен: инактивируется при нагревании до 56 °С и при медленном замораживании; быстро разрушается при pH = 3. Хорошо сохраняется при комнатной температуре и сравнительно стабилен при pH = 5-9. Как все герпес-вирусы, ЦМВ способен длительно латентно персистировать во многих органах и инфицировать практически все клетки организма человека, что предопределяет многообразие клинических проявлений.

Патологические изменения, вызванные ЦМВ, впервые описал Н. Ribbert в 1881 г., обнаружив в эпителии почечных канальцев мертворожденного ребенка гигантские клетки. В 1921 г. E. Goodpasture и F. Talbert обнаружили аналогичные клетки в легких, почках и печени умершего новорожденного ребенка и назвали эти клетки цитомегалами, а само заболевание – цитомегалией. Название обусловлено характерным цитопатическим эффектом – увеличением объема клеток и внутриклеточных цитоплазматических включений в инфицированных тканях. В начале 50-х годов прошлого века вирус был изолирован в культуре клеток практически одновременно в трех лабораториях.

В человеческой популяции ЦМВИ широко распространена: уровень инфицированности населения очень высок, в отдельных городах он достигает 90%, среди сельского населения почти в 2 раза ниже – около 50%. Важную роль играет не столько географический район, сколько социально-экономический статус. Присутствие специфических АТ к АГ ЦМВ в популяциях с высоким социально-экономическим уровнем варьируется от 40% до 60%, в низших социально-экономических группах населения – от 80% до 100%. Заражение обычно происходит в раннем детстве – примерно 10-20% детей сталкиваются с вирусом до наступления половой зрелости. С возрастом доля инфицированных ЦМВ увеличивается.

Резервуаром и источником ЦМВИ служит человек, выделяющий вирус во время острой, реактивированной или персистентной формы заболевания. Факторы передачи: вирус может находиться в различных биологических жидкостях (преимущественно в слюне, крови, а также моче, семенной жидкости, секрете шейки матки, грудном молоке, реже – слезной жидкости и др.). Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой, половой, антенатальный (трансплацентарный) и интранатальный, парентеральный. Входными воротами инфекции в антенатальном и интранатальном периодах могут быть плацента и плодные оболочки, в неонатальном и любом возрасте – слизистые оболочки верхних дыхательных путей, генитального, пищеварительного тракта, кожные покровы, конъюнктивы. Вирус проникает в кровь и внедряется в лейкоциты и лимфоидные органы, где происходит его репликация. Эпителиальные и эндотелиальные клетки, фибробласты и гладкомышечные клетки являются преобладающей мишенью для репликации. Инфицированные клетки уве-

личиваются в размерах, приобретают типичную морфологию с ядерными включениями, представляющими собой скопления вируса. Постнатальная ЦМВИ в подавляющем большинстве случаев протекает бессимптомно (80-95%) или в виде нетяжелого катара верхних дыхательных путей, или с длительным субфебрилитетом в виде мононуклеозоподобного синдрома. Продолжительность инкубационного периода при постнатальной ЦМВИ варьирует в пределах 15-90 дней.

ЦМВИ относят к оппортунистическим инфекциям, особую опасность представляет для больных с иммунодефицитами различной природы. Реактивация вируса возникает при различных иммунодефицитных состояниях, в том числе беременности, применении иммунодепрессантов, ВИЧ-инфекции. Манифестная ЦМВИ, сопровождающаяся поражением различных органов: легких, печени, почек, надпочечников, желудочно-кишечного тракта, головного мозга и др., занимает одно из первых мест в структуре оппортунистических заболеваний у ВИЧ-инфицированных пациентов.

ЦМВИ принадлежит к TORCH-инфекциям, она является одной из ведущих причин мертворождений, самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов, заболеваемости новорожденных и младенческой смертности. В развитых странах врожденную ЦМВИ отмечают у 0,3-2,4% выживших новорожденных. Наиболее типичными симптомокомплексами врожденной ЦМВИ являются: недоношенность, низкая масса тела при рождении, персистирующая желтуха, гепатоспленомегалия, геморрагическая сыпь, поражение ЦНС (в том числе микроцефалия), хориоретинит, интерстициальный нефрит, тромбоцитопения, анемия, лимфоаденопатии. При первичной материнской ЦМВИ заражение плода наблюдают в 30-40% случаев. Инфицирование в ранние сроки беременности приводит в ряде случаев к гибели плода, выкидышу, мертворождению или развитию острой врожденной инфекции.

Многообразие клинических форм проявления ЦМВИ требует обязательного лабораторного подтверждения диагноза.

Показания к обследованию

- Женщины, планирующие беременность;
- женщины с отягощенным акушерским анамнезом (перинатальные потери, рождение ребенка с врожденными пороками развития);
- беременные женщины (в первую очередь имеющие УЗИ-признаки внутриутробной инфекции, лимфоаденопатии, лихорадку, гепатит и гепатоспленомегалию неясного генеза);
- беременные женщины с иммунодефицитом, в т. ч. с ВИЧ-инфекцией;
- матери, родившие ребенка с признаками внутриутробной инфекции или врожденными пороками развития;
- дети, имеющие симптоматику врожденной инфекции, пороки развития или рожденные женщинами из группы риска по внутриутробной передаче ЦМВ;

- пациенты (в первую очередь, новорожденные) с сепсисом, гепатитами, менингоэнцефалитом, пневмонией, поражением ЖКТ;
- пациенты с наличием иммунодефицита с клинической картиной органических или генерализованных поражений.

Дифференциальная диагностика

- Токсоплазмоз, листериоз, сифилис, краснуха, герпетическая инфекция, инфекция, вызванная ВЭБ;
- в случае наличия тромбоцитопении и «краснухоподобной» сыпи – парвовирусная инфекция В19;
- у больных с иммунодефицитом: пневмоцистная пневмония, туберкулез, токсоплазмоз, микоплазменная пневмония, грибковые и герпетические инфекции, бактериальный сепсис, лимфопролиферативные заболевания, ВИЧ-энцефалит, нейросифилис, прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия.

Этиологическая лабораторная диагностика включает микроскопические исследования, выявление возбудителя в культуре клеток, обнаружение АГ или ДНК, определение АТ IgM, IgA, IgG, авидности АТ IgG.

Материал для исследования

- Кровь (сыворотка, плазма), лейкоциты крови, моча, слюна, СМЖ – культуральные исследования, выявление ДНК;
- пуповинная кровь, ворсинки хориона – выявление ДНК;
- слюна, моча – выявление АГ;
- сыворотка/плазма крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

При использовании световой микроскопии цитомегалы (гигантские клетки с внутриядерными включениями) могут быть обнаружены в осадке мочи, выводных протоках слюнных желез, а также в пораженных тканях легких, кишечника, головного мозга, поджелудочной железы, эпителии почечных канальцев и других. Метод позволяет диагностировать ЦМВИ лишь в 50% случаев, отсутствие в препарате цитомегалических клеток не исключает ее наличия. На основании результатов, полученных при использовании данного метода, нельзя судить об активности инфекционного процесса, что является прогностически важным (например, во время беременности). В настоящее время микроскопическое исследование для рутинной диагностики ЦМВИ не используется.

Выделение возбудителя в культуре клеток ранее долгое время называли «золотым стандартом» в диагностике ЦМВИ. Известны классический метод выделения ЦМВ в культуре клеток с определением цитопатического эффекта и быстрый культуральный метод (БКМ) с оценкой результатов выявления ранних АГ при помощи моноклональных АТ. Однако вирусологические методы в клинической практике не получили широкого распространения из-за невысокой чувствительности, сложности выполне-

ния, необходимости специального оборудования, а также трудоемкости и длительности исследования.

Выявление специфических АТ IgA, IgG, IgM к АГ ЦМВ в сыворотке или плазме периферической крови проводится при помощи РНИФ, методами иммуноблотинга или ИФА в качественном, полуколичественном и количественном форматах. РНИФ: диагностическая специфичность – 90%, диагностическая чувствительность – 90-95%. ИФА: диагностическая специфичность – 95%, диагностическая чувствительность – 99%. Определение АТ различных классов к АГ ЦМВ (метод ИФА) имеет широкое распространение в клинической практике вследствие быстроты, доступности и простоты выполнения в лабораторных условиях.

Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM может свидетельствовать о первичной инфекции, реинфекции, суперинфекции или реактивации; АТ-IgA – как о первичной инфекции, так и о реактивации; АТ-IgG – о существующей латентной инфекции. Определение avidности вирусоспецифических АТ-IgG в сыворотке или плазме периферической крови методом ИФА позволяет оценить сроки инфицирования, установить период развития инфекционного процесса, дифференцировать первичную инфекцию от инфекции, перенесенную в прошлом.

Для обнаружения АГ вируса в слюне и моче используют метод РИФ. В связи с частой персистенцией ЦМВ выявление АГ не указывает на активность инфекционного процесса. Для диагностики активной ЦМВИ возможно использовать выявление АГ вируса pp65 в лейкоцитах крови. Обнаружение АГ pp65 ЦМВ является более ранним показателем активной инфекции, чем обнаружение вирусоспецифических АТ IgM; выявление в крови пациента возможно за 7-30 дней до появления клинических симптомов. Данный тест применяется только для обнаружения АГ вируса в лейкоцитах. К недостаткам метода относят субъективность при интерпретации полученных данных и зависимость результатов от квалификации специалиста.

В настоящее время основным методом диагностики инфекции, вызываемой ЦМВ, является количественное определение ДНК вируса в лейкоцитах крови, цельной крови, плазме крови, моче, слюне, секретах шейки матки, семенной жидкости, биоптатах внутренних органах и др. методом ПЦР-РВ. Обнаружение ДНК ЦМВ в крови является более чувствительным и специфичным в сравнении с определением АГ pp65 в лейкоцитах. В отличие от определения АГ, выявление и количественное определение ДНК ЦМВ методом ПЦР можно проводить с использованием различного биологического материала. Для определения ДНК или РНК ЦМВ предложены несколько молекулярных методов: Hybrid Capture Assay, bDNA, NASBA. В РФ зарегистрированы и производятся наборы реагентов для выявления и количественного определения ДНК ЦМВ методом ПЦР в различном биологическом материале.

Преимуществом метода ПЦР-РВ с гибридационно-флуоресцентной де-

текцией продуктов амплификации для определения ДНК ЦМВ является его высокие показатели диагностической чувствительности (85-100%) и специфичности (100%), а также быстрота исполнения. С помощью метода ПЦР ЦМВИ может быть обнаружена еще за две недели до начала симптоматики.

Показания к применению различных лабораторных исследований и интерпретация их результатов у разных категорий обследуемых

Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgG позволяет провести скрининговые исследования для установления наличия иммунитета к ЦМВ, в количественном формате – провести динамическое наблюдение, оценить состояние постинфекционного иммунитета к ЦМВ. Определение АТ различных классов к АГ ЦМВ (метод ИФА) имеет широкое распространение в клинической практике, однако при трактовке результатов следует учитывать, что однократное выявление специфических АТ-IgM и/или IgG недостаточно ни для установления факта активной репликации ЦМВ, ни для подтверждения манифестной формы заболевания. Для этих целей необходимо сопоставление результатов исследований, направленных на выявление специфических АТ к АГ ЦМВ в динамике: тестирование парных сывороток крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец был получен не менее чем через 14 дней после первого).

При диагностике поражений головного мозга, обусловленных ЦМВ, дополнительным исследованием является параллельное тестирование сыворотки или плазмы крови и СМЖ, направленное на выявление вирусоспецифических АТ-IgG методом ИФА с расчетом величины интратекальной продукции.

Выявление вирусоспецифических АТ IgA, IgM, IgG при диагностике ЦМВИ у пациентов с иммуносупрессией, выраженным иммунодефицитом (в том числе у больных ВИЧ-инфекцией) малоинформативно, что, в первую очередь, обусловлено дефектом иммунной системы у пациентов данной категории.

При интерпретации результатов обследования в неонатальный период следует учитывать возможность получения ложноотрицательных результатов определения АТ-IgM к АГ ЦМВ, продиктованных иммунологической толерантностью новорожденных.

Клиническое значение определения ДНК или АГ ЦМВ в различных биологических жидкостях неодинаково. Присутствие возбудителя в слюне – лишь маркер инфицированности, не свидетельствующий о существенной вирусной активности. Наличие ДНК или АГ ЦМВ в моче доказывает факт заражения и присутствие определенной вирусной нагрузки, однако из-за длительного выделения вируса его присутствие в моче не является единственным критерием активной ЦМВИ и ЦМВ-болезни (исключение: врожденная ЦМВИ). Наиболее важное диагностическое значение имеет обнаружение ДНК ЦМВ в крови, свидетельствующее о высокоактивной репликации вируса. С помощью ПЦР ДНК ЦМВ может быть выявлена в

крови при бессимптомной ЦМВИ, что важно для оценки риска передачи вируса плоду или для мониторинга пациентов с иммуносупрессией.

ПЦР-исследование в качественном формате целесообразно применять для обнаружения ДНК ЦМВ в крови у беременных, а также для подтверждения ЦМВИ у новорожденных. В случае обследования больных при подозрении на активную и манифестную ЦМВИ необходимо количественное определение содержания ДНК ЦМВ в крови. Концентрация ДНК ЦМВ в крови коррелируют с риском и тяжестью заболевания ЦМВИ у пациентов с иммунодефицитом.

Лабораторное обследование беременных с первичной или реактивированной ЦМВИ направлено главным образом на подтверждение или опровержение факта трансплацентарной передачи ЦМВ от матери к плоду. Установление факта инфицирования плода осуществляется на основании идентификации возбудителя, обнаружения его ДНК в амниотической жидкости, пуповинной крови. Выбор биологического материала определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: амниоцентез – 16-23 недели; кордоцентез – 20-24 недели. Косвенным подтверждением факта инфицирования плода является обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM в пуповинной крови (проведение исследования возможно только начиная с 22 недели гестации), диагностическая чувствительность – 60-70%.

Выявление ДНК ЦМВ в крови беременной – основной маркер высокого риска заражения плода и развития врожденной ЦМВИ. Если заражение плода подтверждено присутствием ДНК ЦМВ в амниотической жидкости или пуповинной крови, а после рождения ребенка в течение первых 7 дней – в любой биологической жидкости, то наличие ДНК ЦМВ в крови детей первых месяцев жизни является подтверждением манифестной ЦМВИ.

Инфекции, вызываемые вирусом герпеса человека 6А и вирусом герпеса человека 6В

ВГЧ-6 – общее название для двух видов вируса – А (ВГЧ-6А) и В (ВГЧ-6В). ДНК-содержащий вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) – *Human betaherpesvirus 6* – принадлежит семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Roseolovirus*. Известна высокая патогенетическая значимость ВГЧ-6; инфекция, индуцированная ВГЧ-6А, наблюдается реже, чем ВГЧ-6В.

ВГЧ-6 впервые обнаружен в 1986 г. у взрослых ВИЧ-инфицированных больных с лимфопролиферативными заболеваниями и назван В-лимфотропным вирусом человека (*HBLV*). После проведения дополнительных исследований это название было изменено на ВГЧ-6. В 2012 г. два типа ВГЧ-6: ВГЧ-6А и ВГЧ-6В классифицированы как отдельные виды, кото-

рые различаются по клеточному тропизму *in vitro*, рестрикционному эндонуклеазному профилю, нуклеотидной последовательности, реактивности с моноклональными АТ и причастности к различным заболеваниям. Предположительно, штаммы ВГЧ-6А относятся к нейровирулентным, тогда как ВГЧ-6В является основным этиологическим агентом внезапной экзантемы и чаще выделяется у пациентов с лимфопролиферативными и иммуносупрессивными заболеваниями. Имеют место географические различия в распространенности ВГЧ-6А и ВГЧ-6В, хотя возможна и их одновременная циркуляция. Превалирующий вид ВГЧ-6 на территории РФ пока не определен.

В настоящее время известно, что ВГЧ-6, единственный из патогенных для человека герпес-вирусов, способен эффективно интегрироваться в теломеры хромосом клетки-хозяина во время латентной фазы вместо образования эписомы, и интегрированный вирусный геном способен продуцировать вирионы. Это состояние получило название хромосомно-интегрированный ВГЧ-6 (хи-ВГЧ-6); явление описано как для ВГЧ-6А, так и для ВГЧ-6В, и встречается в 0,2-1% случаях. Хи-ВГЧ-6А/В может быть унаследован от любого из родителей.

Вирус проявляет тропизм к широкому спектру клеток хозяина: его обнаруживают в лимфатических узлах, лимфоцитах и моноцитах периферической крови, макрофагах, клетках почек, мозга; он инфицирует слюнные железы и выделяется со слюной. Для ВГЧ-6, как и для других герпес-вирусов, характерна способность к персистенции и латентному пребыванию в организме инфицированного человека. Реактивация вируса может происходить в головном мозге, легких, сердце, почках и желудочно-кишечном тракте, особенно у пациентов с иммунодефицитами и пациентов при иммуносупрессивном состоянии, перенесших трансплантацию. Хи-ВГЧ-6 может активироваться при определенных обстоятельствах, таких, как иммунная недостаточность.

ВГЧ-6 может вызывать острые поражения кожи у детей раннего возраста (внезапная экзантема), лихорадку новорожденных с судорожным синдромом, мононуклеозоподобный синдром, участвовать в развитии миалгического энцефаломиелита; у иммунокомпрометированных лиц – быть причиной лихорадки, пневмонии, гепатита, поражения ЦНС.

Инкубационный период заболевания составляет от 5 до 15 дней. Источником и резервуаром инфекции является человек. Как правило, инфицирование ВГЧ-6 происходит на первом или втором году жизни. Инфицирование ВГЧ-6А/В в детском возрасте приводит к высокой частоте выявления вирусоспецифических АТ-IgG; в дальнейшем: около 95% взрослых имеют АТ к АГ ВГЧ-6. По данным российских исследований, у 80% здоровых доноров, 65% ВИЧ-инфицированных и 73% онкологических больных выявляются АТ к АГ ВГЧ-6.

Основной путь передачи ВГЧ-6 – воздушно-капельный. Также возможен:

контактно-бытовой, половой, трансплантационный, трансплацентарный. Длительная репродукция при острой инфекции и персистенция ВГЧ-6А/В в клетках крови внешне здоровых людей, включая доноров, является серьезным фактором риска передачи вируса при переливании крови и ее компонентов, трансплантации органов и тканей. Врожденная инфекция ВГЧ-6 может возникнуть в результате трансплацентарной передачи интегрированного (эписомального) вируса плоду от матери при первичной инфекции, реактивации или путем наследственной передачи хи-ВГЧ-6.

Дифференциальная диагностика

Энтеро- и аденовирусная инфекция, корь, краснуха, скарлатина, пневмония, средний отит, острый пиелонефрит, менингит, пневмококковая бактериемия, аллергические высыпания.

Показания к обследованию

- Пятнисто-папулезная сыпь (экзантема) в сочетании с лимфаденопатией после непродолжительной лихорадки;
- увеличение затылочных, заднешейных и/или околоушных лимфатических узлов;
- исследование после контакта с больным внезапной экзантемой или другой инфекцией, вызванной ВГЧ-6 или с подозрением на данные нозологические формы;
- дифференциальная диагностика экзантемных заболеваний;
- иммунодефицитные состояния;
- хроническая усталость и снижение работоспособности более чем на 50% с длительностью около 6 месяцев при отсутствии других заболеваний, вызывающих аналогичные признаки;
- симптоматика врожденной инфекции, пороки развития у новорожденных.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление возбудителя в культуре клеток, обнаружение ДНК вируса, определение специфических АТ IgM, IgG к антигенам ВГЧ-6.

Материал для исследования

- Плазма крови, СМЖ, лейкоцитарная фракция крови, слюна – выделение ДНК, выявление возбудителя в культуре клеток;
- сыворотка крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Выделение возбудителя в культуре клеток в настоящее время для рутинной диагностики инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В, не применяется ввиду низкой чувствительности, трудоемкости, длительности исполнения и необходимости определенных условий проведения исследований.

Для выявления специфических АТ-IgG, АТ-IgM к АГ ВГЧ-6 в сыворотке/плазме крови используют преимущественно ИФА. Определение вирусоспецифических АТ может быть выполнено в качественном и количественном формате. АТ-IgM к АГ ВГЧ-6А/В появляются в крови на 4-7 сутки от

начала болезни, достигая максимального уровня через 2-3 недели, и могут обнаруживаться в течение 1-2 месяцев. Вирусоспецифические АТ-IgM также могут быть обнаружены при реактивации. АТ-IgG к АГ ВГЧ-6А/В появляются в крови на 7-10 сутки болезни и сохраняются пожизненно.

Преимуществом метода ПЦР-РВ с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации для выявления и количественного определения ДНК ВГЧ-6А/В являются высокие показатели его диагностической чувствительности и специфичности, возможность исследования практически любого вида биологического материала, воспроизводимость полученных результатов, а также быстрота исполнения. Данный метод независим от иммунологического статуса обследуемого пациента. Неоспоримым достоинством использования молекулярно-биологических методов является возможность дифференцирования уникальных видов ВГЧ-6А и ВГЧ-6В как в качественном, так и количественном формате.

Аналитическая чувствительность применяемых сейчас в РФ наборов реагентов на основе МАНК, предназначенных для выявления и количественного определения ДНК ВГЧ-6А/В, составляет от 400 копий/мл или 5 копий/ 10^5 клеток, аналитическая специфичность – 100%.

В настоящее время основным методом диагностики инфекции, вызываемой ВГЧ-6А/В, является количественное определение ДНК вируса в крови, других биологических жидкостях и тканях методом ПЦР-РВ. Количественное определение ДНК ВГЧ-6 в цельной крови и плазме крови позволяет дифференцировать латентную и активную инфекцию – вирус может присутствовать в лейкоцитах и здоровых лиц, поэтому обнаружение вируса в плазме подтверждает наличие активной инфекции, характерной для первичной инфекции или реактивации.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Выявление вирусоспецифических АТ-IgG используется в скрининговых исследованиях для определения наличия иммунитета к ВГЧ-6А/В. Результаты определения АТ-IgG в количественном формате позволяют провести динамическое наблюдение, оценить состояние постинфекционного иммунитета к ВГЧ-6А/В, обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM – установить диагноз текущей первичной инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В типа, или реактивации. Лабораторным подтверждением первичной инфекции является выявление вирусоспецифических АТ-IgM и/или переход отрицательного результата в положительный при обнаружении вирусоспецифических АТ-IgG или 4-кратное и более увеличение их концентрации во втором образце (при условии, что тестирование парных сывороток крови проведено одновременно в одном опыте и второй образец был получен не менее чем через 14 дней после первого). Однако не у всех детей с первичной инфекцией, вызываемой ВГЧ-6А/В, отмечается продукция вирусоспецифических АТ-IgM, а у 5% взрослых они выявляются постоянно. Известны затруднения в расшифровке полученных результатов косвенных

методов лабораторной диагностики, связанные с медленным увеличением концентрации АТ-IgG к АГ ВГЧ-6А/В при первичной инфекции и перекрестной реактивностью между различными представителями подсемейства *Betaherpesvirinae* (ВГЧ-6А, ВГЧ-6В, ВГЧ-7, ЦМВ).

Результаты определения ДНК ВГЧ-6А/В в количественном формате позволяют провести динамическое наблюдение: на основании увеличения концентрации в периферической крови, лейкоцитах и плазме крови, СМЖ, смывах и мазках из ротоглотки установить активность инфекционного процесса, выявить реактивацию, оценить эффективность проводимой противовирусной терапии.

Использование метода ПЦР-РВ с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации именно в количественном формате при исследовании биологических образцов, особенно таких, как кровь и биоптаты, является предпочтительным. Благодаря широкому линейному диапазону измерений он позволяет выявлять и количественно определять низкие концентрации ДНК ВГЧ-6, идентифицируемые у здоровых людей, и высокие, обнаруживаемые в пораженных вирусом тканях.

Для выявления пациентов с хи-ВГЧ-6 показано использование ПЦР-РВ с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в количественном формате или метод FISH. Высокая концентрация специфической ДНК в различном биологическом материале (кровь, лейкоциты крови, биоптаты и др.) может привести к неверному диагнозу из-за ошибочного предположения о том, что пациент переносит активную инфекцию, вызванную ВГЧ-6А/В.

В большинстве случаев для выявления хи-ВГЧ-6 достаточно исследования цельной крови методом ПЦР-РВ в количественном формате. Концентрация ДНК ВГЧ-6 более 5,5 lg копий/мл цельной крови, сохраняющаяся с течением времени, у пациентов без клинических признаков острой инфекции достоверно свидетельствует о хи-ВГЧ-6. Дополнительным подтверждением хи-ВГЧ-6 являются результаты обследования биологических родителей пациента (по крайней мере один из двух будет иметь хи-ВГЧ-6) или братьев и сестер. Выявление ДНК ВГЧ-6 в волосяных фолликулах или ногтевых пластинках также свидетельствует об интегрированной форме вируса, потому что только при хи-ВГЧ-6 обнаруживают специфическую ДНК вируса в этом биологическом материале. Такое исследование показано в ряде случаев, когда взятие образцов крови у пациента затруднено.

Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 7

ДНК-содержащий вирус герпеса человека 7 типа (ВГЧ-7) – *Human betaherpesvirus 7* – принадлежит семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Roseolovirus*. ВГЧ-7 впервые выделен в 1990 г. из Т-лимфоцитов здорового донора, вирус тесно связан с ВГЧ-6 генетически,

биологически и иммунологически.

ВГЧ-7 инфицирует Т-клетки, моноциты-макрофаги, эпителиальные клетки и клетки центральной нервной системы. Репликация вируса происходит в CD4+ Т-лимфоцитах и моноцитах. ВГЧ-7 может индуцировать реактивацию ЦМВ и ВГЧ-6, что в клиническом плане иногда затрудняет верификацию этиологии заболевания.

ВГЧ-7 широко распространен во всем мире: более 95% взрослых имеют специфические АТ к АГ вируса, и у большинства вирус можно обнаружить в мононуклеарах периферической крови. У 75% здоровых людей ВГЧ-7 обнаруживается в слюне. Первичная инфекция, вызванная ВГЧ-7, протекает в детстве, однако, в более позднем возрасте, чем ВГЧ-6.

Основной путь передачи ВГЧ-7 – через слюну, характерна внутрисемейная передача вируса. ВГЧ-7 не вызывает внутриутробной инфекции. Продолжительность инкубационного периода достоверно неизвестна, но по аналогии с ВГЧ-6 можно предположить, что она составляет от 7 до 15 дней. Источником и резервуаром инфекции является человек.

ВГЧ-7 после перенесенной первичной инфекции сохраняется латентно в организме человека в течение всей жизни. Однако он может реактивировать при выраженном снижении иммунитета. Подобная ситуация наиболее характерна для пациентов с выраженной иммуносупрессией, например, при трансплантации костного мозга или других органов. Реактивация ВГЧ-7 на фоне иммунодефицита характеризуется как просто лихорадкой, так и развитием пневмонии, энцефалита, реакции «трансплантат против хозяина» и отторжением пересаженного органа.

Основными клиническими проявлениями первичной ВГЧ-7-инфекции у детей являются внезапная экзантема (ВЭ) и лихорадка без сыпи. При этом только 10% случаев ВЭ ассоциировано с ВГЧ-7, в основном этиологическим агентом данного заболевания является ВГЧ-6. Среди других клинических проявлений выделяют мононуклеозоподобный синдром (сочетанная герпесвирусная инфекция, активация ВЭБ). Описаны также случаи гепатита, менингоэнцефалита; обсуждается роль ВГЧ-7 в развитии миалгического энцефаломиелита, болезни Кикучи-Фуимота.

Дифференциальная диагностика

Заболевания, протекающие с экзантемой, септические состояния, аллергические высыпания, энцефалит, миелит различной этиологии.

Показания к обследованию

- Пятнисто-папулезная сыпь (экзантема) в сочетании с лимфаденопатией после непродолжительной лихорадки;
- увеличение периферических лимфатических узлов;
- исследование после контакта с больным внезапной экзантемой или другой инфекцией, вызванной ВГЧ-7 или с подозрением на данные нозологические формы;

- дифференциальная диагностика экзантемных заболеваний;
- иммунодефицитные состояния;
- хроническая усталость и снижение работоспособности более чем на 50% с длительностью около 6 месяцев при отсутствии других заболеваний, вызывающих аналогичные признаки.

Этиологическая лабораторная диагностика включает обнаружение ДНК вируса, определение специфических АТ.

Материал для исследования

- Плазма крови, слюна, СМЖ, биоптаты – обнаружение ДНК;
- сыворотка крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Определение специфических АТ к АГ ВГЧ-7 на данный момент не имеет решающего значения для этиологической диагностики инфекции, вызываемой ВГЧ-7, так как его использование ограничено существующими трудностями в интерпретации полученных результатов. Это обусловлено высокой степенью перекрестной реактивности между ВГЧ-6 и ВГЧ-7, не позволяющей получить достоверный результат определения вирусоспецифических АТ к АГ каждого из вирусов.

Диагностика инфекций, вызванных ВГЧ-7, в большей мере основана на использовании молекулярно-биологических методов, позволяющих выявлять и количественно определять ДНК возбудителя. В РФ на сегодняшний день общедоступным является определение ДНК ВГЧ-7 методом ПЦР-РВ как в качественном, так и в количественном формате. Биологическим материалом для исследования служат: кровь, плазма крови, слюна, БАЛ, СМЖ, образцы тканей, полученные при биопсии.

Преимуществом метода ПЦР-РВ с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации является высокие показатели его диагностической чувствительности и специфичности, а также быстрота исполнения, воспроизводимость полученных результатов. Аналитическая чувствительность современных наборов реагентов для определения ДНК ВГЧ-7 методом ПЦР составляет от 500 копий ДНК вируса/мл исследуемого образца. Аналитическая специфичность – 100%.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Клиническое значение определения ДНК ВГЧ-7 в различных биологических жидкостях неодинаково. Выявление ДНК вируса в слюне в полной мере не свидетельствует о вирусной активности и лишь является показателем инфицированности. ВГЧ-7 может присутствовать в низкой концентрации в клетках периферической крови (лейкоциты, моноциты) здоровых лиц, поэтому только количественное определение ДНК вируса позволяет дифференцировать латентную и активную инфекцию. Обнаружение ВГЧ-7 в плазме крови подтверждает этиологическую роль данного вируса в развитии текущего лихорадочного состояния.

Результаты определения ДНК ВГЧ-7 в крови и СМЖ (по показаниям) в количественном формате позволяют провести динамическое наблюдение, установить активность инфекционного процесса, выявить реактивацию, оценить эффективность проводимой этиотропной противовирусной терапии.

Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 8

Вирус герпеса человека 8 (ВГЧ-8) – *Human gammaherpes virus 8* – ДНК-содержащий вирус – принадлежит семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Rhadinovirus* (ICTV, 2016).

ВГЧ-8 открыт в 1994 г. Y. Chang с соавт. при исследовании участков поражений кожи ВИЧ-позитивных больных с саркомой Капоши (СК). В 1996 г. геном вируса был полностью расшифрован.

ВГЧ-8 инфицирует широкий спектр клеток человека, включая эндотелиальные клетки, В-лимфоциты, моноциты, эпителиальные клетки и кератиноциты. Источником и резервуаром инфекции является больной человек или вирусоноситель. Факторы передачи: кровь, слюна, сперма, вагинальный секрет, грудное молоко. Пути передачи: половой, трансплантационный, контактно-бытовой, трансплацентарный.

На текущий момент достоверно известно по крайней мере о трех заболеваниях, развитие которых ассоциировано с ВГЧ-8: СК, мультицентрическая болезнь Каastleмана (МБК) и первичная лимфома серозных оболочек.

Саркома Капоши – многоочаговая злокачественная опухоль сосудистого происхождения с преимущественным поражением кожных покровов, вовлечением внутренних органов и лимфатических узлов. Составляет не более 1% от всех случаев злокачественных новообразований в мире. Выделяют 4 основных варианта СК:

- Классическая (идиопатическая, спорадическая, европейская) – встречается у лиц пожилого возраста, преимущественно мужчин, характеризуется бессимптомным или малосимптомным течением с появлением пятен, бляшек на коже дистальных отделов нижних конечностей, появлением болезненных образований в мягких тканях, лимфаденопатии в дальнейшем.
- Эндемическая (африканская) – развивается у детей, молодых людей из африканских стран (преимущественно Центральной Африки), характеризуется агрессивным, часто молниеносным течением с глубоким поражением дермы, подкожной клетчатки, мышц (формирование множественных подкожных узлов и язв), костей, легких, ЖКТ, печени, селезенки.
- Эпидемическая (СПИД-ассоциированная) – развивается у ВИЧ-инфицированных больных, характеризуется быстрым течением, с появления поражений на коже головы (нос, ушные раковины, веки) и туловище, слизистых оболочках ротовой полости, половых органов. В 10-15% слу-

чаев возможно появление элементов на твердом и мягком небе, корне языка. Очаги поражения быстро изъязвляются, что приводит к появлению болевого синдрома и нарушению функции вовлеченного органа. Кроме того, в воспалительный процесс вовлекаются лимфатические узлы, ЖКТ и легкие.

- Иммуносупрессивная (ятрогенная) – развивается у пациентов с иммунодефицитным состоянием (например, перенесших трансплантацию солидных органов (почка, печень) и получающих иммуносупрессивную терапию; исключение: ВИЧ-инфекция), характеризуется ограниченным поражением кожных покровов в дебюте, с последующим изъязвлением и появлением болевого синдрома. Отмена иммуносупрессивных препаратов приводит к регрессу новообразований (24-80%).

Мультицентрическая болезнь Кастлемана – гетерогенная группа лимфопролиферативных заболеваний, протекающих с конституциональными симптомами и характеризующихся генерализованной лимфаденопатией, органомегалией (гепато- и/или спленомегалией), полиорганной недостаточностью (асцит, анасарка) и аутоиммунными осложнениями (иммунная тромбоцитопения, аутоиммунная гемолитическая анемия), спровоцированных развитием гиперцитокинемии. Около 20-40% случаев МБК ассоциировано с ВГЧ-8. ВГЧ-8-позитивная МБК характеризуется агрессивным течением и высоким риском трансформации в плазмобластную лимфому. ВГЧ-8-негативную МБК относят к идиопатической (этиология не известна).

Первичная лимфома серозных оболочек – крупноклеточная В-клеточная лимфома, характеризующаяся появлением массивного выпота (плеврит, перикардит, асцит) без признаков нодального или экстранодального опухолевого поражения.

Кроме того ВГЧ-8 также ассоциируется с тяжелыми, неопухолевыми осложнениями, такими как гемофагоцитарный синдром, панцитопения, гепатит и синдром воспалительных цитокинов, связанных с ВГЧ-8, у реципиентов солидных органов.

Инфицированность населения ВГЧ-8 в различных странах мира существенно варьирует и четко коррелирует с уровнем заболеваемости СК. Некоторые географические регионы, такие как Африка к югу от Сахары, Средиземноморский регион и провинция Синьцзян в Китае, являются эндемичными, в то же время в Западной Европе и США наблюдается низкая распространенность. При этом частота выявления лиц, имеющих вирусоспецифические АТ в общей популяции (за исключением ВИЧ-инфицированных), в большинстве стран Африки к югу от Сахары превышает 50%, в странах Средиземноморского региона имеет среднее значение в пределах 10-30%, в Северной Европе, ряде стран Азии, Австралии и США составляет менее 10%. При изучении распространенности ВГЧ-8 среди населения разных возрастных групп различных стран мира показано, что с возрас-

том инфицированность увеличивается линейно, однако в эндемичных регионах выявлены более высокие показатели среди детей и подростков. Это указывает на то, что в популяциях эндемичных регионов передача ВГЧ-8 в основном происходит от матери ребенку и между братьями и сестрами в детстве и подростковом возрасте. В РФ, согласно представленным данным В.Э. Гурцевич с соавт. (2011), распространенность ВГЧ-8 среди населения составила от 4 до 21,5%. Статистические данные о заболеваемости СК в РФ отсутствуют, поскольку данное заболевание учитывается в совокупности со всеми злокачественными новообразованиями кожи.

На текущий момент на основании филогенетического анализа гена К1 выделяют 7 основных генотипов ВГЧ-8: А, В, С, D, E, F и Z. Генотипы А и С распространены в Европе, Австралии и США. Генотип D поражает коренных жителей Тихоокеанского бассейна. Генотипы А, В, С, F обнаружены у пациентов, инфицированных ВИЧ (ВИЧ-1). Показано, что генотип А чаще выявляют при классической и эпидемической СК, В и С – лимфопролиферативных заболеваниях (лимфомы, генерализованные лимфаденопатии, МБК).

Первичная инфекция ВГЧ-8 чаще всего протекает бессимптомно или сопровождается комплексом неспецифических клинических симптомов и синдромов, таких как лихорадка, макулопапулезная сыпь, лимфаденопатия, гепатоспленомегалия, цитопения. К группам риска по развитию заболеваний, ассоциированных с ВГЧ-8, относятся: ВИЧ-инфицированные пациенты, пациенты с глубокой иммуносупрессией другого генеза (например, Т-клеточно-специфическая иммуносупрессия у реципиентов солидных органов и гемопоэтических стволовых клеток; цитостатическая терапия у онкологических больных и др.), МСМ, лица с внутривенным употреблением психоактивных веществ, мужчины в возрасте старше 70 лет. Установлено, что инфицирование ВГЧ-8 приводит к развитию манифестной СК у ВИЧ-инфицированных пациентов в течение 3-10 лет. У больных ВИЧ-инфекцией развитие СК наблюдают в 20 000 раз чаще, чем в общей популяции, и в 300 раз чаще, чем среди больных с глубокими иммунодефицитами другого генеза. У МСМ СК диагностируют в 10-20 раз чаще, чем у женщин. Согласно принятым в РФ критериям (приказ Минздравсоцразвития России от 17 марта 2006 г. №166), если у больного ВИЧ-инфекцией диагностируется СК (при отсутствии других причин для ее развития), это служит основанием для установления и регистрации диагноза «СПИД».

У пациентов любого возраста, инфицированных ВГЧ-8 и получающих длительно иммуносупрессивную терапию, в том числе после трансплантации солидных органов, риск развития СК увеличивается в 400-500 раз. В целом, кумулятивная заболеваемость посттрансплантационной СК варьирует от 0,3% до 0,8% в неэндемичных регионах до 3,2-5,3% в эндемичных. При этом показано, что манифестация СК регистрируется на фоне иммуносупрессии у 13% реципиентов почки, инфицированных ВГЧ-8. Уровень забо-

леваемости на 100 000 человеко-лет наиболее высокий у реципиентов почек, по сравнению с реципиентами печени, сердца и легкого (крайне низкий).

Показания к обследованию

- Пациенты с высоким риском развития ВГЧ-8-ассоциированных заболеваний: лица с иммуносупрессией различного генеза;
- пациенты с клиническими признаками ВГЧ-8-ассоциированных заболеваний;
- МСМ;
- подтверждение диагноза «СК», «Первичная лимфома серозных оболочек», «ВГЧ-8-позитивная МБК»

Дифференциальная диагностика

Саркома Капоши: в начальной стадии заболевания и при его локализованных формах необходимо проводить дифференциальную диагностику с гематомой, бактериальным ангиоматозом, пиогенной гранулемой, дифференцированной ангиосаркомой. В поздней стадии СК – с акроангиодерматитом (псевдосаркома Капоши типа Мали), бактериальным ангиоматозом. Поражения на слизистых оболочках полости рта и глотки дифференцируют с неходжкинской лимфомой, плоскоклеточным раком, бактериальным ангиоматозом.

ВГЧ-8-позитивная мультицентрическая болезнь Кастлемана: идиопатическая МБК, инфекционные заболевания (заболевания, вызванные ВЭБ (инфекционный мононуклеоз, реактивация хронической ВЭБИ), инфекции и лимфаденопатия, вызванные другими инфекционными/инвазивными агентами (активная или неконтролируемая ЦМВИ, токсоплазмоз, активный туберкулез, ВИЧ-инфекция), аутоиммунные/аутовоспалительные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, болезнь Стилла, ювенильный идиопатический артрит, IgG4-связанные заболевания, аутоиммунный лимфопрлиферативный синдром), злокачественные/доброкачественные новообразования, диагностированные до или во время обследования по поводу МБК (лимфомы (Ходжкина и неходжкинские), множественная миелома, первичная плазмоцитома лимфатических узлов, саркома из фолликулярных дендритических клеток, солидные опухоли).

Первичная лимфома серозных оболочек: диффузная крупно-В-клеточная лимфома, лимфома Беркитта.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление АГ или ДНК ВГЧ-8, определение специфических АТ классов IgM, IgG к АГ вируса.

Материал для исследования

- Кровь, плазма крови, мазки (соскобы) со слизистой оболочки ротоглотки, слюна, образцы плевральной или асцитической жидкости – выявление ДНК;
- биоптаты кожи, лимфоузлов, костного мозга – выявление АГ, ДНК;
- сыворотка или плазма крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Выявление специфических АТ-IgG к АГ ВГЧ-8 в сыворотке/плазме крови проводится с помощью ИФА в качественном, полуколичественном или количественном форматах. Диагностическая чувствительность и специфичность варьируют в диапазоне от 60 до 100%. На текущий момент исследование, направленное на обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM в сыворотке или плазме крови, недоступно для широкого применения в клинико-диагностических лабораториях, ввиду отсутствия зарегистрированных наборов реагентов для этих целей.

Для выявления АГ ВГЧ-8 (преимущественно в качестве мишени используется ассоциированный с латентностью ядерный АГ 1 – LANA-1) в биоптатах кожи из очагов поражений, лимфатических узлов, костного мозга используют иммуногистохимические методы.

В настоящее время в практике клинико-диагностических лабораторий для определения ДНК ВГЧ-8 в различном биологическом материале все чаще используются МАНК (преимущественно ПЦР). К неоспоримым достоинствам ПЦР-РВ с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации при диагностике инфекций, вызываемых ВГЧ-8, относят: возможность исследования всего спектра биологического материала необходимого для решения различных диагностических задач (включая и биоптаты, фиксированные в парафиновых блоках), а также количественной оценки получаемых результатов. В РФ зарегистрированы и производятся наборы реагентов для выявления и количественного определения ДНК ВГЧ-8 методом ПЦР в различном биологическом материале.

Показания к применению различных лабораторных исследований и интерпретация их результатов

Определение стадии развития инфекционного процесса, обусловленного ВГЧ-8, при помощи иммунохимических методов на сегодняшний момент затруднено ввиду отсутствия возможности выявления вирусоспецифических АТ-IgM в сыворотке/плазме крови. Обнаружение АТ-IgG свидетельствует о наличии постинфекционного иммунитета к ВГЧ-8, указывает на существующую латентную инфекцию. О текущей первичной инфекции, реинфекции, реактивации будет свидетельствовать увеличение концентрации вирусоспецифических АТ-IgG во втором образце, взятом с интервалом 10-14 дней, при проведении тестирования парных образцов сыворотки/плазмы крови. Наличие вирусоспецифических АТ-IgG не может являться лабораторным критерием подтверждения заболеваний, ассоциированных с ВГЧ-8. При анализе и интерпретации получаемых результатов следует учитывать, что частота обнаружения АТ-IgG к АГ ВГЧ-8 варьирует в широких пределах (10-70% в зависимости от географического региона в котором проводится исследование); специфические АТ-IgG к АГ ВГЧ-8 можно обнаружить в крови за несколько месяцев, лет до появления первых клинических симптомов СК, МБК, первичной лимфомы серозных

оболочек. Рассматривается необходимость проведения целевого скрининга доноров и реципиентов группы риска или лиц из эндемичных регионов в не эндемичных регионах.

Диагноз «СК», «МКБ», «первичная лимфома серозных оболочек» устанавливается на основании анализа данных клинической картины, общеклинического и инструментального обследования с обязательным гистологическим подтверждением. В связи с необходимостью проведения дифференциальной диагностики с широким спектром онкологических и дерматологических заболеваний показано использование прямых методов лабораторной диагностики, направленных на выявление АГ или ДНК ВГЧ-8. Выявление АГ ВГЧ-8 в биоптатах из пораженных участков кожи, лимфоузлов, костного мозга проводится при лабораторном подтверждении диагноза «СК» и «ВГЧ-8-позитивная МБК». Подтверждением диагноза «СК», «ВГЧ-8-позитивная МБК», «первичная лимфома серозных оболочек» является обнаружение ДНК ВГЧ-8 при использовании МАНК в различных типах биологического материала: биоптаты из пораженных участков кожи, кровь (СК), биоптаты лимфоузлов и/или костного мозга, кровь (ВГЧ-8-позитивная МБК), образцы плевральной или асцитической жидкости, кровь (первичная лимфома серозных оболочек).

Выявление ДНК ВГЧ-8 методом ПЦР в крови, мазках (соскобах) со слизистой оболочки ротоглотки, слюне позволяет изучать распространенность ВГЧ-8 среди различных групп населения и повышает эффективность диагностики заболеваний, ассоциированных с данным вирусом. Определение ДНК ВГЧ-8 в крови и плазме крови в количественном формате показано для определения репликативной активности вируса, может быть использовано для оценки риска развития посттрансплантационных осложнений, обусловленных ВГЧ-8; мониторинга эффективности проводимой терапии у пациентов с СК, ВГЧ-8-позитивной МБК, первичной лимфомой серозных оболочек; прогноза развития заболевания.

Литература

1. Азарова В.С., Домонова Э.А., Гуцин. А.Е. Вирус простого герпеса // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А – М.: Рипол Классик, 2018. – С.502-507.
2. Азарова В.С., Скачкова Т.С., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Цитомегаловирус человека // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А – М.: Рипол Классик, 2018. – С.521-529.
3. Азова М.М., Гигани О.Б. Роль вируса Эпштейна–Барр в возникновении и развитии опухолевых заболеваний // Естествознание и гуманизм. – 2006. – т.3. –№3. – С.3.
4. Вакцина против ветряной оспы и опоясывающего лишая: документ по позиции ВОЗ. Еженедельный эпидемиологический бюллетень ВОЗ 20 июня 2014 года / WHO – 2014. – https://www.who.int/immunization/position_papers/varicella_herpes_zoster_vaccine_pr_ru_2014.pdf. (дата обращения 22.04.2020)

5. Вашура Л.В., Савенкова М.С., Савенков М.П. и др. Значение вируса герпеса 6-го типа в генезе судорожного синдрома у детей // Детские инфекции. – 2014. – №4. – С.18-23.
6. Вирус простого герпеса // ВОЗ. Информационный бюллетень №400. 2015 г.
7. Горейко Т.В., Калинина Н.М., Дрыгина Л.Б. Современные представления об иммунопатогенезе инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Инфекция и иммунитет. – 2011. – №2 – С.121-130.
8. Гурцевич В.Э. Роль вируса Эпштейна–Барр в онкогематологических заболеваниях человека // Клиническая онкогематология. – 2010. – №3. – С.222-234.
9. Гурцевич В.Э., Яковлева Л.С., Галецкий С.А. и др. Клинико-вирусологические особенности заболеваний, ассоциированных с вирусом саркомы Капоши // Инфекция и иммунитет. – 2011. – №2. – С.151-160.
10. Давидович Г.М., Карпов И.А. Клиническое течение вирусной инфекции Эпштейн–Барр у пациентов с ВИЧ // Рецепт. – 2007. – №4. – С.115-117.
11. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Ермак Т.Н., Шипулина О.Ю. Герпес-вирусные инфекции // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник/ Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: Издательство БИНОМ, 2013. – С.38-40.
12. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Ермак Т.Н., Гущин А.Е., Шипулина О.Ю. Инфекция, вызываемая вирусом простого герпеса // «Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. – М.: БИНОМ, 2013. – С.100-105.
13. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Ермак Т.Н., Шипулина О.Ю. Инфекция, вызываемая вирусом Варицелла-Зостер // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник/ Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: Издательство БИНОМ, 2013. – С.105-109.
14. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Ермак Т.Н., Шипулина О.Ю. Инфекция, вызываемая вирусом Эпштейна–Барр // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник/ Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: Издательство БИНОМ, 2013. – С.109-113.
15. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Ермак Т.Н., Шипулина О.Ю. Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 6-го типа // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: БИНОМ, 2013. – С.119-122.
16. Домонова Э.А., Шипулина О.Ю., Сильвейстрова О.Ю., Шипулин Г.А. Разработка набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса человека 7 типа в клиническом материале методом полимеразой цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией // Инфекционные болезни взрослых и детей. Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики. III Межрегиональная научно-практическая конференция. – Астрахань. – 2012. – С.58-60.
17. Домонова Э.А. Вирусы семейства Herpesviridae, патогенные для человека // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. – М.: Рипол Классик, 2018. – С.499-502.
18. Домонова Э.А., Сильвейстрова О.Ю., Шипулина О.Ю. Вирус герпеса человека 6 типа // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. – М.: Рипол Классик, 2018. – С.529-536.
19. Ермак Т.Н. Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 7-го типа // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: БИНОМ, 2013. – С.122-123.

20. Ермак Т.Н. Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 8-го типа // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: БИНОМ, 2013. – С.123-124.
21. Исаков В.А., Рыбалкин С.Б., Романцов М.Г. Герпесвирусная инфекция: Рекомендации для врачей. СПб, 2006. – 96 с.
22. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека/Руководство для врачей. Под ред. Исакова В.А. – СПб.: СпецЛит, 2013. – 670 с.
23. Каражас Н.В., Малышев Н.А., Рыбалкина Т.Н. и др. Герпетические инфекции. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика // Методические рекомендации. – М. – 2007.
24. Каражас Н.В., Малышев Н.А., Рыбалкина Т.Н. и др. Современные аспекты герпесвирусной инфекции: эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: методические рекомендации/М: Спецкнига, 2012. – 128 с.
25. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: Т.2. Под ред. В.В. Долгова, В. В. Меньшикова – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2013. – 808 с.
26. Кулаков В.И., Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л. Плацентарная недостаточность и инфекция/Руководство для врачей. – М., 2004. – 494 с.
27. Львов Д.К. Медицинская вирусология: руководство / под ред. Д.К. Львова. – Москва: МИА, 2008. – 656 с.
28. Матосова С.В., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Вирус Эпштейна-Барр // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А – М.: Рипол Классик, 2018. – С.514-521.
29. Мелехина Е.В., Музыка А.Д., Петухова Е.В. и др. Методы этиологической диагностики инфекции вируса герпеса человека 6 типа у детей с острыми респираторными заболеваниями // Молекулярная диагностика. Сб. трудов. под ред. В.И.Покровского. – Т.1. –Москва, 2017. – С.222-223.
30. Меликян А.Л., Егорова Е.К., Ковригина А.М. и др. Клинико-морфологические особенности различных вариантов болезни Кастлемана. // Тер.архив. –2015. –№7. – С.64-71.
31. Никольский М.А., Вязовая А.А., Нарвская О.В. Инфекция, обусловленная вирусом герпеса человека 7 типа у детей // Детские инфекции. – 2012. – №4 – С.36-39.
32. Никольский М.А. Вирус герпеса человека 7 типа // Инфекция и иммунитет. – 2013. – №1. – С.15-20.
33. Никольский М.А., Голубцова В.С. Хромосомно–интегрированный вирус герпеса человека 6 типа // Инфекция и иммунитет. – 2015. – №1 – С.7-14.
34. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В. и др. Рекомендации по лечению ВИЧ-инфекции и связанных с ней заболеваний, химиопрофилактике заражения ВИЧ // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. –2019. – №4(1). – 87 с.
35. Руководство и атлас по инфекционным и паразитарным болезням человека/Под ред. Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. СПб: Феникс, 2008. – 932 с.
36. Савичева А.М., Башмакова М.А., Коломиец Н.Д. и др. Методы лабораторной диагностики генитального герпеса // Лабораторная диагностика генитальной герпесвирусной инфекции. Методические указания. СПб:Изд-во Н–Л, 2010. – С.19-27.
37. Савченко Т.Н., Алешкин В.А., Агаева М.И., Шмарина Г.В. Беременность и инфекция, вызванная вирусом Эпштейна–Барр // Российский вестник акушера–гинеколога. – 2014. – №5. – С.22-27.
38. Сильвейстрова О.Ю., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Валидация набора реагентов для количественного определения ДНК вируса Эпштейна–Барр методом полиме-

- разной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией // *Клин Лаб Диагн.* – 2013. – № 9. – С. 67.
39. Сильвейстрова О.Ю., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Валидация набора реагентов для количественного определения ДНК цитомегаловируса человека в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // *Клин Лаб Диагн.* – 2014. – №4. – С.46-49.
40. Сильвейстрова О.Ю., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Вирус Варицелла-Зостер/ Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А – М.: Рипол Классик, 2018. – С.507-514.
41. Сильвейстрова О.Ю., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Вирус герпеса человека 7 типа // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А – М.: Рипол Классик, 2018. – С.536-540.
42. Скачкова Т.С., Азарова В.С., Шипулина О.Ю. Вирус герпеса человека 8 типа // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А – М.: Рипол Классик, 2018. – С.540-546.
43. Современные аспекты герпесвирусной инфекции. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Методические рекомендации (№23). Москва, Департамент здравоохранения Правительства Москвы, 2012 г. – 128 с.
44. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Деловой экспресс, 2016. – 768 с.
45. Шахгильдян В.И. Цитомегаловирусная инфекция // *Инфекционные болезни. Национальное руководство.* Под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – С. 784-796.
46. Шахгильдян В.И., Долгих Т.И., Домонова Э.А. и др. Цитомегаловирусная инфекция // *Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник.* Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: БИНОМ, 2013. – С.113-119.
47. Шахгильдян В.И. Цитомегаловирусная инфекция // *ВИЧ-инфекция и СПИД. Нац.руководво. Краткое издание/ под ред. В.В.Покровского.* – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – С.166-178.
48. Шипулина О.Ю., Шахгильдян В.И., Шипулин Г.А. и др. Полимеразная цепная реакция в диагностике цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов // *Вопросы вирусологии.* – 1989. – №2. – С.91-95.
49. Ющук Н.Д., Шестакова И.В. ВЭБ-ассоциированные новообразования: клиническая, иммунофенотипическая и цитоморфологическая характеристика // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* – 2013. – №3. – С.33-47.
50. Ablashi D, Salahuddin S, Josephs S. et al. HBLV (or HHV-6) in human cell lines // *Nature.* – 1987. – Vol.329. – P.207.
51. Ablashi D., Chatlynne L., Whitman J. et al. Spectrum of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, or human herpesvirus 8 diseases // *Clin Microbiol Rev.* – 2002. – Vol.15. – P.439-464.
52. Achour A., Malet I., Le Gal F. et al. Variability of gB and gH genes of human herpesvirus-6 among clinical specimens // *J Med Virol.* – 2008. – Vol.80. – P.1211-1221.
53. Adams M., Carstens E. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on taxonomy of viruses // *Arch Virol.* – 2012. – Vol.157. – P.1411-1422.
54. Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections // *Clin Microbiol Rev.* – 2015. – Vol.28. – P.313-335.
55. Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7 // *Médecine et Maladies Infectieuses.* – 2017. – Vol.47. – P.83-91.

56. Anderson N., Buchan B., Ledebouer N. Light microscopy, culture, molecular, and serologic methods for detection of herpes simplex virus // *J Clin Microbiol.* – 2014. – Vol.52. – P.2-8.
57. Arbuckle J., Medveczky M., Luka J. et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro // *Proc Natl Acad Sci.* – 2010. – Vol.107. – P.5563-5568.
58. Ashshi A., Klapper P., Cooper R. Detection of human cytomegalovirus, human herpesvirus type 6 and human herpesvirus type 7 in urine specimens by multiplex PCR // *J Infect.* – 2003. – Vol.47. – P.59-64.
59. Basalely D., Khan K., Cavazos G. et al. Pedal presentation of Kaposi's sarcoma in a non-HIV Hispanic female: a case report and literature review. *J Foot Ankle Surg.* – 2012. – Vol. 51. – P.365-368.
60. Bernstein D., Bellamy A., Hook E. et al. Epidemiology, clinical presentation, and response to primary infection with herpes simplex virus type 1 and 2 in young women // *Clin Infect Dis.* – 2013. – Vol.56. – P.344-351.
61. Bhide A., Papageorghiou A. Managing primary CMV infection in pregnancy // *BJOG.* – 2008. – Vol.115. – P.805-807.
62. Boarettia M., Sorrentinob A., Zantedeschia C. et al. Quantification of cytomegalovirus DNA by a fully automated real-time PCR for early diagnosis and monitoring of active viral infection in solid organ transplant recipients // *J Clin Virol.* – 2013. – Vol.56. – P.124-128.
63. Brands-Nijenhuis A., van Loo I., Schouten H., van Gelder M. Temporal relationship between HHV 6 and graft vs host disease in a patient after haplo-identical SCTand severe T-cell depletion // *Bone Marrow Transplant.* – 2010. – Vol.46. – P.1151-1152.
64. Braun D., Dominguez G., Pellett P. Human herpesvirus 6 // *Clin Microbiol Rev.* – 1997. – Vol.10. – P.521-567.
65. Brayfield B., Kankasa C., West J. et al. Distribution of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 in maternal saliva and breast milk in Zambia: implications for transmission // *J Infect Dis.* – 2004. – Vol.189. – P.2260-2270.
66. Butler L., Were W., Balinandi S. et al. Human herpesvirus 8 infection in children and adults in a population-based study in rural Uganda // *J Infect Dis.* – 2011. – Vol.203. – P.625-634.
67. Calattin S., Sereti I., Scheinberg P. et al. Detection of EBV genomes in plasma blasts/plasma cells and non-B cells in the blood of most patients with EBV lymphoproliferative disorders by using Immuno-FISH // *Blood.* – 2010. – Vol.116. – P.4546-4659.
68. Cao Y., Minhas V., Tan X. et al. High prevalence of early childhood infection by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in a minority population in China // *Clin Microbiol Infect.* – 2014. – Vol.20. – P.475-481.
69. Carlson A., Norwitz E., Stille R. Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened? // *Rev Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol.3. – P.172-179.
70. Caserta M., McDermott M., Dewhurst S. et al. Human herpesvirus 6 (HHV6) DNA persistence and reactivation in healthy children // *J Pediatr.* – 2004. – Vol.145. – P.478-484.
71. Caserta M., Hall C., Schnabel K. et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) and Human herpesvirus 7 (HHV-7) infections of pregnant women // *J Infect Dis.* – 2007. – Vol.196. – P.1296-1303.
72. Caserta M., Hall C., Schnabel K. et al. Diagnostic assays for active infection with human herpesvirus 6 (HHV-6) // *J Clin Virol.* – 2010. – Vol.48. – P.55-57.
73. Chang Y., Cesarman E., Pessin M. et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma // *Science.* – 1994. – Vol.266. – P.1865-1869.
74. Chapenko S., Krumina A., Logina I. Association of active human herpesvirus-6, -7 and parvovirus B19 infection with clinical outcomes in patients with myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome // *Adv in Virol.* – 2012. – Vol.2012. – P.1250-1257.

75. Chapenko S., Trociukas I., Donina S. Relationship between beta-herpesviruses reactivation and development of complications after autologous peripheral blood stem cell transplantation // *J Med Virol.* – 2012. – Vol.84. – P.1953-1960.
76. Coyle P., Wyatt D., Ong G. et al. A nested primer set targeting the cytomegalovirus glycoprotein B gene // *J Clin Virol.* – 2002. – Vol.25. – P.95-96.
77. Cusini M., Ghislanzoni M. The importance of diagnosing genital herpes // *J Antimicrob Chemother.* – 2001. – Vol.47, Suppl. T1. – P.9-16.
78. Davison A., Pellett P., Stewart J. Rename species in the family Herpesviridae to incorporate a subfamily designation // *ICTVonline.* – Code assigned: 2015.010aD.
79. De Bolle L., Naesens L., De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy // *Clin Microbiol Rev.* – 2005. – Vol.18. – P.217-245.
80. Distéfano A., Alonso A., Martin F. Pardon F. Human Cytomegalovirus: detection of congenital and perinatal infection in Argentina // *BMC Pediatrics.* – 2004. DOI: 10.1186/1471-2431-4-11.
81. Dominguez G., Dambaugh T., Stamey F. et al. Human herpesvirus 6B genome sequence: Coding content and comparison with human herpesvirus 6A // *J Virol.* – 1999. – Vol.73. – P.8040-8052.
82. Domonova E., Silveystrova O., Dmitriyukova M. et al. HHV-8 salivary shedding in individuals with different HIV status and sexual behavior // 17th European AIDS Conference. Basel, Switzerland, 6-9 November, 2019. – British HIV Association, HIV Medicine. 2019; 20(S9). PE24/16: 217. doi.org/10.1111/hiv.12814.
83. Domonova E., Silveystrova O., Egorova E. et al. Real time PCR method in diagnostic HHV-8-positive multicentric Castelman's disease // *Clinica Chimica Acta.* 2019; 493S1: 576. doi:10.1016/j.cca.2019.03.1192.
84. Draborg A.H., Duus K., Houen G. Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus // *Clin Dev Immunol.* – 2012 – Vol.2012(2012), article ID 370516 doi:10.1155/2012/370516.
85. Du M., Bacon C., Isaacson P. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 and lymphoproliferative disorders. *J Clin Pathol.* – 2007. – Vol.60. – P. 1350-1357.
86. Endo A., Watanabe K., Ohye T. et al. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency // *Clin Infect Dis.* – 2014. – Vol.59. – P.545-548.
87. Epstein L., Shinnar S., Hesdorffer D. Human herpesvirus 6 and 7 in febrile status epilepticus: FEB-STAT study // *Epilepsia.* – 2012. – Vol.53. – P.1481-1488.
88. Fernandez C., Boutolleau D., Manichanh C. et al. Quantitation of HHV-7 genome by real-time polymerase chain reaction assay using MGB probe technology // *J Virol Methods.* – 2002. – Vol.106. – P.11-16.
89. First WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques. <http://www.nibsc.ac.uk/documents/ifu/09-260.pdf>10 (дата обращения 16.04.2019).
90. Frenkel N., Schirmer E., Wyatt L. et al. Isolation of a new herpesvirus from human CD4+ N-cells // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1990. – Vol.87. – P.748-752.
91. Fryer J., Heath A., Anderson R., Minor P. and the Collaborative Study Group. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus (HCMV) for nucleic acid amplification (NAT) – based assays // *WHO ECBS Report 2010.*
92. Garveya C., McGowina C., Foster T. Development and evaluation of SYBR Green-I based quantitative PCR assays for herpes simplex virus type 1 whole transcriptome analysis // *J Virol Meth.* – 2014. – Vol. 201. – P.101-111.
93. Gautheret-Dejean A., Manichanh C., Thien-Ah-Koon F. et al. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of human herpesvirus-6 infection and application to bone marrow transplant patients // *J Virol Methods.* – 2002. – Vol.100. – P.27-35.

94. Gautheret-Dejean A., Agut H. Practical Diagnostic Procedures for HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7 // Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B & HHV-7 (Third Edition) Diagnosis and Clinical Management – 2014. – P.9-34.
95. Géraudiea B., Charriera M., Bonnafousa P. et al. Quantitation of human herpesvirus-6A, -6B and -7 DNAs in whole blood mononuclear and polymorphonuclear cell fractions from healthy blood donors // J Clin Virol. – 2012. – Vol.53. – P.151-155.
96. Gravel A., Hall C., Flamand L. Sequence analysis of transplacentally acquired human herpesvirus 6 DNA is consistent with transmission of a chromosomally integrated reactivated virus // J Infect Dis – 2013. – Vol.207. – P.1585-1589.
97. Gulley M. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases // J Mol Diag. – 2001. – Vol.3. – P.1-10.
98. Gulley M., Fan H., Elmore S. Validation of Roche LightCycler Epstein-Barr Virus quantification reagents in a clinical laboratory setting // J Mol Diagn. – 2006. – Vol.8. – P.589-597
99. Gulley M., Glaser S., Craig F. et al. Guidelines for interpreting EBER In Situ Hybridization and LMP1 immunohistochemical tests for detecting Epstein-Barr virus in Hodgkin Lymphoma // Am J Clin Pathol. – 2002. – Vol.117. – P.259-267.
100. Gulley M., Tang W. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease // J Mol Diagn. – 2008. – Vol.10. – P.279-292.
101. Gupta R., Warren T., Wald A. Genital herpes // Lancet. – 2007. – Vol.370. – P.2127-2137.
102. Hall C., Caserta M., Schnabel K. et al. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7) // J Pediatr. – 2004. – Vol.145. – P.472-477.
103. Hess R. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years // J Clin Microbiol. – 2004. – Vol.42. – P.3381-3387.
104. Hubacek P., Virgili A., Ward K. et al. HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis // Br J Haematol. – 2009. – Vol.145. – P.394-398.
105. Human herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7. Diagnosis and clinical management/ Ed. by Flamand L., Lautenschlager I., Krueger G., Ablashi D. Elsevier:Amsterdam, 2014. – 341 p.
106. Ihira M., Yamaki A., Kato Y. et al. Cycling probe-based real-time PCR for the detection of Human herpesvirus 6A and 6B // J Med Virol. – 2016. – Vol.88. – P.1628-1635.
107. Isegawa Y., Matsumoto C., Nishinaka K. et al. PCR with quenching probes enables the rapid detection and identification of ganciclovir-resistance-causing U69 gene mutations in human herpesvirus 6 // Mol Cell Probes. – 2010. – Vol.24. – P.167-177.
108. Jahan M. Laboratory diagnosis of CMV infection: a review // Bangladesh J Med Microbiol. – 2010. – Vol.4. – P.39-44.
109. Kadyrova E., Lacoste V., Duprez R. et al. Molecular epidemiology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 strains from Russian patients with classic, posttransplant, and AIDS-associated Kaposi's sarcoma. // J Med Virol. – 2003. – ol.71. – P.548-556.
110. Klussmann J., Krueger E., Sloots T. et al. Ultrastructural study of human herpesvirus-7 replication in tissue culture // Virchows Arch. – 1997. – Vol.430. – P.417-426.
111. Labrador J., Aparicio M., Santos-Briz A. Kikuchi-Fujimoto disease: a case supporting a role for human herpesvirus 7 involvement in the pathogenesis // Rheumatol Int. – 2013. – Vol.33. – P.3065-3068.
112. Lautenschlager S., Eichmann A. Urethritis: an underestimated clinical variant of genital herpes in men? // J Am AcadDermatol. – 2002. – Vol.46. – P.307-308.
113. Lay M.-L., Lucas R., Ratnamohan M. et al. Measurement of Epstein-Barr virus DNA load

- using a novel quantification standard containing two EBV DNA targets and SYBR Green I dye // *Virology Journal* 7(1):252 – 2010 doi: 10.1186/1743-422X-7-252.
114. Lazarevic V., Whiteson K., Gaia N. et al. Analysis of the salivary microbiome using culture-independent techniques // *Journal of Clinical Bioinformatics* 2(1):4 – 2012. DOI: 10.1186/2043-9113-2-4.
115. Lazzarotto T., Guerra B., Lanari M. et al. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection // *J Clin Virol.* – 2008. – Vol.41. – P.192-197.
116. Lee Y.-M., Hung P.-S., Lin C.-W. Seroepidemiology and phylogenetic analysis of human herpesvirus type 8 in injection drug users and men who have sex with men in northern Taiwan // *Journal of International Medical Research.* –2018. –48(1). – P.1-12.
117. LeGoff J., Pere H., Belec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory // *Virol J.* – 2014; 11: 83. doi: 10.1186/1743-422X-11-83.
118. Li S., Bai L., Dong J. et al. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus: Epidemiology and Molecular Biology // *AdvExp Med Biol.* – 2017. – Vol.1018. – P.91-127.
119. Luppi M., Marasca R., Barozzi P. et al. Three cases of human herpesvirus-6-latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA // *J Med Virol.* – 1993. – Vol.40. – P.44-52.
120. Madan P., Hand J. Human herpesvirus 6, 7, and 8 in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice // *Clin Transplant.* 2019;33:e13518.
121. Marcelin A., Gorin I., Morand Pet al. Quantification of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in blood, oral mucosa, and saliva in patients with Kaposi's sarcoma AIDS // *Res Hum Retrovir.* – 2004. – Vol.20. – P.704-708.
122. Megaw A., Rapaport D., Avidor B. et al. The DNA sequence of the RK strain of human herpesvirus 7 // *Virology.* – 1998. – Vol.244. – P.119-132.
123. Melikyan A., Egorova E., Julhakyan H., Kovrigina A. Human herpesvirus type 8-positiv multicentric Castleman disease // *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia.* - 2016. Vol.16 (Suppl 1). – P.159-165.
124. Mesri E., Cesarman E., Boshoff C. Kaposi's sarcoma and its associated herpesvirus // *Nat Rev Cancer.* – 2010. – Vol.10. – P.707-719.
125. Minhas V., Wood C. Epidemiology and transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus // *Viruses.* – 2014. – Vol.6. – P.4178-4194.
126. Morissette G., Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration // *J Virol* – 2010. – Vol.84. – P.12100-12109.
127. Nicholas J. Determination and analysis of the complete nucleotide sequence of human herpesvirus // *J Virol.* – 1996. – Vol.70. – P.5975-5989.
128. Odumade O., Hogquist K., Balfour J. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections // *Clin Microbiol Rev.* – 2011. – Vol.24. – P.193-209.
129. Ogata M, Kikuchi H, Satou T. et al. Human herpesvirus 6 DNA in plasma after allogeneic stem cell transplantation: incidence and clinical significance // *J Inf Dis.* – 2006. – Vol.193. – P.68-79.
130. Pass R. Cytomegalovirus // *Fields-Virology.* 4th Edition Ed by Fields B., Howley P., Griffin D. et al. – Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001. – P.4051-4100.
131. Pellett P., Ablashi D., Ambros P. et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers // *Rev. Med. Virol.* – 2012. – Vol.22. – P.144-155.
132. Pereira C., Gasparetto P., Corrka M. et al. Human herpesvirus 6 in oral fluids from healthy individuals // *Arch Oral Biol.* – 2004. – Vol.49. – P.1043-1046.

133. Plancoulaine S., Abel L., van Beveren M. et al. Human herpesvirus 8 transmission from mother to child and between siblings in an endemic population // *Lancet*. – 2000. – Vol.356. – P.1062-1065.
134. Public Health Agency of Canada, Varicella-zoster virus, Pathogen safety data sheet- infectious substances / Electronic resource – 2012. – Mode of access: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/var-zo-eng.php> (дата обращения 16.04.2019)
135. Revello M., Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2002. – Vol.15. – P.680-715.
136. Ross S., Novak Z., Pati S., Boppana S.B. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection // *J Infect Disord Drug Targets*. – 2011. – Vol.11. – P.466-474.
137. Russo J., Bohenzky R., Chen M. et al. Nucleotide sequence of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (HHV8) // *Proc Nat Acad. Sci. (Wash.)*. – 1996. – Vol.93. – P.14862–14867.
138. Ryan J., Fan H., Glaser S. et al. Epstein-Barr virus quantitation by Real-Time PCR targeting multiple gene segments // *J Mol Diagn.* – 2004. – Vol.6 – P.378-385.
139. Salahuddin S., Ablashi D., Markham P. et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders // *Science*. – 1986. – Vol.234. – P.596-601.
140. Sampaio A., Guardia A., Milan A. et al. Cytomegalovirus infection in liver transplantation // *Manifestations of Cytomegalovirus Infection*. Ed. by P. Price, N. Makwana, S. Brunt. – 2013. – DOI: 10.5772/50832
141. Scoular A., Gillespie G., Carman W. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic // *Sex Transm Infect.* – 2002. – Vol.78. – P.21-25.
142. Sijmons S., Van Ranst M., Maes P. Genomic and functional characteristics of human cytomegalovirus revealed by next-generation sequencing // *Viruses*. – 2014. – Vol.6. – P.1049-1072.
143. Sinzger C., Digel M., Jahn G. Cytomegalovirus Cell Tropism // *Human Cytomegalovirus*. Ed. by Shenk T., Stinski M. – Springer Berlin Heidelberg: 2008. – P.63-83.
144. Soulier J., Grollet L., Oksenhendler E. et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castleman's disease // *Blood*. – 1995. – Vol.86. – P.1276-1280.
145. Tanaka-Taya K., Kondo T., Nakagawa N. et al. Reactivation of human herpesvirus 6 by infection of human herpesvirus 7 // *J Med Virol.* – 2000. – Vol.60. – P.284-289.
146. Varicella. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases // *Centers for Disease Control and Prevention* <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/varicella.html> (дата обращения 22.04.2020).
147. Wald A., Huang M-L, Carrell D. et al. Polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus (HSV) DNA on mucosal surfaces: comparison with HSV isolation in cell culture // *J infect Dis.* – 2003. – Vol.188. – P.1345-1351.
148. Ward K. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and -7 infections in the immunocompetent // *J Clin Virol.* – 2005. – Vol.32. – P.183-193.
149. Ward K., Leong H., Nacheva E. et al. Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles // *J Clin Microbiol.* – 2006. – Vol.44. – P.1571-1574.
150. Whitley R., Roizman B. Herpes simplex virus infections // *Lancet*. – 2001. – Vol.357. – P.1513-1518.
151. Workowski K. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010 // *Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports*. – 2010. – Vol.59. – P.1-110.
152. Wylie K., Mihindukulasuriya K., Sodergren E. et al. Sequence analysis of the human virome in febrile and afebrile children // *PLoS One* 2012;7(6):e27735. doi:10.1371/journal.pone.0027735.
153. Yamanishi K., Mori Y., Pellett P. Human Herpesviruses 6 and 7 // *Fields virology*, 6th ed. Ed.

- Knipe D., Howley P. – Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – P.2058-2079.
154. Zerr D., Huang M., Corey L. et al. Sensitive method for detection of human herpesviruses 6 and 7 in saliva collected in field studies // J Clin Microbiol. – 2000. – Vol.38. – P.1981-1983.
155. <http://rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/> (дата обращения 22.04.2020).

■ Инфекция, вызываемая вирусом папилломы человека

Вирус папилломы человека (*Human papillomavirus*) входит в семейство папилломавирусов рода паповирусов (*Papoviridae*). Согласно классификации вирусов по Балтимору (*Baltimore classification*) относятся к классу I – вирусам, содержащим двухцепочечную ДНК; для репликации проникают в ядро клетки и используют клеточную ДНК-полимеразу.

В настоящее время известно более 200 различных генотипов ВПЧ. Для описания и группирования ВПЧ пользуются филогенетической и эпидемиологической классификациями. Филогенетически ВПЧ разделяют на роды – α , β , γ . Каждый род содержит несколько видов, род α представлен видами $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, а каждый вид, в свою очередь, содержит несколько типов вируса, геном которых имеет более 10% отличий, например, вид $\alpha 9$ включает 16, 31, 33, 35, 52, 58, 67 и другие генотипы. По тропности к определенному виду эпителия выделяют «кожные» ВПЧ, которые инфицируют и поражают ороговевающий эпителий (роды β и γ), и «слизистые» или аногенитальные ВПЧ, которые инфицируют и поражают эпителий слизистых оболочек (род α). ВПЧ рода α представлены видами $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\alpha 8$, $\alpha 9$, $\alpha 11$. Они включают более 45 известных на сегодняшний день генотипов. Генитальные типы ВПЧ составляют супергруппу α и разделены на группы $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\alpha 8$, $\alpha 9$, $\alpha 11$ (всего 45 генотипов).

Согласно эпидемиологической классификации, генитальные ВПЧ условно делятся на две группы – низкого и высокого канцерогенного риска (НКР и ВКР). Типы ВПЧ НКР и ВКР способны оказывать продуктивное воздействие на клетки эпителия, приводя к развитию остроконечных кондилом гениталий и дисплазий легкой степени (L-SIL или CIN1). Основные представители группы НКР, 6 и 11 типы, ответственны за более чем 90-95% остроконечных кондилом гениталий и анальной области. Типы ВПЧ ВКР способны также оказывать трансформирующее воздействие на эпителиоциты, приводя к развитию предрака (дисплазии средней и высокой степени тяжести, H-SIL или CIN2,3) и инвазивного рака шейки матки (РШМ), влагалища и вульвы. Основные представители группы ВКР – 16, 18, 31, 33, 35 и 45 типы, ответственны за 80-90% РШМ.

Основная опасность, которую несет инфицирование ВПЧ ВКР, является риск развития РШМ. Этиологическая роль ВПЧ в развитии РШМ на сегодняшний день не вызывает сомнений. Основываясь на эпидемиологических и вирусологических исследованиях, было показано, что ВПЧ является этиологической причиной в 97,3% случаев РШМ. Кроме того, с ВПЧ ассоциированы 88-94% случаев анального рака, 64-91% случаев рака влагалища, 40-50% случаев рака вульвы и рака полового члена и 5-15% случаев орофарингеального рака.

ВПЧ передаются при тесном контакте с пораженными или инфицированными участками кожи и слизистых оболочек. Аногенитальные ВПЧ передаются преимущественно половым путем. Вероятность инфицирования при однократном половом контакте в среднем оценивается на уровне 60-80%. Согласно многочисленным исследованиям, ВПЧ рода α широко распространены в мире. Распространенность ВПЧ имеет региональные отличия и зависит от возраста, полового поведения, социально-экономических особенностей исследуемой популяции. По результатам мета-анализа, опубликованного в 2007 году, наиболее высокая распространенность ВПЧ ВКР установлена на Африканском континенте – 22,9%, в Южной Америке и странах Карибского бассейна – 18,8%. Для большинства стран именно этих континентов характерна самая высокая заболеваемость РШМ. Самый низкий показатель распространенности ВПЧ ВКР – в Западной Европе – 6,6%.

Показания к обследованию

Выявление ВПЧ ВКР

- Определение группы риска по развитию рака шейки матки и рака анального прохода/прямой кишки;
- скрининговые программы для женщин старше 30 лет;
- разрешение неопределенных и сомнительных результатов цитологических исследований (наличие ASCUS – атипичные плоские клетки неясного значения);
- контроль эффективности терапии тяжелой дисплазии (CIN2+) через 6 месяцев после удаления пораженного эпителия.

Выявление ВПЧ НКР

- Определение группы риска развития папилломатоза гортани у ребенка (беременные и новорожденные).

Дифференциальная диагностика

Интраэпителиальные поражения шейки матки, влагалища, вульвы, пениса, ануса непапилломавирусной этиологии; в случае остроконечных кондилом – с проявлениями, связанными с вирусом простого герпеса, а также с истинными папилломами.

Этиологическая диагностика папилломавирусной инфекции включает выявление и количественное определение ДНК ВПЧ ВКР, генотипирование ВПЧ ВКР, выявление ДНК ВПЧ НКР.

Материал для исследования

- Соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс), уретры, анального канала/прямой кишки, ротоглотки; мазок/соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки влагалища – выявление, количественное определение ДНК ВПЧ ВКР, генотипирование ВПЧ;
- мазок из ротоглотки, мазок/соскоб эпителиальных клеток со слизистой оболочки гортани – выявление ДНК ВПЧ НКР.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Лабораторная диагностика ВПЧ имеет определенные особенности. Выявление АТ различных классов к АГ вируса, в силу особенностей течения ВПЧ-инфекции и разнообразия вирусов, для рутинной диагностики не используется. Цитологические и гистологические исследования, направленные на выявление клеток, измененных воздействием активного вируса (койлоциты) или трансформированных вирусом (раковые клетки), используются для установления степени изменения клеток, но не могут свидетельствовать о наличии или отсутствии вируса. Поскольку ВПЧ не может быть изолирован в культуре чувствительных клеток, основной подход, который широко применяют в настоящее время для обнаружения вируса, – выявление его нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) методами гибридизации или амплификации.

Наиболее известный, хорошо изученный в мире и широко апробированный в скрининге тест для выявления ДНК ВПЧ (ВПЧ-тест) основан на гибридизации ДНК вируса с протяженными специфическими РНК-зондами в растворе с последующим захватом РНК-ДНК гибридов с помощью АТ (технология Hybrid Capture 2 DNA Test, Qiagen). Этот тест в 2003 году был одобрен FDA для применения в скрининге.

Тесты для выявления ВПЧ, основанные на ПЦР, начали разрабатывать и применять еще в начале 90-х годов XX века. Для дизайна праймеров применяют два подхода. Первый подход – конструирование олигонуклеотидов с выраженными позициями так, чтобы они были комплементарны широкому спектру типов ВПЧ. Второй подход – выбор типоспецифических олигонуклеотидов, комплементарных только одному типу вируса или выявляющие целую филогенетическую группу. Для выявления ВПЧ ВКР используется также метод амплификации РНК – NASBA, TMA.

В настоящее время предлагается достаточно большое число наборов реагентов для выявления и количественного определения ДНК ВПЧ, генотипирования ВПЧ ВКР как зарубежного, так и отечественного производства. ВПЧ-тесты для скрининга включают наборы для выявления ДНК ВПЧ ВКР без определения генотипов, с определением нескольких генотипов, с отдельным выявлением наиболее онкогенных генотипов (16, 18, 45). ВПЧ-тесты для генотипирования и определения концентрации ДНК ВПЧ могут использоваться для скрининга, диагностики и постлечебного мониторинга, ВПЧ-те-

сты для генотипирования – только для эпидемиологического мониторинга.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Выявление ВПЧ ВКР

Подтверждение этиологической роли ВПЧ ВКР в развитии РШМ привело к тому, что тестирование для обнаружения ДНК ВПЧ (ВПЧ-тест) стало рассматриваться как важнейший элемент скрининга этого заболевания. В ряде систематических обзоров и мета-анализов было показано, что ВПЧ-тест обладает гораздо более высокой чувствительностью для выявления цервикальных интраэпителиальных неоплазий высокой степени (CIN2+), чем цитологическое исследование. На основании этих данных международными экспертными организациями были сформулированы следующие рекомендации по применению ВПЧ-теста в скрининге рака шейки матки:

- в первичном скрининге у женщин старше 30 лет в сочетании с цитологическим исследованием или в качестве самостоятельного теста (особенно в тех странах, где плохо организованы программы цитологического скрининга);
- при ведении пациенток с неопределенными результатами цитологии;
- для мониторинга терапии цервикальных поражений высокой степени (CIN2+).

В скрининговых программах рекомендуется использовать только стандартизованные тесты, прошедшие широкую клиническую апробацию и удовлетворяющие определенным требованиям чувствительности, специфичности, воспроизводимости:

- ВПЧ-тест должен выявлять, по меньшей мере, 13 типов ВКР, а именно: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, которые ответственны за более чем 95% случаев рака шейки матки. Скрининговый ВПЧ-тест не должен включать типы НКР, также нежелательно включение типов неопределенного онкогенного риска, таких как 26, 53, 70, 73, 82 и других филогенетически родственных типов, так как это может, при незначительном увеличении чувствительности, привести к снижению специфичности;
- желательно, чтобы скрининговый ВПЧ-тест имел ВКО, позволяющий оценить адекватность взятого образца, качество пробоподготовки и анализа;
- валидация ВПЧ-теста должна быть проведена в сравнении с референтным ВПЧ-тестом (в настоящее время в качестве такого теста предлагается использовать HybridCapture 2 HPV-DNA-Test) на образцах, полученных от женщин из скрининговой популяции. Чувствительность ВПЧ-теста для выявления CIN2+ должна быть не ниже 90% по сравнению с референтным тестом при тестировании как минимум 60 проб от пациенток с CIN2+. Специфичность ВПЧ-теста для выявления CIN2+

должна быть не ниже 98% по сравнению с референтным тестом при тестировании как минимум 800 проб пациенток, у которых отсутствовали патологические результаты цитологических исследований. Внутри- и межлабораторная воспроизводимость результатов предлагаемого ВПЧ-теста должна быть не ниже 87% при тестировании как минимум 500 образцов, из которых 30% получены от пациенток с CIN2+.

Залогом успешного применения ВПЧ-тестов в скрининге является правильный выбор типа биологического материала для исследований. Для выявления ДНК/РНК ВПЧ ВКР в программах цервикального скрининга используется соскобный материал из цервикального канала, с влагалищной части шейки матки. Также можно использовать соскобный материал из влагалища или отделяемое влагалища, собранное с помощью зонда-тампона, в том числе самостоятельно.

Выявление ВПЧ НКР

Низкая степень опасности вируса для его носителей, невысокий процент клинических проявлений инфекции (не более 10% остроконечных кондилом в группе инфицированных вирусом), высокая доля спонтанной элиминации вируса в течение года и отсутствие специфической противовирусной терапии нивелируют необходимость использования лабораторной диагностики для скрининга ВПЧ НКР. Основным диагностическим признаком папилломавирусной инфекции НКР является выявление остроконечных кондилом при осмотре, лабораторная диагностика должна основываться на гистологическом исследовании материала, взятого с места поражения. Прямые методы лабораторной диагностики (обнаружение ДНК) могут служить вспомогательным инструментом для дифференциальной диагностики, например, от сифилитических перианальных кондилом или злокачественной опухоли. В этом случае также значение имеет проведение биопсии и гистологического исследования. При использовании молекулярно-биологических методов для решения этой диагностической задачи достаточно выявлять 6-й и 11-й генотипы ВПЧ, т. к. они ответственны более чем за 95% случаев остроконечных кондилом. Дополнительное выявление других генотипы (42-44) незначительно повысит чувствительность выявления, но удорожит исследование.

Для выявления ВПЧ НКР необходимо правильно забирать биологический материал для исследования – соскоб эпителия именно с места поражения эпителия или биопсийный материал. Если забирать соскобный материал с соседнего, непораженного участка, то увеличивается шанс «пропустить» вирус – получить ложноотрицательный результат.

Литература

1. Шипулина О.Ю. Вирус папилломы человека // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина.- М.: Рипол Классик. – 2018. – С.493-499.

2. Bosch F., Broker T., Forman D. et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases // *Vaccine*. – 2013. – Vol.31. Suppl 7. – P.H1-31.
3. Cuzick J., Arbyn M., Sankaranarayanan R. et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries // *Vaccine*. – 2008. – Vol. 26. – Suppl 10. – P. K29-41.
4. deSanjose S., Diaz, M., Castellsague X. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis // *Lancet Infect Dis*. – 2007. – Vol. 7. -P. 453-459.
5. De Villers E., Fauquet C., Broker T. et al. Classification of papillomaviruses // *Virology*. – 2004. – Vol. 324. – P. 17–27.
6. Doorbar J. Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection // *Disease Markers*. – 2007. – Vol. 23. – P. 297-313.
7. Heideman D., Hesselink A., van Kemenade F. et al. The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening // *J Clin Microbiol*. – 2013. – Vol.51. – P. 3653-3657.
8. Hoory T., Monie A., Gravitt P., Wu T. Molecular epidemiology of human papillomavirus // *J Formos Med Assoc*. – 2008. – Vol.107. – P.198-217.
9. Keegan H., Mc Inerney J., Pilkington L. et al. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect TM HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens // *J Virol Methods*. – 2009. – Vol.155. – P.61-66.
10. Leto I. M., Júnior G., Porro A., Tomimori J. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations // *An Bras Dermatol*. – 2011. – Vol. 86. – P. 306-317.
11. Meijer C., Berkhof J., Castle P. et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older // *Int J Cancer*. – 2009. – Vol. 124. – P.516-520.
12. Munoz N., Bosch F., Castellsague X. et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective // *Int J Cancer*. – 2004. – Vol.111. – P. 278-285.
13. Pett M., Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? // *J Pathol*. – 2007. – Vol. 212.- P. 356–367.
14. Stewart D., Gagliardi A., Johnston M. et al. Self-collected samples for testing of oncogenic human papillomavirus: a systematic review // *J Obstet Gynaecol Can*. – 2007. – Vol.29. – P.817-828.
15. Stoler M., Castle P., Solomon D. et al. The expanded use of HPV testing in gynecologic practice per ASC CP-guided management requires the use of well-validated assays // *Am J Clin Pathol*. – 2007. – Vol.127. – P.335-337.
16. Walboomers J., Jacobs M., Manos M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide // *J Pathol*. – 1999. – Vol. 189. – P. 12-19.
17. Wright T. Cervical cancer screening in the 21st century: is it time to retire the PAP smear? // *Clin Obstet Gynecol*. – 2007. – Vol.50. – P. 313-323.

■ Инфекции, вызываемые микобактериями

Микобактериальные инфекции – заболевания, вызываемые бактериями, относящимися к роду *Mycobacterium*. Различают 3 группы микобакте-

рий: *Mycobacterium tuberculosis complex* (МТВс), вызывающие туберкулез (ТБ), нетуберкулезные микобактерии (НТМБ), вызывающие микобактериоз, и микобактерии лепры (МБЛ), вызывающие лепру.

К группе МТВс относятся: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis*, *M. suricattae*, а также вакцинный штамм *M. bovis* BCG. Чаще всего этиологическим агентом ТБ является *M. tuberculosis sensus stricto*, но им также нередко становятся *M. bovis* и *M. africanum*.

Из не менее чем 200 видов НТМБ около 60 могут вызвать микобактериоз у человека. Практически всегда заболевание вызывают *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. abscessus* и *M. szulgai*, а также реже встречающиеся *M. shimoidei* и *M. heckeshornense*. Примерно в 40-70% болезнь развивается у лиц, инфицированных *M. avium* и *M. xenopi*, еще реже – *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. simie*, *M. celatum*, и крайне редко – *M. fortuitum*, *M. gordonae* и др.

Лепру вызывают 2 вида микобактерий: *M. leprae* и, открытая в 2008 г, *M. lepromatosis*, вызывающая диффузную лепроматозную лепру.

В странах с высокой заболеваемостью ТБ применяется вакцинация. Вакцина представляет собой аттенуированный штамм *M. bovis* BCG. В ряде случаев вакцинация, как и при использовании любой живой вакцины, может вызывать поствакцинальные осложнения местного или генерализованного характера.

Заболевания, вызываемые микобактериями, классифицируются в мировой практике в соответствии с МКБ-10 и определяются кодами: ТБ – А15 – А19, лепра – А30, микобактериоз – А31, поствакцинальные осложнения противотуберкулезной вакцины БЦЖ – У58.0. ТБ в мире классифицируется в соответствии МКБ-10 в рамках кодов А15 – А19, учитывающей лишь локализацию процесса и способ лабораторного подтверждения диагноза. В России существует собственная классификация, отражающая клинико-морфологические особенности патогенеза. В ее основу положены несколько принципов: клинико-рентгенологические особенности туберкулезного процесса (в т. ч. локализация и распространенность), его течение (т. е. фазы), а также наличие бактериовыделения. В приказе Минздрава РФ от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» сделана попытка совмещения обеих классификаций, когда к 4 знакам шифра МКБ-10 добавлено еще 6 знаков, в которых нашли отражение уточнения отечественной классификации.

Микобактерии отличаются высокой устойчивостью к воздействию физико-химических факторов. МТВс до полугода, а МБЛ до 2-х недель могут сохраняться на объектах окружающей среды, в пыли, на страницах книг, в почве и воде, причем высушивание продлевает их жизнеспособность. В высушенной мокроте МТВс сохраняют жизнеспособность в течение 10-12 месяцев, при нагревании до 100 °С они погибают через 45 мин, а при 70 °С – через 7 часов. Низкие температуры также способствуют сохране-

нию жизнеспособных *МТВс* – в масле и сыре при низких температурах они живут до 1 года.

По степени патогенности микобактерии подразделяются на 3 группы: к патогенным относятся *МТВс* и *МБЛ*, к условно-патогенным – часть *НТМБ*, которые могут вызывать заболевание у человека, остальные являются сапрофитными.

ТБ – антропозоонозное заболевание, в большинстве случаев передается аэрогенным (воздушно-капельным или воздушно-пылевым) путем, но встречаются также алиментарный, контактный и трансплацентарный пути заражения. Возможно перекрестное заражение ТБ человека и животных. Микобактериоз – зооноз или сапроноз, основным источником инфицирования служат объекты окружающей среды, сельскохозяйственные животные или продукты питания. Как правило, это заболевание не передается от человека к человеку: в медицинской практике описаны лишь спорадические случаи. Лепра передается воздушно-капельным или контактно-бытовым путем, она считается антропонозом, но в последнее время рассматривается возможность передачи *МЛ* от инфицированных животных, в частности броненосцев, а также через укусы кровососущих насекомых.

Все заболевания, вызываемые микобактериями, характеризуются политропностью – патологический процесс может развиваться в различных органах и тканях (кроме волос, ногтей и зубов). При ТБ более чем в 80% случаев развивается легочная форма заболевания, в остальных случаях – внелегочная или сочетанные формы. Внелегочный ТБ, как правило, развивается вторично, в результате распространения туберкулезной инфекции из первичного очага, локализующегося обычно в органах дыхания. При этом первичный ТБ может быть отсроченным по времени с эпизодом проявления внелегочного ТБ и разрешиться ранее – либо вследствие проведения противотуберкулезной терапии, либо без ее применения. Микобактериозы могут иметь как легочную, так и внелегочную локализацию (лимфадениты, поражения кожи и мягких тканей, костно-суставной системы, диссеминированные поражения и катетер-ассоциированные заболевания), а также их сочетания. При лепре главным образом поражаются периферические нервы, кожа, слизистая оболочка верхних дыхательных путей и глаз, суставы, развивается алопеция.

Микобактерии часто устойчивы к антибактериальным препаратам, используемым для санации патологических очагов, процесс в которых вызван Грам+ или Грам– микроорганизмами. Вследствие этого для эрадикации микобактерий используют специальные лекарственные препараты, часть из которых не является антибиотиками, поэтому антимикробные препараты называют химиотерапевтическими. Лечение заболеваний, вызванных микобактериями, не рекомендуется проводить монопрепаратами в связи с возможным формированием устойчивых форм микобактерий. Для лечения ТБ существуют выработанные международными или наци-

ональными профессиональными сообществами регламентированные схемы. При лечении больного ТБ, заболевание у которого вызвано чувствительными к противотуберкулезным препаратам МТВс, используют несколько препаратов из основного ряда (рифампицин, изониазид, этамбутол, стрептомицин, пиразинамид), среди которых наиболее эффективны рифампицин и изониазид. В случае обнаружения устойчивости к этим двум препаратам (такое состояние обозначают термином «множественная лекарственная устойчивость» – МЛУ), лечение проводят менее эффективными и более дорогостоящими препаратами резервного ряда (фторхинолоны, амикацин, канамицин, капреомицин и др.).

При заболевании микобактериозом, как правило, рекомендуются другие antimicrobные препараты, при этом их выбор зависит от вида НТМБ. Так, *Mycobacterium avium complex* (MAC), *M. szulgai*, *M. xenopi* и *M. malmoense* часто чувствительны к макролидам, *M. abscessus* – также и к цефотаксину, имипенему и линезалиду, тогда как стандартно применяющиеся для лечения ТБ схемы лечения оказываются неэффективными.

При лечении лепры, также как и других микобактериальных инфекций, используют комбинированную схему, в которую включены: дапсон (нередки случаи устойчивости МЛ к этому препарату) и рифампицин. У больных с сочетанной инфекцией также добавляют клофазимин. Также могут быть использованы кларитромицин, миноциклин и офлоксацин.

Лечение всех микобактериальных инфекций длительное – в зависимости от заболевания и распространенности поражения организма продолжается от 0,5 до 10 лет.

Согласно Глобальному отчету ВОЗ по ТБ, РФ входит в число 30 стран с наибольшим бременем болезни. Заболеваемость ТБ в Российской Федерации по сравнению с 2018 г. снизилась на 7,2% и составила в 2019 г. 41,2% на 100 тыс. населения. При этом ежегодно растет доля пациентов с ко-инфекцией ВИЧ-ТБ, а также ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ). Заболеваемость ТБ пациентов с коинфекцией ВИЧ в 2018 г. составила 8,5 на 100 тыс. населения. У больных ВИЧ-инфекцией на ее поздних стадиях ТБ имеет диссеминированный характер, что затрудняет диагностику заболевания. Доля МЛУ-ТБ среди бактериовыделителей с ТБ органов дыхания в 2018 г. составила 55,3%, а его распространенность – 23,6 на 100 тыс. населения.

Микобактериозы не подлежат обязательной регистрации и внесению в отчетные формы практически ни в одной стране мира, поэтому точно оценить заболеваемость и распространенность не представляется возможным. Отчасти можно составить представление о бремени микобактериозов на основании данных литературы. Так, распространенность микобактериозов легких составляет от 3,2 в Австралии до 24 в Японии на 100 тыс. населения. При этом в тех же исследованиях показано, что у пациентов старше 60 лет эти показатели возрастают в несколько раз.

Несмотря на значительный прогресс в ликвидации лепры, когда с сере-

дины 1980-х гг. и до 2014 г. количество случаев этого заболевания значительно уменьшилось – с 5,4 млн. до 210 тыс., почти 9% среди новых случаев составляют дети, что свидетельствует о продолжающейся трансмиссии МБЛ в эндемичных регионах.

Вследствие близкого генетического, иммунологического, хемотаксономического родства микобактерий и микроорганизмов из родов *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, а также других представителей порядка *Actinomycetales*, заболевания, вызываемые ими, могут иметь сходную клиническую и, на определенных этапах патогенеза, морфологическую картины. Получение первичной культуры для таких заболеваний трудновыполнимо, в ряде случаев она может ошибочно интерпретироваться как *МТВс*. Вследствие этого дифференциальная диагностика таких инфекционных заболеваний затруднена, а микобактериозы и другие заболевания, вызванные микроорганизмами порядка *Actinomycetales*, могут протекать под маской ТБ. Увеличивающееся в последнее время количество случаев заболеваний, вызванных подобными возбудителями, обусловлено увеличением количества иммунокомпromетированных лиц, а также развитием бактериологических и молекулярно-биологических методов исследования. Вопросы диагностики и лечения таких больных на законодательном уровне в РФ четко не обозначены.

Показания к обследованию

Согласно Федеральному Закону от 18.06.2001 N 77-ФЗ (ред. от 03.08.2018) «О предупреждении распространения туберкулеза в Российской Федерации» медицинское обследование в целях выявления этого заболевания проходят лица, находящиеся или находившиеся в контакте с источником ТБ, а также лица с подозрением на ТБ, среди которых особое внимание обращают на больных с длящимся более 2 недель кашлем, слабостью, потерей веса, субфебрилитетом в вечернее время, ночными потами, а также кровохарканьем и болью в груди; на лиц, у которых при обследовании обнаруживаются очаговые образования в различных органах; выпоты неясной этиологии в плевральной полости или в других серозных полостях (после исключения их опухолевой природы).

Кроме того, в целях профилактики ТБ, на основании СП 31.1.2.3113-13 «Профилактика туберкулеза» по эпидемиологическим показаниям медицинские осмотры проходят:

1) 2 раза в год:

- лица, снятые с диспансерного учета в медицинских противотуберкулезных организациях в связи с выздоровлением, в течение первых 3 лет после снятия с учета;
- лица, перенесшие ТБ и имеющие остаточные изменения в легких, в течение первых 3 лет с момента выявления заболевания;
- военнослужащие, проходящие военную службу по призыву;
- больные ВИЧ-инфекцией;
- пациенты, состоящие на диспансерном учете в наркологических и пси-

- психиатрических учреждениях;
- лица, состоящие в группе профилактического наркологического учета в связи с употреблением психоактивных веществ и препаратов;
- подследственные, содержащиеся в следственных изоляторах, и осужденные, содержащиеся в исправительных учреждениях, а также освобожденные из следственных изоляторов и исправительных учреждений в течение первых 2 лет после освобождения;
- лица, по роду своей профессиональной деятельности имеющие контакт с контингентом подследственных и осужденных;
- лица без определенного места жительства.

2) 1 раз в год:

- больные различными сопутствующими заболеваниями: хроническими неспецифическими заболеваниями органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы; сахарным диабетом, онкогематологическими заболеваниями;
- лица, получающие кортикостероидную, лучевую и цитостатическую терапию, блокаторы ФНО-а, генно-инженерные биологические препараты;
- иностранные граждане и лица без гражданства, в том числе осуществляющие трудовую деятельность на территории РФ, беженцы, вынужденные переселенцы;
- лица, проживающие или работающие в стационарных учреждениях социального обслуживания и учреждениях социальной помощи для лиц без определенного места жительства и занятий;
- работники учреждений социального обслуживания, санаторно-курортных, образовательных, оздоровительных и спортивных учреждений для детей и подростков;
- сотрудники медицинских организаций;
- работники организаций по переработке и реализации пищевых продуктов, в том числе молока и молочных продуктов, организаций бытового обслуживания населения, работники водопроводных сооружений;
- нетранспортабельные больные.

Дифференциальная диагностика

Первичная форма ТБ с поражением внутригрудных лимфатических узлов: саркоидоз I стадии, лимфогранулематоз, микобактериоз, лимфолейкоз, лимфосаркома, ретикулосаркома, центральный рак легкого, застойные изменения в легких на фоне сердечной недостаточности.

Диссеминированный ТБ: саркоидоз II стадии, бактериальная пневмония, профессиональные заболевания легких – пневмокониоз (силикоз и силикатоз, металлокониоз, карбокониоз, пневмокониоз, вызванные смешанной или органической пылью), микобактериоз, канцероматоз легких, фиброзирующий альвеолит, коллагенозы, гистиоцитоз Х, гемосидероз, криптококкоз, аспергиллез, гистоплазмоз, кокцидиоидоз, бластомикоз, гранулематоз Вегенера, хроническая интерстициальная пневмония, альве-

олярный протеиноз, легочный васкулит.

Очаговый, инфильтративный ТБ и казеозная пневмония: внебольничная пневмония, периферический и центральный рак легкого, эозинофильный инфильтрат, актиномикоз легкого, нокардиоз, микобактериоз, ателектаз легкого, инфаркт легкого.

Кавернозный и фиброзно-кавернозный ТБ: абсцесс легкого, рак легкого с распадом, солитарные кисты легкого, бронхоэктазы, микобактериоз, нокардиоз.

Цирротический ТБ: саркоидоз III стадии и пневмофиброзы различной этиологии.

В случае округлых образований, наблюдаемых при рентгенологическом исследовании: периферический и метастатический рак, доброкачественные опухоли, эхинококкоз, аспергиллома, ретенционные кисты легкого, ограниченный осумкованный плеврит и артериовенозная аневризма легкого.

ТБ периферических лимфоузлов: саркоидоз, токсоплазмоз, микобактериоз, бруцеллез, болезнь Кикучи (гистиоцитарным некротизирующим лимфаденитом), доброкачественный лимфоретикулез, лимфогранулематоз, неходжкинская лимфома.

У больных ВИЧ-инфекцией: вторичные заболевания, протекающие с поражением легких, генерализованные вторичные инфекции, рак легких.

Лабораторная диагностика микобактериальных инфекций включает визуальное выявление кислотоустойчивых бактерий (КУБ) методом микроскопии, получение первичной культуры КУБ, обнаружение ДНК/РНК патогенов; идентификацию и видовую дифференциацию микобактерий молекулярно-биологическими, биохимическими, иммунохроматографическими, а также с помощью посева (за исключением МБЛ) на селективные питательные среды; определение фенотипической и генотипической чувствительности возбудителя заболевания к антибактериальным препаратам.

Материал для исследования

Для диагностики ТБ:

- мокрота; трахеальный смыв; материалы, полученные при проведении эндоскопии: промывные воды бронхов, бронхоальвеолярная лаважная жидкость, промывные воды желудка (у детей раннего возраста), материалы катетер– или щеточной биопсии; экссудаты и трансудаты; гной; отделяемое раны; аспираты и пунктаты; спинномозговая, плевральная и асцитическая жидкости; моча; кал; секрет простаты; эякулят; менструальная кровь; тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал в парафиновых блоках – микроскопическое и культуральное исследование, выявление ДНК микроорганизма.

Для диагностики микобактериозов:

- мокрота, трахеальный смыв, материалы, полученные при проведении

эндоскопии: промывные воды бронхов, бронхоальвеолярная лаважная жидкость, экссудаты и транссудаты, гной, отделяемое раны, аспираты и пунктаты, спинномозговая и асцитическая жидкости, моча, кал, секрет простаты, нативный тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал – микроскопическое и культуральное исследование;

- культура микобактерий – выявление ДНК микроорганизмов.

Для диагностики лепры:

- носовая слизь или соскобы слизистой оболочки носа и/или биопсия пораженной кожи, отделяемое из язв, тканевой (биопсийный, аутопсийный) материал – микроскопическое исследование, выявление ДНК микроорганизмов.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики и особенности интерпретации их результатов

Световая микроскопия мазка или осадка материала с окраской по Цилю-Нильсену – быстрый, дешевый, но низко чувствительный (с его помощью можно обнаружить 10^5 - 10^6 микробных тел/мл) метод лабораторной диагностики микобактериальных инфекций. Метод не позволяет дифференцировать *MTBc* от других КУБ (микроорганизмов порядка *Actinomycetales*). Диагностическая чувствительность метода составляет 20-65% в зависимости от вида исследуемого материала, стадии заболевания, вида инфекции и группы обследуемых больных.

Люминесцентная микроскопия препарата с окраской флуорохромными красителями – более чувствительный метод, т.к. дает возможность проводить исследование при меньшем увеличении микроскопа и, следовательно, просматривать больше полей зрения, чем при световой микроскопии с иммерсией при окраске по Цилю-Нильсену, что позволяет увеличить процент находок патогенов на 10-17%.

Культуральное исследование – посев на плотные или жидкие питательные среды – позволяет получить первичную культуру *MTBc* или НТМБ. По сравнению с микроскопией посев обладает большей чувствительностью и выявляет 100-1000 микробных тел/мл. В случае использования плотных питательных сред, согласно рекомендациям ВОЗ, посев каждого образца проводится на 2 питательные среды, одной из которых должна быть среда Левенштейна-Йенсена. В результате медленного роста, когда каждое деление микобактерий, в зависимости от вида, происходит через 2-24 ч, для получения результата требуется от 7 дней для быстрорастущих и до 2-12 недель для медленно растущих, в число которых входит и *MTBc*. В среднем для визуализации роста *MTBc* необходимо 1-2,5 месяца культивирования, в зависимости от концентрации микобактерий в образце и вида исследуемого материала. Посев на жидкие питательные среды с помощью автоматических анализаторов BACTEC MGIT 320 или 960 (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD), VersaTREK Myco (Trek

Diagnostic Systems, Westlake, OH) и др. позволяет получить результат через 4-42 дня. При получении культуры необходимо подтвердить рост КУБ, для чего применяют окраску по Цилю-Нильсену. В случае подтверждения проводят иммунохимический тест, идентифицирующий рост микобактерии, относящейся к группе *MTBc*. При положительном результате этого теста следует провести видовую/штаммовую дифференциацию с помощью молекулярно-биологических методов. В случае отрицательного результата иммунохимического теста также необходимо провести молекулярно-биологическое исследование для видовой идентификации НТМБ.

МБЛ не культивируются на питательных средах. Для размножения возбудителя лепры используют экспериментальных животных, причем инокуляция возбудителя проводится интраплантарно грызунам или броненосцам.

Выявление ДНК или РНК микобактерий – наиболее чувствительные и специфичные методы лабораторной диагностики микобактериальных инфекций, основанные на применении различных амплификационных технологий. Их использование повышает частоту верификации диагноза на 20-90%, при этом длительность анализа составляет 2,5-6 часов. В клинической практике чаще всего используют метод ПЦР. Технология ПЦР-РВ позволяет проводить не только обнаружение ДНК *MTBc*, но и определение ее концентрации. Как правило, предел обнаружения таких наборов реагентов достигает $1-5 \times 10^2$ микробных тел/мл, аналитическая специфичность – до 100%. Диагностическая чувствительность наборов разных производителей колеблется от 54 до 100%, специфичность – 90-100%. Применение различных молекулярно-биологических методов позволяет идентифицировать вид, подвида, штамм и, даже, генотип.

Обнаружение АТ для диагностики ТБ не применяется вследствие низкой чувствительности и специфичности исследований, что закреплено рекомендациями ВОЗ 2010 г. При диагностике лепры применяется ряд количественных тестов для определения АТ IgM (метод ИФА), к фенольному гликолипиду I или разным гликоконъюгатам, специфичным для *M. leprae*, но ни один из серийно выпускаемых наборов не рекомендован ВОЗ для клинической практики, что также обусловлено их недостаточно высокими диагностическими характеристиками.

Определение лекарственной чувствительности (ЛЧ) микобактерий к антибактериальным препаратам проводят с помощью культуральных или молекулярно-биологических методов. Культуральный метод использует первичную культуру микобактерий для проведения одного из непрямых методов: абсолютных концентраций, пропорций, нитратредуктазного метода с применением реактива Грисса и минимальных ингибирующих концентраций (МИК). Наиболее распространенным является метод абсолютных концентраций с использованием плотной яичной питательной среды Левенштейна-Йенсена, который применяется только для *MTBc*. Метод пропорций – более трудоемкий, но и более точный. Метод определения коэф-

фициента резистентности являются альтернативным и используется редко.

Определение чувствительности НТМБ к большинству антибактериальных препаратов, также как и *MTBc* к новым противотуберкулезным препаратам, ограничено недостаточностью данных по определению корреляции пограничных концентраций (breakpoint) с эффективностью терапии. В связи с этим в бактериологических лабораториях используют метод определения МИК.

Основным недостатком культуральных методов определения ЛЧ является их длительность, для получения результата необходимо от 8-55 дней при использовании жидких и до 30-110 дней – плотных питательных сред.

Определение ЛЧ с помощью молекулярно-биологических методов основано на выявлении мутаций, ассоциированных с развитием лекарственной устойчивости к антибактериальным препаратам. Основное преимущество таких методов заключается в скорости получения результатов анализа – 1-2 дня, что достигается вследствие возможности использования для тестирования нативного биологического материала, хотя возможно использование также и первичной культуры. Готовые наборы реагентов выявляют изменения в генах, ассоциированных с устойчивостью к препаратам основного и резервного рядов: *rpoB* (рифампицин), *katG* и промотор *inhA* (изониазид), *embB* (этамбутол), *rrs* и *eis* (канамицин), *rrs* (амикацин), *rrs* и *tlyA* (капреомицин), *rpsL* и *rrs* (стрептомицин), *gyrA* и *gyrB* (фторхинолоны).

Метод секвенирования по Сэнгеру или NGS могут определять любые изменения в нуклеотидной последовательности: SNP, инсерции и делеции, в т.ч. ранее не встречавшиеся на данной территории или даже неизвестные, а также смеси мутантного и дикого типов. Тем не менее, в клинической лабораторной практике они пока не используются вследствие отсутствия серийно выпускаемых наборов реагентов. В то же время они незаменимы при проведении исследований в области молекулярной эпидемиологии.

Косвенные методы клинической и лабораторной диагностики микобактериальных инфекций, к которым относятся рентгенодиагностика, компьютерная томография, кожные тесты: проба Манту или аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении, а также γ -интерфероновые тесты (IGRA), не обнаруживают непосредственно *MTBc*, поэтому не могут достоверно верифицировать диагноз, однако они дают информацию о наличии изменений в органах больного или о напряженности противотуберкулезного иммунитета. Из этих исследований только IGRA-тесты относятся к методам лабораторной *in vitro* диагностики, и в настоящее время представлены наборами QFT-IT и T-SPOT.TB. Исследования основаны на стимуляции мононуклеарных клеток пациента специфичными антигенами *MTBc*, присутствующими в диких штаммах, в ответ на которую высвобождается гамма-интерферон (IFN- γ). АГ представлены секреторным белком 6-kDa early-secreted antigenic target (ESAT-6), его шапероном 10-kDa culture filtrate protein (CFP-10), а также дополнитель-

ным туберкулезным протеином ТВ 7.7 (p4) (только в наборе QFT-IT). Эти белки отсутствуют у всех сублиний вакцинного штамма *M. bovis* BCG и большинства НТМБ, за исключением *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai*, *M. flavescens* и *M. gastrii*. Следовательно, оба теста всегда будут давать отрицательный результат при поствакцинальной аллергии или поствакцинальном осложнении на введение вакцины БЦЖ, и, возможно, ложноположительный результат при наличии в организме НТМБ: *M. kansasii*, *M. marinum* или *M. szulgai*, которые могут вызывать микобактериоз.

Показания к применению различных лабораторных исследований

При подозрении на ТБ легких, в соответствии с приказом Минздрава РФ №951 от 29.12.2014, в медицинских организациях муниципального уровня проводится световая микроскопия мокроты для выявления КУБ с окраской по Цилю-Нильсену, обзорная рентгенография органов грудной клетки и внутрикожная проба – Диаскинтест. При получении положительного результата методом микроскопии хотя бы в одном из 3-х образцов мокроты, собираемых на протяжении двух дней, больной должен быть отправлен в специализированную клинику, работающую по профилю «фтизиатрия». При обследовании больного во фтизиатрическом лечебном учреждении образцы биологического материала исследуют методами люминесцентной микроскопии, молекулярно-биологическими – для обнаружения и определения устойчивости к противотуберкулезным препаратам, культуральными – на жидкой и плотной питательной среде – для видовой идентификации выделенных культур и определения лекарственной чувствительности *МТВс* к противотуберкулезным препаратам.

При внелегочной локализации ТБ врачом-специалистом проводится осмотр больного с учетом локализации предполагаемого очага патологического процесса, а также микроскопическое исследование с окраской по Цилю-Нильсену биологического материала (моча, ликвор, пунктат, гной, отделяемое свищей, выпот и др.) из предполагаемого очага для обнаружения КУБ и морфологические исследования: цитологическое и гистологическое.

Трехкратное взятие и исследование образцов биологических материалов у пациента, например мокроты, увеличивает возможность обнаружения *МТВс* на 2-5%. Вместе с тем, обнаружение *МТВс* в экскретируемых организмом жидкостях не всегда возможно даже при многократном сборе и исследовании материала методом ПЦР, что связано с преимущественно тканевой локализацией возбудителя ТБ. Поэтому в сложных диагностических случаях образец ткани из очага патологического процесса исследуется как гистологически, для верификации специфического туберкулезного воспаления, так и с помощью молекулярно-биологических методов для подтверждения этиологической причины патологического процесса.

Дифференциацию микобактерий до вида целесообразнее осуществлять с помощью высокотехнологичных методов, в том числе молекулярно-биологических: ПЦР; гибридизации с ДНК-зондами, выявляющей наиболее

распространенные НТМБ; MALDI-TOF MS. Для научных исследований проводят более информативные исследования с использованием секвенирования отдельных локусов по Сэнгеру или с помощью NGS. Для дифференциации некоторых НТМБ, особенно быстрорастущих (*M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae*), допускается ориентирование на данные по чувствительности к антибактериальным препаратам. Практически для всех технологий, за исключением ПЦР, в качестве материала для исследования применимы только первичные культуры микобактерий, выросших на плотных или жидких питательных средах.

Необходимо учитывать, что наборы реагентов, основанные на применении разных методов, характеризуются разными показателями чувствительности и специфичности. Гибридизационные технологии, такие как ДНК-чипы, могут обнаруживать только конкретные мутации, внесенные в дизайн диагностических наборов и/или дикий тип *MTBc*. Их диагностическая чувствительность в значительной степени зависит от спектра мутаций штаммов *MTBc*, характерных для данного географического региона, а в случае наличия других генетических изменений, обуславливающих возникновение лекарственной устойчивости, исследование будет давать ложноотрицательные результаты.

Тесты IGRA не могут дифференцировать у человека состояние латентного и активного ТБ, а также оценивать тяжесть туберкулезного процесса. Их результаты должны оцениваться совместно с клинико-рентгенологическими данными, сведениями о контактах, микробиологическими исследованиями и т. д. Особое значение приобретает использование тестов IGRA в странах, где проводится вакцинация БЦЖ. В случае положительной пробы Манту и отрицательном результате теста IGRA у пациента с высокой степенью вероятности подтверждается состояние поствакцинальной аллергии. У больных, на фоне тяжелых прогрессирующих форм ТБ и развившейся вследствие этого иммуносупрессии, IGRA-тесты, как и проба Манту, могут быть отрицательными. Наиболее рационально применять тесты IGRA у пациентов, ранее вакцинированных против ТБ, у лиц, имеющих противопоказания к проведению кожного теста, у детей, а также у тех пациентов, которым сложно попасть на повторный прием к врачу через 72 часа для оценки результатов пробы Манту. В редких случаях результаты IGRA-тестов не могут быть интерпретированы вследствие непрохождения положительного контроля и оцениваются как неопределенные. В этом случае нельзя ни подтвердить, ни исключить туберкулезную инфекцию.

Использование IGRA-тестов возможно при лабораторном скрининге ТБ. Но в РФ, как правило, используют внутрикожные тесты: пробу Манту и аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении, тогда как IGRA-тесты, не входящие в систему ОМС, проводятся при нежелании проведения инъекционных процедур или наличии противопоказаний. Лабораторных методов для скрининга микобактериоза и лепры в настоящее время нет.

Следует помнить, что у части больных не удастся обнаружить *МТВс* не только традиционными микробиологическими методами, но даже методом ПЦР. В этих случаях диагноз ТБ будет основываться на клинических данных, результатах косвенных методов диагностики и терапии *ex juvantibus*, а принимаемые по этому поводу решения полностью зависят от квалификации и опыта врача-фтизиатра. Вследствие этого, учитывая биологические особенности микроорганизма, а также иммунного ответа организма человека, диагностика ТБ не может ограничиваться каким-либо одним методом и должна проводиться комплексно.

Показания к применению лабораторных исследований для диагностики ТБ у больных ВИЧ-инфекцией и особенности интерпретации их результатов

Болезни, вызываемые микобактериями, являются одними из наиболее частых вторичных заболеваний при ВИЧ-инфекции. В последние годы у этой категории больных наблюдается рост не только ТБ, но и микобактериозов. Основной принцип диагностики и дифференциальной диагностики микобактериальных инфекций у больных ВИЧ-инфекцией такой же, как и у пациентов с ВИЧ-негативным статусом – индикация возбудителя и выявление гистологических маркеров специфического воспаления.

Патоморфология туберкулезного воспаления тесно связана с состоянием иммунной системы больного и, в значительной степени, зависит от него. Его гистоморфологические проявления при ВИЧ-инфекции утрачивают свои специфические признаки по мере прогрессирования иммуносупрессии. У больных с количеством CD4+лимфоцитов более 350 клеток/мкл сохраняется способность к формированию типичной гранулематозной реакции. В биоптатах пациентов с более тяжелой степенью иммуносупрессии (число CD4+лимфоцитов 200-350 в мкл) преобладает несовершенная стертая гранулематозная реакция. Это свидетельствует о смене реакции гиперчувствительности замедленного типа, типичной для туберкулеза, реакцией гиперчувствительности немедленного типа. Состояние выраженного иммунодефицита (при количестве CD4+лимфоцитов менее 200 клеток/мкл), характеризуется в большинстве случаев некротическими изменениями с выраженным экссудативным компонентом воспаления.

У такой категории больных, по мере снижения количества CD4+лимфоцитов, вероятность выявления *МТВс* во всех видах свободно экскретируемых жидкостей уменьшается вследствие диссеминации возбудителя в тканях. Однако при глубоком иммунодефиците (менее 100 CD4+клеток/мкл), вероятность обнаружения *МТВс* вновь повышается за счет увеличения количества возбудителя в легочной ткани – при проведении микроскопии препаратов биопсии с окраской по Циль-Нильсену КУБ обнаруживаются в количестве 20-50 и более в одном поле зрения. Важно отметить, что у больных полиорганым туберкулезом не менее ценным, чем исследование мокроты, является выявление возбудителя в другом биологическом материале. Поэтому необ-

ходим обязательный поиск *МТВс* в биологических жидкостях, а также тканевом материале, соответствующих локализации патологического процесса. Для детекции *МТВс* целесообразно применять молекулярно-биологические методы, чувствительность и специфичность которых часто превосходит микробиологические. По данным клинических исследований, чувствительность обнаружения ДНК *МТВс* методом ПЦР в БАЛЖ составляет 71%, специфичность – 88,5%; в биоптатах бронха – 61,2% и 98% соответственно.

Туберкулиновая чувствительность у больных с активным ТБ на фоне ВИЧ-инфекции снижается по мере прогрессирования иммунодефицита, и у пациентов с количеством CD4+лимфоцитов менее 100 клеток/мкл частота регистрации положительной пробы Манту с 2 ТЕ не превышает 10%, тогда как при количестве CD4+ клеток более 500/мкл она сопоставима с группой больных без ВИЧ-инфекции.

Литература

1. Иртуганова О.А. Современные возможности микобактериологической лаборатории // Клиническая лабораторная диагностика. –2006. –№1. –С.21-35.
2. Литвинов В.И., Макарова М.В., Краснова М.А. Нетуберкулезные микобактерии / М.: МНПЦБТ. – 2008. – 256 с.
3. Молекулярная диагностика инфекционных болезней / Под редакцией В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина – М.: РИПОЛ классик, 2018. – 654 с.
4. Оттен Т.Ф., Васильев А.В. Микобактериоз/ СПб.: Мед.пресса; 2005. – 224 с.
5. Патологическая анатомия туберкулеза/ Под редакцией В.В. Ерохина и З.С. Земсковой. – Москва: Издательский дом «Русский врач», 1998. – 112 с.
6. Позднякова А.С., Альварес Фигероа М.В., Суркова Л.С., Долгова Е.А. Современные аспекты диагностики и дифференциальной диагностики осложнений после вакцинации БЦЖ // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 6. – С. 25-28.
7. Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу. /Под редакцией Ю.Н. Левашева, Ю.М. Репина. СПб.: ЭЛБИ-СПб. – 2006. – 516 с.
8. Туберкулез. Руководство для врачей / Под редакцией А.Г. Хоменко. – М.: Медицина, 1996. – 496 с.
9. Информационно-методическое письмо Роспотребнадзора №02/17775-2019-32 от 18.12.2019 «Применение молекулярно-генетических методов для диагностики и дифференциальной диагностики туберкулеза и осложнений после введения вакцины БЦЖ»
10. Приказ Минздрава РФ №932 от 15.11.2012 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным туберкулезом»
11. Приказ Минздрава РФ №109 от 21.03.2003 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»
12. Приказ Минздрава РФ №951 от 29.12.2014 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания»
13. Aitken M., Limaye A., Pottinger P. Respiratory outbreak of *Mycobacterium abscessus* subspecies *massiliense* in a lung transplant and cystic fibrosis center // *Am J Respir Crit Care Med*. – 2012. – Vol. 185. – P. 231-232.
14. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment and prevention of nontuberculous mycobacterium diseases (дата обращения 13.02.2020) <http://www.thoracic.org/statements/>

- resources/mtpi/ (дата обращения 13.02.2020)
15. British Thoracic Society. Management of opportunist mycobacterial infections: Joint Tuberculosis Committee Guidelines 1999 // *Thorax*. – 2000. – Vol. 55. – P. 210-218.
 16. CDC. Reported Tuberculosis in the United States, 2010. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, October 2011. <http://www.cdc.gov/tb/>, (дата обращения 13.02.2020)
 17. Diel R., Loddenkemper R., Nienhaus A. Evidence based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active tuberculosis a meta-analysis // *Chest*. – 2010. – Vol.137. – P. 952-968.
 18. International Standards for Tuberculosis Care (ISTC), second edition. Tuberculosis Coalition for Technical Assistance, The Hague, 2009.
 19. Global tuberculosis report. WHO. 2019 –214 p.
 20. Griffith D., Aksamit T., Brown-Elliott B., et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases // *Am J Respir Crit Care Med*. – 2007. – Vol.175. – P. 367-416.
 21. Heifets L. Mycobacterial infections caused by nontuberculous mycobacteria // *Semin In Respir Crit Care Med*. – 2004. – Vol. 2. – P. 283-295.
 22. <http://www.bacterio.net/mycobacterium.html>, (дата обращения 13.02.2020)
 23. Lewinsohn D., Leonard M., LoBue P. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children // *Clinical Infectious Diseases*. – 2017. –Vol.64. – P. 111-115.
 24. Ling D., Flores L., Riley L. et al. Commercial nucleic-acid amplification tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis in respiratory specimens: meta-analysis and meta-regression // *PLoS ONE* 3(2): e1536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001536>
 25. Matsuoka M. Global surveillance system to monitor the development of drug resistance in *Mycobacterium leprae* // *Res Rep Trop Med*. –2015. – Vol.6. – P. 75-83.
 26. Morimoto K., Hasegawa N., Izumi K. et al. A Laboratory-based analysis of nontuberculous Mycobacterial lung disease in Japan from 2012 to 13 // *Ann Am Thorac Soc*. –2017. – Vol.14. –P. 49-56.
 27. Sharma R., Singh P., Loughry W. et al. Zoonotic Leprosy in the Southeastern United States // *Emerging Infectious Diseases*. –2015. – Vol. 21. – P. 2127-2134.
 28. Spencer J., Duthie M., Geluk A. et al. Identification of serological biomarkers of infection, disease progression and treatment efficacy for leprosy // *Mem Inst Oswaldo Cruz*. – 2012. – V.107 (Suppl 1). – P. 79-89.
 29. Stagg H., Lipman M., McHugh T., Jenkins H. Isoniazid resistant tuberculosis –a cause for concern? // *Int J Tuberc Lung Dis*. – 2017. – Vol.21. – P. 129-139.
 30. Thomson R. NTM working group at Queensland TB control centre and queensland Mycobacterial reference laboratory. Changing epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria infections // *Emerging Infect. Dis*. – 2010. – Vol.16. – P.1576-1583.
 31. Tuberculosis. Diagnostics Technology Landscape. – 2017. –5th Edition, World Health Organization.
 32. WHO Department of Control of Neglected Tropical Diseases. Global leprosy update, 2015: time for action, accountability and inclusion // WHO reference number: No. 35. – 2016. – Vol. 91. – P. 405-420.

■ Инфекции, вызываемые стафилококками

Представители рода *Staphylococcus* занимают одно из самых важных мест среди заболеваний, вызываемых бактериями-оппортунистами. Род включа-

ет около 40 видов (разные эксперты по таксономии по-разному оценивают количество видов). Основные биохимические характеристики стафилококков детерминируются их экологией: все они являются симбионтами человека и/или животных, способными выживать в условиях окружающей среды. Естественными экологическими нишами стафилококков являются кожа и слизистые оболочки нестерильных локусов, что во многом определяет их метаболические особенности. В частности, галофильность стафилококков (способность размножаться в условиях высоких концентраций солей) связывают с их эволюцией в устьях потовых желез кожи, где концентрируется хлорид натрия. Способность некоторых видов продуцировать липазы обусловлена жизнью в устьях сальных желез. Продукция протеаз и нуклеаз (ДНКазы) – результат адаптации стафилококков к доступным источникам питания – белковым соединениям и нуклеиновым кислотам, которые в избытке присутствуют на поверхности кожи и слизистых.

Виды рода *Staphylococcus* обладают различным уровнем патогенетического потенциала. Для клиники наиболее значим золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus*, принадлежащий к группе ESKAPE-патогенов, представители которой (*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.*) рассматриваются международными экспертами как глобальная угроза для человечества. Особенность *S. aureus* состоит в том, что спектр вызываемых им заболеваний не ограничивается гнойно-воспалительными процессами. Считается, что *S. aureus* способен вызывать 3 типа патологии: локализованные (местные) гнойно-воспалительные процессы; генерализованные процессы (системные инвазии); интоксикации.

Местное воспаление, ассоциированное с *S. aureus*, может развиваться поверхностно без проникновения бактерий под кожу/слизистую оболочку или в виде инвазии. Типовым локализованным инвазивным гнойно-воспалительным процессом является абсцесс, т.е. отграниченный от окружающих тканей очаг гнойного воспаления. Золотистые стафилококки могут поражать практически все органы и ткани и вызывают патологию, которая, в зависимости от локализации, проявляется в виде абсцессов кожи и подкожной клетчатки (фурункулы и карбункулы, фолликулиты, ячмень, гидрадениты, раневые и послеоперационные абсцессы), абсцессов внутренних органов (абсцидирующая пневмония и абсцессы легких, абсцессы печени, мозга и т.д.), абсцессов молочных желез (маститы), гнойных бронхитов, отитов, инфекций верхних дыхательных путей, остеомиелитов, перикардитов, медиастенитов, менингитов. *S. aureus* может быть причиной девайс-ассоциированных инфекций и инфекционных осложнений ожоговых ран. Золотистые стафилококки участвуют в патогенезе осложненных инфекцией легочных форм муковисцидоза. Генерализованные процессы, вызванные *S. aureus*, реализуются в виде септицемии и септикопиемии.

Очень часто *S. aureus* проявляет свой флогогенный потенциал в ассоциа-

ции с другими оппортунистическими патогенами – пиогенным стрептококком *Streptococcus pyogenes* (пиодермия), синегнойной палочкой *Pseudomonas aeruginosa* (хирургическая патология, муковисцидоз и др.), клебсиеллами *Klebsiella pneumoniae* (хирургическая патология, хроническая обструктивная болезнь легких и др.), дрожжеподобными грибами *Candida spp.* (хирургическая патология, хроническая обструктивная болезнь легких и др.) и другими микроорганизмами. Такие случаи называют микст-инфекциями.

Особая группа заболеваний, вызываемых *S. aureus*, представлена интоксикациями, патогенез которых развивается исключительно из-за действия экзотоксинов *S. aureus*. Стафилококковые интоксикации являются патологическими состояниями, развитие которых не требует инвазии *S. aureus*, а в ряде случаев (чаще при пищевых интоксикациях) *S. aureus* может вообще не присутствовать в организме пациента. Известны три типа интоксикаций, связанных с золотистым стафилококком: пищевое отравление, эксфолиативный дерматит (известный также как болезнь Риттера или синдром «ошпаренной кожи новорожденных») и синдром токсического шока. В случае стафилококковых интоксикаций экзотоксины действуют дистантно. Конечной мишенью энтеротоксина золотистого стафилококка при пищевом отравлении является слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта. Энтеротоксин – термин, объединяющий более 20 структурных вариантов экзотоксинов по их функциональной направленности. Эксфолиативный токсин дезинтегрирует межклеточные контакты эпителиоцитов при эксфолиативном дерматите. Токсин синдрома токсического шока (английская аббревиатура – TSST), который является суперантигеном, – реализует свой повреждающий эффект через гиперактивацию иммунной системы, что в итоге приводит к поражению эндотелия сосудистого русла.

К важнейшим факторам патогенности (вирулентности) золотистого стафилококка можно отнести факторы адгезии и колонизации (поверхностные белки-адгезины), факторы инвазии (ферменты липаза, гемолизины, фибринолизин или стафилокиназа, ДНКаза, протеазы и др.), факторы ускользания от иммунной системы (капсула, плазмокоагулаза, лейкоцидин или фактор Пантон-Валентайна, белок А и др.), перечисленные выше экзотоксины.

Другие представители рода *Staphylococcus* характеризуются менее выраженной инвазивностью, чем *S. aureus*. Тем не менее, они способны участвовать в патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний на фоне нарушения кожных или слизистых барьеров после их травматизации либо первичного заболевания. Часто причиной травматизации являются медицинские манипуляции, включая оперативные вмешательства, катетеризацию, имплантирование медицинских устройств.

Наиболее значимыми являются *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylo-*

coccus schleiferi, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus xylosus*. Перечисленные виды способны вызывать не только локальные процессы, но и генерализованную инфекцию, приводящую к развитию эндокардитов и сепсиса. Из перечисленных стафилококков наибольшей клинической значимостью обладают *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*. Но самым коварным в этом плане считается *S. lugdunensis*: являясь редкой причиной бактериемий, именно он на фоне видимого благополучия приводит к фатальным исходам. Причиной его быстрой диссеминации (впрочем, как и диссеминации других стафилококков) служит сброс бактерий с биопленки, сформированной на медицинских устройствах, имплантированных в тело пациента. Важнейшим инструментом патогенеза у перечисленных стафилококков является способность продуцировать межклеточные полисахариды, которые обеспечивают адгезию бактерий на тканях хозяина или поверхности медицинских девайсов, а также объединяют стафилококки в единое сообщество – биопленку. Биопленка обеспечивает защиту бактерий от эффекторов иммунной системы хозяина и повышает их устойчивость к действию антимикробных препаратов. Таким образом, патогенез инфекций, вызванных незолотистыми стафилококками, можно свести к следующей схеме: «повреждение барьерных функций кожи/слизистых оболочек → колонизация поврежденных участков или имплантированных устройств → образование биопленки → сброс бактерий → диссеминация → генерализация инфекционного процесса». Естественно, что на каждой фазе спонтанно или под воздействием медикаментозной терапии может произойти элиминация стафилококков и выздоровление пациента.

По неизвестным причинам *S. saprophyticus* составляет исключение из приведенной схемы: он часто бывает первичным возбудителем уроинфекций у женщин в возрасте 16-25 лет.

S. aureus известен как один из важнейших возбудителей внутрибольничных инфекций. Способность выдерживать пересыхание, воздействие растворов этанола и устойчивость к ультрафиолетовому излучению способствуют длительной циркуляции золотистого стафилококка в отделениях хирургического профиля, отделениях интенсивной терапии и реанимации, роддомах. В результате циркуляции *S. aureus* в госпитальных условиях, где стафилококки контактируют с антибиотиками, происходит селекция антибиотикорезистентных клонов. Источником инфекции может быть медицинский персонал в случае носительства госпитальных штаммов.

Следует помнить, что генерализованные процессы, вызываемые золотистым стафилококком, а также синдром токсического шока нередко имеют фатальный исход. Смертность при этих патологиях многократно возрастает, если стафилококки имеют резистентный фенотип.

Все стафилококки природно резистентны к азтреонаму, темоциллину, полимиксину/колистину и налидиксовой кислоте. Практически все виды стафилококков, включая *S. aureus*, природно резистентны к цефтазидиму.

S. saprophyticus природно резистентен к фузидиновой кислоте, фосфомицину, новобиоцину. *S. cohnii* и *S. xylosus* природно резистентны к новобиоцину. *S. capitis* природно резистентен к фосфомицину.

Стафилококки принадлежат к группе бактерий, у которых в ответ на сублетальное воздействие антибиотиков быстро развивается резистентность (адаптивная резистентность). Резистентность к β -лактамам определяется различными механизмами. Пенициллин деградируется за счет β -лактамазы. Устойчивость к полусинтетическим пенициллинам (метициллин, оксациллин) возникает за счет экспрессии у резистентных штаммов альтернативной системы «трансгликозидаза-транспептидаза» PBP2a (у диких штаммов мишенью для β -лактамов является система «трансгликозидаза-транспептидаза» PBP2), которая имеет иную структуру и не связывается с полусинтетическим пенициллинами. Индуцибельные гены, кодирующие PBP2a, (*mecA* и его гомолог *mecC*) отличаются неоднородностью, их гомология составляет 63%. Штаммы *S. aureus*, резистентные к полусинтетическим пенициллинам, получили название MRSA (от англ. «methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*» – метициллин-резистентный золотистый стафилококк).

Резистентность к гликопептидам (ванкомицину, тейкопланину) детерминируется генами *van*, которые кодируют ферменты, модифицирующие мишень ванкомицина – комплекс «липид II – D-Ala4-D-Ala5». *S. aureus* с фенотипом MRSA не способны к длительному проявлению резистентности к ванкомицину.

Резистентность к тетрациклинам чаще связана с эффлюкс-механизмами либо с энзиматической защитой мишени тетрациклинов – рибосомальной субъединицы S30. Устойчивость к аминогликозидам (гентамицин, неомицин) связана с продукцией адаптивных аминогликозид-модифицирующих ферментов.

Резистентность к макролидам обеспечивается несколькими механизмами, включая: модификацию мишени (метилирование аденина в 23S-рибосомальной РНК в рибосомальной субъединице S50), эффлюкс-механизмов, энзиматического расщепления лактонного кольца макролидов бактериальными эстеразами.

Резистентность к фторхинолонам связана с эффлюкс-механизмами либо с мутациями в генах, кодирующих мишень фторхинолонов – топоизомеразу.

Резистентность к рифампицину связана с мутациями в генах, кодирующих мишень рифампицина – РНК-полимеразу.

Резистентность к сульфаниламидам (триметоприму) развивается из-за мутаций гена, кодирующего мишень триметоприма – дигидрофолатредуктазу.

Резистентность к гликопептидам (ванкомицину, тейкопланину), липогликопептидам (оритаванцин, далбаванцин, телаванцин) и оксазолидинонам (линезоли, тедизолид), пептидным антибиотикам (даптомицин), некоторым тетрациклинам (тигекцилин), стрептограминам (хинупри-

стин-далфопристин) встречается редко и расценивается как «исключительный резистентный фенотип».

Показания к обследованию

- Гнойно-воспалительные процессы;
- выявление носительства *S. aureus* среди медицинского персонала.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение возбудителя на питательных средах и его идентификацию, выявление ДНК патогена, определение резистентности к антибиотикам.

Материал для исследований

- Кровь, экссудаты, пунктаты, моча, грудное молоко и другие биологические жидкости, мазки и отпечатки с кожи и слизистых, смывы с медицинского оборудования, мебели, инвентаря, в том числе с электронных устройств – бактериологические исследования, выявление ДНК;
- пищевые продукты – выделение энтеротоксинов.

Сравнительная оценка методов лабораторных исследований

Присутствие стафилококков в исследуемом материале определяется при помощи бактериологических либо молекулярно-биологических исследований. Бактериологические исследования включают выделение культуры микроорганизма (посев биоматериала) с дальнейшей его идентификацией по биохимическим признакам или методом MALDI-ToF. Для культивирования стафилококков существуют селективные среды – желточно-солевой агар, агар Чепмена и др. Существует большая панель хромогенных сред, позволяющих осуществить не только селективный рост стафилококков, но и позволяющих дифференцировать изоляты *S. aureus* и MRSA. Обычно для выделения стафилококков, их идентификации и оценки чувствительности к антибиотикам требуется до 3-4 суток. Более длительные сроки исследования требуются при исследовании гемокультур и при поиске стафилококков в мокроте больных муковисцидозом в случае феномена роста «малые колонии».

Принципиально важным является определение способности стафилококков коагулировать плазму крови – коагулазная активность. Считается, что если коагулазоположительные стафилококки образуют ацетоин и сбраживают мальтозу в аэробных условиях, то они относятся к *S. aureus*. Следует помнить, что невозможно идентифицировать *S. aureus* только на основе плазмокоагулазной активности.

Самым надежным, воспроизводимым, дешевым и объективным методом идентификации стафилококков является MALDI-TOF MS. Применение этого метода позволяет с высокой долей вероятности идентифицировать не только все виды рода *Staphylococcus*, но и выявлять MRSA, а также типировать штаммы в ходе эпидемиологических исследований. Выявление MRSA при помощи MALDI-TOF MS основано на обнаружении характерного масс-пика $mz = 2413$, соответствующего специфическому для MRSA пептиду PSM-mec.

Выявление и идентификация ДНК стафилококков, включая MRSA, в рутинной практике выполняют методом ПЦР.

В настоящее время доступны наборы реагентов для видовой идентификации стафилококков и определения генетических детерминант их резистентности к антибиотикам. Молекулярно-биологические методы являются оптимальными для типирования стафилококковых изолятов при проведении эпидемиологических исследований. Однако следует помнить, что обнаружение ДНК стафилококков не говорит о наличии в материале жизнеспособных микроорганизмов.

Для определения энтеротоксинов в пищевых продуктах, преимущественно используют наборы реагентов на основе ИФА.

Методы для оценки антибиотикорезистентности применяют в соответствии с требованиями актуальной (последней) версии российских Клинических рекомендаций Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» или рекомендаций Европейского комитета по тестированию антимикробной резистентности (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST).

Показания к применению различных лабораторных исследований

Поиск *S. aureus* в организме пациентов со стафилококковыми интоксикациями может оказаться бесперспективным, его необходимость определяется индивидуально по клиническим показаниям. Исследование, направленное на определение присутствия стафилококков в смывах с госпитальных объектов, проводится на основе эпидемиологических показаний в рамках профилактики или расследования случаев инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в медико-профилактических учреждениях. Исследование, направленное на определение присутствия *S. aureus* либо его энтеротоксинов в пищевых продуктах, проводится на основе эпидемиологических показаний. Исследование, направленное на определение энтеротоксинов *S. aureus* в организме человека, не производится.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Обнаружение стафилококков или ДНК стафилококков в биопробах из стерильных локусов расценивается как признак патологии. Вопрос о клинической значимости стафилококков в биопробах из нестерильных локусов не может быть определен исключительно лабораторными методами. Вопрос об участии стафилококков в патогенезе должен решаться только исходя из комплексного анализа клинической картины заболевания и лабораторных показателей. В случае определения носительства золотистого стафилококка категорически не следует расценивать человека-носителя в качестве источника инфекции, если идентичность изолята от носителя

и изолятов от пациентов не подтверждена молекулярно-биологическими или протеомными (масс-спектрометрия или пульс-электрофорез) методами типирования. Интерпретация оценки чувствительности стафилококков к антибиотикам производится в соответствии актуальной (последней) версией российских Клинических рекомендаций Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» или рекомендаций EUCAST.

Литература

1. Дерябин Д. Г. Стафилококки: экология и патогенность/ Екатеринбург: Изд-во Уральского отделения РАН, 2000. – 238 с.
2. Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология/ Н.Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2006. – 520 с.
3. Метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus* – возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование/ Методические рекомендации – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. – 43 с.
4. Романов А. В., Дехнич А. В. Типирование MRSA: какие методы являются оптимальными для решения различных задач? // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – №. 2. – С. 168-176.
5. Шагинян И.А. Роль и место молекулярно-генетических методов в эпидемиологическом анализе внутрибольничных инфекций // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – №. 3. – С. 82-95.
6. Эпидемиология и эпидемиологический мониторинг инфекций, вызванных метициллинрезистентными штаммами золотистого стафилококка/ Федеральные клинические рекомендации Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. – М., 2014. – 50 с.
7. Foster T. J. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects // FEMS microbiology reviews. – 2017. – Vol. 41. – С.430-449.

■ Инфекции, вызываемые стрептококками

В семейство *Streptococcaceae* входит семь родов, из которых для человека наибольшее значение имеют стрептококки (род *Streptococcus*) и энтерококки (род *Enterococcus*). Род *Streptococcus* включает в себя большое количество патогенных, комменсальных и сапрофитных видов, способных колонизировать верхние дыхательные пути, органы урогенитального и желудочно-кишечного тракта, ротовую полость, протоки желез, а также существовать в виде свободноживущих бактерий. Многие патогенные виды стрептококков вызывают тяжелые инвазивные инфекции, которые являются причиной

высокой заболеваемости и смертности во всем мире. Наиболее значимые виды рода *Streptococcus* включают *S. pyogenes* (стрептококки группы А), *S. agalactiae* (стрептококки группы В), *S. pneumoniae* (пневмококк), стрептококки группы *viridans* (зеленящие стрептококки, био группа *mutans*). В настоящее время известно более 100 видов стрептококков.

Стрептококки представляют собой грамположительные, неподвижные, неспорообразующие каталазо-негативные кокки, формирующие цепочки. Большинство стрептококков являются аэротолерантными анаэробами, а некоторые виды – строгими анаэробами.

Популярной классификационной схемой остается деление стрептококков по типу гемолиза эритроцитов, наблюдаемого при росте на кровяном агаре: альфа-гемолитические стрептококки вызывают неполный лизис эритроцитов, образуя зону зеленящего пигмента вокруг колонии (так называемые зеленящие стрептококки), бета-гемолитические стрептококки вызывают полный гемолиз и приводят к обесцвечиванию питательной среды, негемолитические стрептококки инертны в отношении гемоглобина.

Большинство бета-гемолитических стрептококков являются частой причиной инфекционных заболеваний человека. Альфа-гемолитические и негемолитические стрептококки широко представлены в составе нормальной микрофлоры и в больших количествах обнаруживаются в ротовой полости.

Исторически классификация стрептококков (схема Р. Ленсфилд) основывалась на различиях в углеводном составе АГ клеточной стенки представителей семейства *Streptococcaceae*. Такими антигенами, известными как группоспецифические АГ или С-субстанции, являются полисахариды, тейхоевые кислоты или липотейхоевая кислота. На основании антигенных характеристик выделяют 20 групп стрептококков, обозначаемых латинскими буквами от А до V. Такой подход к классификации оказался успешным для патогенных стрептококков (*S. pyogenes*), но его широкому применению препятствует тот факт, что группоспецифические АГ могут отсутствовать у некоторых видов или выявляться у представителей различных таксонов. Углеводный АГ отсутствует у *S. pneumoniae* и стрептококков группы *viridans*, которые классифицируются вне общей серологической схемы. Также энтерококки, первоначально включенные в группу стрептококков D, и бактерии рода *Lactococcus* (группа N) были классифицированы как отдельный род в 1984 и 1986 годах соответственно. Несмотря на таксономические изменения, классификация по Ленсфилд до сих пор применяется в медицинской микробиологии в качестве части процедуры идентификации стрептококков.

Стрептококки также могут быть подразделены на шесть групп на основании последовательностей гена 16 S рРНК. Пиогенная группа включает *S. pyogenes* (группа А по Ленсфилд), *S. agalactiae* и *S. uberis* (группа В), а также *S. dysgalactiae* (группа С, G или L). Эти микроорганизмы связаны с целым рядом заболеваний и их осложнений, включая тонзиллит, фарингит,

импетиго, мастит, ревматизм, гломерулонефрит (*S. pyogenes*) и сепсис новорожденных (*S. agalactiae*). Группа *mitis* включает виды, которые в большинстве своем могут быть выделены из полости рта или носоглотки человека. *S. oralis*, *S. mitis*, *S. gordonii* и *S. pneumoniae* являются генетически близкими и по причине частого горизонтального переноса генов между этими видами дифференциация штаммов этих видов часто затруднена. *S. pneumoniae* является одним из основных патогенов, вызывающих средний отит, бронхит, синусит, менингит и внебольничную пневмонию. Другие группы, выделяемые в зависимости от последовательности гена 16S рРНК, включают группы *anginosus*, *salivarius*, которые колонизируют полость рта человека и животных, а также группу *bovis*. Группа *mutans* включает ряд видов, колонизирующих ротовую полость человека (*S. mutans* и *S. sobrinus*), макаки (*S. downei*), крысы (*S. rattii*) и хомяка (*S. criceti*), и связанных с развитием кариеса. Большинство стрептококковых инфекций человека связаны с бета-гемолитическими стрептококками группы А (group A *Streptococcus* или GAS), т.е. со *Streptococcus pyogenes*. Заболевания, вызываемые другими штаммами стрептококков, менее распространены и обычно включают инфекцию мягких тканей или эндокардит. Некоторые инфекции развиваются у определенных групп населения. Например, стрептококки группы В (*S. agalactiae*) вызывают инфекции беременных, рожениц и новорожденных, которые проявляются в виде менингитов, инфекций кровотока, эндометрии, мочевыводящих путей. Основными путями передачи стрептококков являются воздушно-капельный, контактный и пищевой.

Инфекции, вызываемые *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae, стрептококк группы В (group B *Streptococcus* или GBS), в большинстве случаев является бессимптомным колонизатором пищеварительного и уrogenитального трактов у здоровых людей. Однако он может вызывать серьезные инвазивные инфекции у новорожденных и взрослых пациентов с ослабленным иммунитетом.

В неонатологии различают две формы клинического проявления *S. agalactiae* – с ранним и поздним началом. Ранняя форма представляет собой инфекцию *S. agalactiae*, возникшую в течение первой недели жизни (обычно в течение первых 24 часов) с неспецифичной симптоматикой. В большинстве случаев ее проявлениями являются сепсис и/или пневмония, менингит или менингоэнцефалит. Наиболее часто септический характер заболевание приобретает у недоношенных и маловесных детей, с тяжелым течением и нередко летальным исходом. Поздняя форма инфекций новорожденных, вызванных *S. agalactiae*, проявляется после достижения 7-дневного возраста (в период от 7 до 90 дней, реже в возрасте до 6 месяцев). Чаще инфекция проявляется менингитом, реже сепсисом, остеомиелитом и/или септическим артритом, лимфаденитом, конъюнктивитом,

эндокардитом, эпиглоттитом, эмпиемой, некротизирующим фасциитом и токсическим шоком. Инфицирование ребенка в 50% случаев происходит при вертикальной трансмиссии возбудителя от матери, колонизированной *S. agalactiae*, чаще всего во время родов. Факторами риска развития заболевания, вызванного *S. agalactiae*, у ребенка, рожденного от женщины, инфицированной *S. Agalactiae*, являются: возраст беременной (моложе 20 лет), выкидыши или медицинские аборт в анамнезе, амнионит, преждевременные роды, лихорадка в родах, длительный безводный период (>12 часов), задержка внутриутробного развития. Клинические проявления перинатальной инфекции у женщин – послеродовые инфекции эндометрия, урогенитального тракта, головного мозга, сепсис и осложнения кесарева сечения. У взрослых людей *S. agalactiae* могут вызывать кожные заболевания (флегмона), менингиты, пневмонию, инфекции кровотока. Группу риска составляют пожилые люди, пациенты с диабетом, ВИЧ-инфекцией, хроническими заболеваниями.

Вирулентность *S. agalactiae* в первую очередь связана с полисахаридной капсулой, которая, в отличие от капсулы стрептококка группы А, состоит из «чужих» компонентов и обладает иммуногенностью. На основе типоспецифических капсульных полисахаридов у *S. agalactiae* выделяют 10 серотипов (Ia, Ib, II-IX).

Принадлежность к определенным серотипам и генотипам коррелирует с инвазивностью штаммов и их адаптацией к определенным возрастным группам. Так, более половины неонатальных инфекций связано с III серотипом *S. agalactiae*. Другие факторы патогенности включают С5а пептидазу, бета-гемолизин, С-протеины, гиалуронидазу, Sip-белок, САМР-фактор, адгезины и другие.

S. agalactiae сохраняет чувствительность к пенициллину и другим бета-лактамам антибиотикам. В то же время в последние годы растет резистентность патогена к линкозамидам, макролидам, причем увеличивается частота выделения штаммов с множественной лекарственной устойчивостью к макролидам, линкозамидам, хлорамфениколу и тетрациклину.

Показания к обследованию

- Рождение ребенка от матерей с GBS-инфекцией в анамнезе, GBS-бактериурией во время данной беременности;
- угроза преждевременных родов, подъем температуры во время родов ($\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$), безводный период продолжительностью более 18 часов;
- дифференциальная диагностика возбудителя на фоне рецидивирующих воспалительных процессов.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение культуры микроорганизма, выявление его АГ и ДНК.

Материал для исследования

- Моча, вагинально-ректальные мазки, мазки из ротоглотки, меконий,

кровь, мокрота, СМЖ, плодная жидкость, суставная жидкость, фрагменты пораженных тканей – культуральные исследования, выявление ДНК микроорганизма;

- соскоб из влагалища, цервикального канала, ректальный мазок, моча – выявление АГ микроорганизма.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Клинические проявления инфекции, вызванные *S. agalactiae*, имеют низкую специфичность, поэтому верификация этиологии заболевания имеет особое значение.

Для выявления *S. agalactiae* культуральным методом используют кровяной агар с 5% дефибрированной кровью и хромогенную селективную среду. Идентификацию выделенной культуры *S. agalactiae* проводят при использовании латекс-агглютинации, биохимической идентификации, MALDI-TOF MS. Применение бактериологического анализа ограничено значительными временными затратами (24-96 часов) на проведение и низкой чувствительностью.

Для выявления группоспецифических АГ *S. agalactiae* применяют экспресс-исследования с использованием методов латекс-агглютинации, коагглютинации и ИФА. Определение АГ методом ИХА и ДНК методом ПЦР-РВ позволяют получать результат в течение 15-60 минут. Современные экспресс-тесты (метод ИХА) основаны на применении моноклональных антител, что обеспечивает высокую специфичность (95-100%) в ущерб чувствительности (30-93%). Поэтому положительный результат определения АГ методом ИХА следует рассматривать как подтверждение GBS-инфекции, а отрицательный нуждается в проверке более чувствительными методами диагностики. Диагностическая чувствительность ПЦР-исследования составляет 81-98%, диагностическая специфичность – 98-99%.

Исследование чувствительности *S. agalactiae* к антимикробным препаратам проводят в соответствии с рекомендациями EUCAST и Клиническими Рекомендациями по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (последняя версия). На основании действующих рекомендаций определяют чувствительность *S. agalactiae* к бензилпенициллину, эритромицину, клиндамицину и ванкомицину.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Бактериологический метод применяется при плановом скрининге беременных, но он неприемлем в таких ситуациях, как преждевременные роды и роды у женщин с клиническими факторами риска GBS-инфекций. В таких случаях целесообразно применение экспресс-тестов (определение АГ методом ИХА) в связи с простотой постановки и быстротой получения результатов и определение ДНК методом ПЦР. Применение экспресс-тестов определения АГ возможно не только в лаборатории, но непосредственно «у постели больного».

Ограничением применения метода ПЦР является обнаружение ДНК не только живых, активно размножающихся микроорганизмов, но и бактерий убитых в результате лечения (если биоматериал собран на фоне лечения или для контроля за эффективностью лечения).

Инфекция, вызываемая *Streptococcus pneumoniae*

Пневмококковая инфекция (ПИ) – заболевания, вызываемые бактериями вида *Streptococcus pneumoniae*. Резервуаром и источником ПИ является человек, в то же время не является строгим антропонозом (*S. pneumoniae* встречается у диких и домашних копытных животных). Путь передачи – воздушно-капельный или контактно-бытовой. Клинически ПИ проявляется в виде широкого спектра неинвазивных и инвазивных форм, кроме того распространено бессимптомное носительство, частота которого колеблется от 5 до 45% и более.

К неинвазивным формам ПИ относятся заболевания верхних дыхательных путей, пневмонии без бактериемии, острый средний отит, синусит, заболевания кожи, поражения сердца (эндокардит), почек, суставов и других органов. Инвазивные формы ПИ чаще всего представлены бактериемической пневмонией, *S. pneumoniae* могут быть причиной первичного сепсиса, они также занимают ведущее место в этиологии бактериальных менингитов.

Наиболее часто диагностируемой формой ПИ является внебольничная пневмония и бактериальный менингит. Заболеваемость внебольничными пневмониями в России ежегодно составляет около 400 случаев на 100 тыс. населения. По данным Министерства обороны России, у военных срочной службы заболеваемость пневмонией в 2000-2003 гг. превышала показатель 40 случаев на 1000 военнослужащих, но в последние годы регистрируется ниже 30 случаев на 1000 военнослужащих. Заболеваемость пневмококковым менингитом в России в 2010-2017 годах находилась в диапазоне 0,17-0,25 случаев на 100000 населения.

Этиологическая диагностика неинвазивных форм ПИ затруднена необходимостью исследования биологического материала из нестерильных локусов (например, мокроты, аспиратов из зева или верхних дыхательных путей), в которых присутствуют близкородственные виды стрептококков, обладающих сходными с пневмококком морфологией колоний, биохимическими и антигенными свойствами.

Показания к обследованию

- Подозрение на внебольничную пневмонию, острый бронхит, отит, синусит;
- поражения кожи, подкожной клетчатки, соединительной ткани (редкая локализация инфекции);
- конъюнктивит (редкая локализация инфекции);
- генерализованные формы инфекций – менингит, менингоэнцефалит, сепсис.

Дифференциальная диагностика проводится с микробными агентами:

- при подозрении на внебольничную пневмонию: *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Staphylococcus aureus*, семейством *Enterobacteriaceae*, вирусами гриппа;
- при отитах, синуситах – *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, грибами рода *Candida*;
- при менингите – *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* серотипа *b*, *Staphylococcus aureus*, семейство *Enterobacteriaceae*;
- при поражениях кожи, подкожной клетчатки, соединительной ткани – *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Этиологическая лабораторная диагностика включает микроскопию биологического материала, посев биологического материала с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя, определение антибиотикочувствительности, обнаружение АГ или ДНК возбудителя, обнаружение специфических АТ.

Материал для исследования

- Мокрота, аспираты из трахеи, аспираты из зева, БАЛ, гнойное отделяемое, пунктаты (средний отит, синусит); СМЖ, кровь (менингит, менингоэнцефалит); кровь (септические состояния); отделяемое из раны (кожные поражения); секционный материал – культуральные исследования, выявление ДНК микроорганизма;
- СМЖ – определение АГ;
- сыворотка крови – определение АГ, АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики и особенности интерпретации их результатов

Микроскопические исследования используют для выявления пневмококков в разных видах биологического материала: мокроте, плевральной жидкости, отделяемом из уха, придаточных пазух, СМЖ, крови. Диагностическая ценность обнаружения в мазке мокроты диплококков «сходных с пневмококками» до сих пор остается дискуссионной. Большинство исследователей считают, что это исследование может использоваться только при соблюдении ряда жестких условий:

- взятие материала должно проводиться до начала антибиотикотерапии;
- контроль правильности отбора, доставки и обработки материала;
- задержка приготовления препарата на 2-5 часов от момента взятия материала может привести к ошибочным результатам;
- подтверждением взятия образца мокроты из нижних отделов дыхательных путей (доказательство качества мокроты) служит исследование при малом увеличении микроскопа: материал считается пригодным для бактериологического посева при обнаружении в мокроте большого количества нейтрофилов (более 25 в поле зрения), небольшого количе-

ства эпителиальных клеток (менее 10 в поле зрения), при этом должна преобладать монофлора, по морфологии сходная с пневмококком.

Для посева с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя, определением антибиотикочувствительности используют различные виды материала: мокрота, БАЛ, отделяемое из уха и придаточных пазух, кровь, СМЖ, плевральная жидкость.

При наличии роста на чашках Петри проводится обязательная количественная оценка бактериального роста и выделение чистой культуры предполагаемого возбудителя для дальнейшей идентификации.

Принадлежность к виду *Streptococcus pneumoniae* подтверждается:

- характерным видом колоний на средах, содержащих кровь (колонии по форме напоминают игральные шашки или блюдца, мелкие, прозрачные, окружены зоной зеленоватого гемолиза);
- чувствительностью микроорганизма к оптохину;
- чувствительностью к желчным кислотам;
- положительной реакцией набухания капсулы с антипневмококковой опни-сывороткой;
- биохимической характеристикой возбудителя с использованием соответствующих наборов реагентов.

Оценка результатов культурального исследования

Для нестерильных локусов:

- выявление при посеве в мокроте или лаважной жидкости более чем 10^3 КОЕ/мл пневмококков является диагностическим критерием постановки диагноза пневмония;
- выявление в гнойном экссудате при остром бактериальном синусите более 10^5 КОЕ/мл пневмококков является диагностическим критерием постановки диагноза синусит;
- выявление в гнойном отделяемом при остром среднем отите более 10^4 КОЕ/мл пневмококков, является диагностическим критерием постановки диагноза отит.

Для стерильных локусов:

- любое выявление возбудителя в стерильных жидкостях организма служит основанием для постановки диагноза пневмококковой инфекции.

Для определения чувствительности к антибиотикам используются несколько методов.

- Метод серийных разведений в бульоне или агаре. Принцип метода основан на оценке чувствительности возбудителя к серии последовательных разведений тестируемого антибиотика. При этом определяется точное значение минимальной подавляющей концентрации (МПК) препарата для микроорганизма. Однако из-за значительной трудоемкости, метод используется преимущественно в научных лабораториях. Более широкое применение получил модифицированный метод серий-

ных разведений, основанный на использовании пограничных концентраций антибиотика, который не дает точного определения МПК препарата для возбудителя, но позволяет оценить его принадлежность к чувствительным (S), промежуточно устойчивым (I) или резистентным (R) штаммам. Большинство готовых наборов реагентов используют именно этот принцип.

- Диско-диффузионный метод – основан на оценке диаметра зоны подавления роста вокруг бумажного диска с антибиотиком, наложенного на растущую на плотной питательной среде культуру исследуемого микроорганизма. Образование зоны ингибирования роста происходит за счет диффузии антибактериального препарата из носителя (диска) в питательную среду, при которой величина диаметра ингибирования роста жестко связана с величиной МПК. Метод не определяет точное значение минимальной подавляющей концентрации антибиотика для микроорганизма, а только позволяет отнести его к одной из категорий чувствительности (S, I, R).
- Метод эпиллометрии (E-тест) – в качестве носителя используется полоска полимера, пропитанная различными концентрациями антибиотика, с нанесенными на нее значениями таких концентраций. Интерпретации результатов выполняют в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Наиболее важным при тяжелых пневмококковых инфекциях является определение чувствительности пневмококков к пенициллину и другим бета-лактамам антибиотикам (аминопенициллинам, карбапенемам, цефалоспорином) – основным препаратам выбора. В качестве скринингового теста для определения чувствительности к этим препаратам используется диско-диффузионный метод.

В исследование обязательно включают изучение чувствительности к макролидам, линкозамидам, стрептограминам. Данные препараты часто используются для лечения внегоспитальной пневмококковой пневмонии и заболеваний верхних дыхательных путей. Пневмококки могут быть устойчивыми только к 14- и 15-членным макролидам, при сохранении чувствительности к 16-членным макролидам и линкозамидам, а могут быть устойчивыми ко всем представителям этих классов.

Определение устойчивости к хинолонам, хлорамфениколу, тетрациклину, ко-тримоксазолу, рифампицину, ванкомицину, позволяет более полно характеризовать фенотип возбудителя. При этом необходимо учитывать, что ранние хинолоны (офлоксацин), которые применяются в отношении пневмококков резистентных к пенициллину, в последнее время показывают рост устойчивости к этому препарату. Для преодоления устойчивости используют новые фторхинолоны с повышенной антипневмококковой активностью: спарфлоксацин, моксифлоксацин и др.

Примерно от 5 до 15% культур пневмококков в России демонстрируют

полирезистентные свойства, т. е. одновременную устойчивость к 3 и более классам препаратов.

Для обнаружения АГ пневмококка в пробах биологических жидкостей пациента применяют методы латекс-агглютинации и ИХА. Наборы реагентов, основанные на реакции латекс-агглютинации или коагглютинации, предназначены для работы с материалом, полученным из стерильных локусов (кровь, СМЖ), при работе с нестерильными локусами эти наборы могут давать ложноположительный результат. Чувствительность и специфичность наборов разных производителей составляет 94-100% и 85-98%, соответственно. Набор реагентов с использованием ИХА позволяет определить наличие указанного АГ у больных пневмонией (в моче) и менингитом (в СМЖ). Этот тест рекомендован как дополнительный метод быстрой предварительной диагностики пневмококковой пневмонии. При исследовании проб пациентов с высоким уровнем назофарингеального носительства *S. pneumoniae* возможны ложноположительные результаты.

Для обнаружения ДНК *S. pneumoniae* применяют ПЦР, в качестве мишеней используют специфические фрагменты генов, кодирующих факторы патогенности: пневмолизин (Ply), аутолизин (LytA), пневмококковый поверхностный АГ (PsaA), пневмококковый поверхностный протеин А (PspA), марганец-зависимая супероксиддисмутаза (sodA), поверхностный пенициллин-связывающий белок 2b (Pbp2b), локусы *Spn9802*, *Spn9828*. Все эти мишени могут использоваться для обнаружения ДНК *S. pneumoniae* в стерильных жидкостях организма с целью диагностики инвазивных форм пневмококковой инфекции.

Ограничение использования ПЦР-исследования для диагностики неинвазивных форм пневмококковой инфекции связано с тем, что гены или фрагменты генов, используемые в качестве ПЦР-мишеней, могут также присутствовать в геномах других представителей рода *Streptococcus*. Некоторые авторы отмечают, что использование в качестве диагностической мишени локусов *Spn9802* или *cpsA* в количественном формате позволяет проводить исследование биологического материала из нестерильных локусов (мокрота, аспираты из трахеи, БАЛ и даже мазки из носоглотки), что расширяет возможности и перспективы рутинной диагностики пневмококковых пневмоний.

Исследование биологического материала, полученного из стерильных локусов организма (СМЖ, кровь, пунктаты пораженных органов) позволяет установить этиологию инвазивных пневмококковых инфекций, при этом определение концентрации возбудителя в биологическом образце не влияет на постановку этиологического диагноза, поэтому может использоваться качественный формат ПЦР. ПЦР в количественном формате обладает большей дискриминационной способностью, диагностической специфичностью, чувствительностью, позитивным и негативным предсказательными значениями при этиологической диагностике заболеваний

нижних дыхательных путей, чем культуральные исследования. Если принять выявление ДНК методом ПЦР за «золотой стандарт» диагностики (100%), чувствительность выделения *S. pneumoniae* культуральными методами составит только 50%.

Обнаружение АТ редко используются при проведении лабораторной диагностики пневмококковой инфекции. Это связано с отсутствием надежных доступных методик, имеющих достаточную чувствительность и специфичность, а также временем, необходимого для образования АТ в достаточной для проведения тестирования концентрации в течение ПИ. В настоящий момент используются определения АТ против четырех АГ пневмококка (С-антигена, капсульных полисахаридов, фосфорилхолина и пневмолизина). Чувствительность метода для С-антигена и капсульных полисахаридов составляет 89% и 97% соответственно. Наиболее распространенные методы определения – ИФА и РИФ (МФА). При применении МФА в качестве АГ рекомендуется использовать аутоштамм пневмококка, выделенный от данного больного. В случае отсутствия аутоштамма применяют смесь штаммов из наиболее часто встречающихся на данной территории серотипов. Выявление минимального диагностического титра АТ к пневмококку у детей до 3 лет 1:320 и 1:640 у взрослых свидетельствует о пневмококковой этиологии перенесенного заболевания.

Инфекция, вызываемая *Streptococcus pyogenes*

S. pyogenes являются главной причиной бактериальных ангин, а также одной из причин инфекций кожи и подкожной клетчатки (импетиго, гнойный целлюлит), включая тяжелые формы (рожа, некротизирующий фасцит). Типовой гнойный процесс, вызываемый *S. pyogenes*, – флегмона. *S. pyogenes* выступает в качестве этиологического фактора среднего отита, синусита, инфекции кровотока, эндокардитов, пневмонии, эмпиемы плевры.

Поздними (спустя более двух недель после инфекции) осложнениями инфекций, вызванных *S. pyogenes*, являются ревматизм, острый гломерулонефрит, неврологические расстройства у детей (синдром PANDAS). Со способностью *S. pyogenes* вырабатывать экзотоксины связаны токсин-опосредованные инфекции – скарлатина и синдром токсического шока.

S. pyogenes обладает широким спектром факторов патогенности, которые включают внеклеточные ферменты, токсины и поверхностные белки, способные модулировать выработку антител и функцию иммунных клеток.

Адгезия *S. pyogenes* к эпителиальным клеткам полости рта, носа и кожи является первым этапом инфекции. *S. pyogenes* продуцирует различные адгезины: М-белок, липотейхоевую кислоту, фибронектинсвязывающий и коллагенсвязывающие белки и т.д. Основным фактором вирулентности, связанным с *S. pyogenes*, является М-белок. Этот поверхностный антиген позволяет *S. pyogenes* избегать фагоцитоза и выживать в организме чело-

века. Для дифференцировки штаммов в настоящее время применяется серологическое М-типирование, основанное на реакции преципитации с М-белком. В качестве дополнения к М-типированию иногда применяют Т-типирование, которое нацелено на экспрессируемый на поверхности антигенно-вариабельный Т-белок. Хотя известно меньше Т-типов, чем М-типов, Т-белок является более стабильным, чем М-белок, и в некоторых случаях Т-типирование может быть предпочтительнее серологического М-типирования. С использованием М- и Т-типирования в настоящее время удается идентифицировать более 150 серотипов *S. pyogenes*. Серологическое М-типирование не лишено ограничений. Существует целый ряд М-серотипов, для которых не существует антисыворотки, и, таким образом, изоляты являются нетипируемыми.

В последние годы была разработана альтернативная система молекулярного типирования, называемая *emm*-типированием. Эта схема основана на определении нуклеотидной последовательности вариабельного 5'-участка *emm*-гена, кодирующего М-белок. *Emm*-типирование очень хорошо коррелирует с серологическим типированием, и в большинстве случаев тип *emm* отражает серологический тип М-белка.

Капсула является основным фактором вирулентности многих патогенных бактерий, в связи с ее антифагоцитарными свойствами. Капсула *S. pyogenes*, построенная из гиалуроновой кислоты, обладает химическим сходством с соединительной тканью хозяина. Таким образом, капсула *S. pyogenes* помогает бактерии скрывать свои собственные антигены, она лишена иммуногенности и предотвращает опсонизацию и фагоцитоз.

К факторам антифагоцитарной защиты *S. pyogenes* относятся также стрептолизины и С5а-пептидаза (Scp). Бета-гемолиз связан со способностью стрептококков вырабатывать экзотоксин двух типов: стрептолизин О (SLO) и стрептолизин S (SLS). Стрептолизин О представляет собой чувствительный к кислороду цитотоксин, секретируемый большинством стрептококков группы А (GAS, group A *Streptococcus*), который взаимодействует с холестерином в мембране эукариотических клеток (главным образом эритроцитов и лейкоцитов, макрофагов и тромбоцитов) и обычно приводит к бета-гемолизу под поверхностью кровяного агара. SLO обладает выраженной токсичностью, иммуногенен. Стрептолизин S представляет собой устойчивый к кислороду цитотоксин, также вырабатываемый большинством штаммов *S. pyogenes*, который приводит к обесцвечиванию области на поверхности кровяного агара. SLS воздействует на иммунные клетки, включая полиморфноядерные лейкоциты и лимфоциты, является менее токсичным и, не обладая иммуногенностью (отсутствие антител), не поддается специфической нейтрализации. Заякоренная в клеточной стенке С5а-пептидаза специфически инактивирует фактор комплемента С5а, являющийся мощным хемоаттрактантом для полиморфноядерных нейтрофилов и способствующий их экстренной мобилизации в зону бактериальной инвазии.

Кроме антифагоцитарных факторов, инвазивность стрептококка определяется так называемыми факторами распространения, ферментами, секретлируемыми во внешнюю среду и разрушающими ткани хозяина. К ним относятся дезоксирибонуклеаза (стрептодорназа), стрептокиназа (фибринолизин) и гиалуронидаза. Значимую роль в патогенезе стрептококковой инфекции играют пирогенные экзотоксины (SPE) со свойствами суперантигенов. Эти токсины являются главными патогенетическими факторами скарлатины и синдрома токсического шока.

Пенициллин и цефалоспорины являются препаратами выбора для лечения инфекций, вызванных *S. pyogenes*. Хотя *S. pyogenes* остается чувствительным к бета-лактамам, в последнее время растет количество сообщений о неэффективности терапии фаринготонзиллита пенициллинами. Такая ситуация может быть связана с внутриклеточной персистенцией *S. pyogenes*, а также защитой *S. pyogenes* бактериями, продуцирующими β -лактамазы (*Staphylococcus aureus*, *Haemophilus spp.*, *Moraxella catarrhalis*) и являющимися частью микробиоты полости рта.

Механизм действия бета-лактамов связан с ингибированием последних стадии синтеза пептидогликана, посредством связывания с высокомолекулярными пенициллинсвязывающими белками (ПСБ).

Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам является их ферментативная инактивация, опосредованная аминогликозидмодифицирующими ферментами. Стрептококки, в том числе зеленящие стрептококки, обладают природной резистентностью к низким концентрациям аминогликозидов, но при применении их совместно с пенициллином отмечается выраженный синергизм. В отношении *S. pneumoniae* аминогликозиды неактивны.

Макролиды, линкозамиды и стрептограммины рекомендуются в качестве альтернативных антибиотиков для лечения инфекций *S. pyogenes* у пациентов с аллергией на β -лактамы или в случае неэффективности лечения пенициллином. Устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограмминам может быть обусловлена различными механизмами: пост-транскрипционными модификациями сайта-мишени метилазами рРНК (*erm*-гены), мутациями в 23S рРНК или рибосомальных белках L4 и L22 или активным эффлюксом (*mef*-гены). В последние годы в мире наблюдается тенденция к росту устойчивости к макролидным антибиотикам среди *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*.

Резистентность к фторхинолонам у стрептококков связана с эффлюкс-механизмами либо с мутациями в генах, кодирующих мишени фторхинолонов – топоизомеразу и гиразу. У стрептококков высокий уровень устойчивости к фторхинолонам опосредуется мутациями в генах, кодирующих мишени фторхинолонов – топоизомеразу и ДНК-гиразу, тогда как активный эффлюкс связан с низким уровнем резистентности у *S. pneumoniae* и стрептококков группы *viridans*. У *S. pyogenes* данный механизм не обнаружен.

Устойчивость к тетрациклину опосредована тремя механизмами: инактивацией препарата, активным эффлюксом или защитой рибосом.

Резистентность к сульфаниламидам (триметоприму) связана с мутациями в гене, кодирующем дигидрофолатредуктазу.

Резистентность к рифампицину опосредована мутациями в *rpoB* гене, кодирующем β -субъединицу РНК-полимеразы. У *S. pyogenes* устойчивость к рифампицину среди клинических изолятов наблюдается редко.

Устойчивость к хлорамфениколу редко встречается в клинических изолятах β -гемолитических стрептококков и в основном связана с ферментативной инактивацией антибиотика хлорамфеникол-ацетилтрансферазами, гены которых локализуются на плаزمиде или входят в состав транспозонов наряду с генами резистентности к другим антибиотикам.

В целом *S. pyogenes* остается чувствительным к противомикробным препаратам, за исключением макролидов и тетрациклинов, при этом растет уровень ассоциированной устойчивости к этим антибактериальным препаратам, что связано с локализацией обеих детерминант резистентности на одних и тех же мобильных генетических элементах. Пока не описано случаев резистентности к линезолиду, тигециклину и даптомицину.

Показания к обследованию

- Больные ангиной, менингитом, наружным инфекционным отитом, острым синуситом, пневмонией, инфекционным миозитом, фасциитом;
- пациенты с подозрением на скарлатину, с инфекциями кожи и подкожной клетчатки, синдромом токсического шока.

Этиологическая диагностика включает посев биологического материала с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя, определение антибиотикочувствительности, обнаружение АГ или ДНК возбудителя, обнаружение специфических АТ.

Материал для исследования

- Мазки из ротоглотки – культуральные исследования, выявление АГ и ДНК микроорганизма;
- мокрота, раневое отделяемое, аспираты из очага поражения, кровь, биоптаты тканей – культуральные исследования, выявление ДНК микроорганизма;
- сыворотка крови – выявление АГ микроорганизма, определение специфических АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

«Золотым стандартом» идентификации стрептококков, является бактериологический посев биоматериала на специальные среды. Стрептококки являются «привередливыми» бактериями и растут на питательных средах с добавлением дефибринированной крови. Стрептококки идентифицируют с использованием биохимических тестов, по чувствительности к желчи, оптохину, бацитрацину, способности агглютинировать с групповыми

специфическими сыворотками. Однако использование бактериологического метода ограничено низкой чувствительностью, трудоемкостью и продолжительностью преаналитического этапа.

Широкое распространение получили методы экспресс-диагностики *S. pyogenes* в мазках с поверхности миндалин и/или задней стенки глотки. Экспресс-тест на основе иммунохроматографии выявляет АГ группового полисахарида стрептококка группы А, он может быть проведен в амбулаторных условиях. Тест обладает высокой специфичностью (95%) но низкой чувствительностью (70-90%). При положительном результате экспресс-теста диагноз стрептококковой инфекции можно считать подтвержденным, а отрицательные результаты экспресс-теста требуют подтверждения культуральным исследованием.

Одним из современных методов идентификации стрептококков является прямое белковое профилирование с помощью матрично-активированной лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии (MALDI-ToF MS), которое дает возможность быстро и с высокой точностью идентифицировать *S. pyogenes* (для анализа используется чистая культура).

Для выявления и идентификации ДНК стрептококков применяют ПЦР-РВ. Следует учитывать, что данный метод позволяет обнаружить не только живых, активно размножающихся микроорганизмов, но и убитых в результате лечения бактерий, так как часто биоматериал на исследование берется уже на фоне лечения заболевания. По специфичности ПЦР-исследование не уступает культуральному и значительно превосходит другие методы идентификации возбудителя (экспресс-тест для определения АГ). Высокая чувствительность метода позволяет выявить заболевание на самой ранней стадии, а также использовать этот метод при диагностике осложнений острого фарингита: острой ревматической лихорадки и пост-стрептококкового гломерулонефрита.

Для оценки и интерпретации чувствительности стрептококков к антибактериальным препаратам следует использовать актуальную версию российских Клинических рекомендаций Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» или рекомендации Европейского комитета по тестированию антимикробной резистентности (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST).

Показания к применению различных лабораторных исследований

При рецидивирующем стрептококковом тонзиллофарингите результаты бактериологических и/или экспресс-методов для выявления АГ *S. pyogenes* являются положительными в период эпизодов заболевания и отрицательными – в период между эпизодами заболевания с повышением титров специфических АГ после каждого случая болезни. Концентрация антител к SLO (антистрептолизин О) является диагностическим индикатором не-

давной стрептококковой инфекции.

Экспресс-методы диагностики определения группоспецифических АГ применяют у больных с подозрением на скарлатину, острыми воспалительными заболеваниями ЛОР-органов и гнойничковыми поражениями кожи с целью назначения своевременной этиотропной терапии. Также целесообразно применение таких исследований для выявления носителей *S. pyogenes* в организованных коллективах, в стационарах для обоснования решения о проведении экстренной профилактики вспышечной заболеваемости стрептококковой респираторной инфекции. При использовании экспресс-тестов следует учитывать, что их диагностическая чувствительность зависит от количества микроорганизмов в биоматериале и выраженности клинической картины.

При оценке полученных результатов лабораторных исследований следует учитывать, что выделение стрептококков из нестерильных локусов не всегда свидетельствует об их причастности к патологии, так как довольно часто человек является здоровым носителем возбудителя.

Литература

1. Белошицкий Г.В. Пневмококковая инфекция // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. М.: Бином, 2013. – С.214-220.
2. Бочков И.А. Инфекция, вызываемая *Streptococcus agalactiae* (стрептококками группы В) // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. М.: Бином, 2013. – С.152-155.
3. Брико Н.И., Клейменов Д.А., Пронский А.В. и др. Методические указания МУ 3.1.1885-04. Эпидемиологический надзор и профилактика стрептококковой (группы А) инфекции. – М., 2004.
4. Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных стрептококком группы В у беременных и новорожденных. Клинические рекомендации. – М., 2017 – 65 с.
5. Миронов К.О., Яцышина С.Б. *Streptococcus pneumoniae* // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. – М: РИПОЛ классик, 2018. – С.359-369.
6. Рачина С.А., Захаренков И.А., Дехнич Н.Н. и др. Этиология тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых в РФ: предварительные результаты многоцентрового исследования *Seria* // Молекулярная диагностика 2017. Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Москва, 18-20 апреля 2017. Тамбов: ООО фирма 'Юлис', 2017. том 1, с. 256-257.
7. Скачкова Т.С, Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. *Streptococcus agalactiae* // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А.- М:РИПОЛ классик, 2018. – С.351-358.
8. Скачкова Т.С, Шипулина О.Ю.*Streptococcus pyogenes* // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. – М: РИПОЛ классик, 2018. – С.369-373.
9. Методические указания МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных

- пневмоний» (Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 21.10.2013).
10. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.2.3149-13. Эпидемиологический надзор и профилактика стрептококковой (группы А) инфекции. (утв. главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 18 декабря 2013)
 11. Abdeldaim G., Strålin K., Olcén P. et al. Toward a quantitative DNA-based definition of pneumococcal pneumonia: a comparison of *Streptococcus pneumoniae* target genes, with special reference to the Spn9802 fragment // *Diag Micro Infect Dis.* – 2008. – Vol.60. – P.143-150.
 12. Brouwer S., Barnett T., Rivera-Hernandez T. et al. *Streptococcus pyogenes* adhesion and colonization // *FEBS Lett.* – 2016. – Vol.590. – P.3739-3757.
 13. Curran T., Coyle P., McManus T. et al. Evaluation of real-time PCR for the detection and quantification of bacteria in chronic obstructive pulmonary disease // *FEMS Immunol Med Microbiol.* – 2007. – Vol. 50. – P. 112-118.
 14. Garcha D., Thurston S., Patel A. et al. Changes in prevalence and load of airway bacteria using quantitative PCR in stable and exacerbated COPD // *Thorax.* – 2012. – Vol. 67. – P. 1075-1080.
 15. Nobbs A., Lamont R., Jenkinson H. *Streptococcus* adherence and colonization // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2009. – Vol.73. – P.407-450.
 16. Park H., Lee S-J., Yoon J. et al. Identification of the *cpsA* gene as a specific marker for the discrimination of *Streptococcus pneumoniae* from viridans group streptococci // *J Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 59. – P. 1146-1152.
 17. Raabe V., Shane A. 2019. Group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*). *Microbiol Spectrum* 7(2): GPP3-0007-2018.
 18. *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations/* Ed. J.J. Ferretti, D.L. Stevens, V.A. Fischetti. – University of Oklahoma; 2016. – 738 p.
 19. Yang S., Lin S., Khalil A. et al. Quantitative PCR assay using sputum samples for rapid diagnosis of pneumococcal pneumonia in adult emergency department patients // *J Clin Microbiol.* – 2005. – Vol.43. – P. 3221-3226.

■ Инфекции желудочно-кишечного тракта

Инфекционные поражения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются разнообразной по патогенезу, этиологии и клиническим проявлениям группой нозологий. При этом важно отметить, что абсолютная эффективность этиологической диагностики данной группы заболеваний является недостижимой. Причинами этого являются как сложности оперативной дифференциальной диагностики с синдромально сходной неинфекционной патологией, так и невозможность этиологической идентификации пищевых интоксикаций, связанных с широким спектром микроорганизмов, способных продуцировать токсические метаболиты в продуктах питания. Крайне ответственной является дифференциальная диагностика ОКИ с острым инфарктом миокарда и другими формами ИБС, острой хирургической/гинекологической патологией, а также исключение пневмоний, в том числе аспирационных.

При инфекционной природе заболеваний важным признаком, позволяющим с высокой достоверностью дифференцировать кишечные инфекции от пищевых интоксикаций бактериальной природы, является длительность инкубационного (в случаях интоксикаций – латентного) периода. Его подтвержденная продолжительность менее 6 часов позволяет исключить классические кишечные инфекции, требующие более длительного периода для размножения возбудителя в ЖКТ.

Общими показаниями для лабораторной этиологической диагностики острых кишечных (диарейных) инфекций является наличие у пациента остро возникшего гастроинтестинального и общеинтоксикационного синдрома. Учет данных синдромов по наличию как минимум двух из трех признаков – диареи, рвоты и лихорадки, позволяет достичь наиболее полного охвата пострадавших лабораторными исследованиями. В соответствии с критериями ВОЗ, под диареей понимается учащенная (более двух раз в сутки) дефекация с изменением консистенции стула (5-7 тип стула по классификации по Бристольской шкале). Отсутствие остро начавшейся и большая длительность диареи может свидетельствовать о неинфекционной природе поражения ЖКТ.

Наряду с решением задач клинической лабораторной диагностики, обширной областью применения прямых методов индикации возбудителей инфекционных диарей является исследование объектов окружающей среды. Данная сфера проведения лабораторных исследований часто предъявляет более высокие требования к аналитической чувствительности наборов реагентов, чем исследование биологического материала пациентов, что делает невозможным автоматическое использование всего спектра тестов, разрешенных к применению в качестве медицинских изделий для исследования объектов окружающей среды.

Дифференциация этиологии большинства ОКИ возможна только на основании лабораторных исследований. Лабораторная этиологическая диагностика острых инфекционных диарей включает большой спектр методов, в ряде случаев, требующих сочетанного использования:

- световая микроскопия находит основное применение для индикации протозойных кишечных инфекций, играющих ограниченную роль в структуре острых инфекционных диарей;
- культуральные исследования – в клинической практике данные методы применяются в отношении бактериальных патогенов. Исследования направлены на выделение и идентификацию чистой культуры патогена, характеризуются достаточно большой длительностью, но незаменимы при необходимости оценки индивидуальных свойств изолятов микроорганизмов (проведении субвидового типирования, оценки резистентности к антибактериальным препаратам). Аналитические характеристики культуральных исследований наиболее трудно поддаются валидации, что связано с разнообразием параметров культуральных

- сред и методов идентификации изолятов;
- для выявления АГ большого перечня патогенов вирусной и бактериальной природы разработаны тесты на основе ИФА, а также экспресс-тесты, основанные на применении ИХА и латекс-агглютинации, они обеспечивают высокую оперативность проведения исследований. Вместе с тем, необходимо отметить, что данные диагностикумы, как правило, уступают по аналитическим характеристикам (прежде всего – аналитической чувствительности) культуральным методам и МАНК. Значимой областью их использования является выявление в биологическом материале токсинов микроорганизмов, которое в ряде случаев рассматривается как референсный метод их индикации;
 - обнаружение РНК/ДНК возбудителей диарейных заболеваний методами АНК является наиболее методологически унифицированным методом выявления вирусных и бактериальных патогенов, что позволяет использовать исследование в качестве скринингового теста для этиологической верификации диарейных инфекций. К достоинствам данной технологии также можно отнести потенциально высокую чувствительность, делающую возможным применение таких методов при исследовании объектов окружающей среды. К недостаткам – жесткие требования к организации лабораторий, контролю за работой персонала и квалификацией специалистов, необходимой для правильного проведения исследований и грамотной интерпретации их результатов;
 - выявление специфических АГ к АГ возбудителей, проводимое в том числе в динамике заболевания, чаще всего применяется в клинической практике после нерезультативного применения прямых методов индикации патогена и часто носит характер ретроспективной диагностики. Наряду с общими чертами, характеризующими диагностические методы, их применение при отдельных заболеваниях отличается рядом специфических особенностей, которые будут рассмотрены в разделах, посвященных конкретным нозологиям.

Острые кишечные инфекции вирусной этиологии

Ротавирусная инфекция

На территориях, где не применяются ротавирусные вакцины, ротавирусы являются наиболее широко распространенной причиной диарейных заболеваний у детей в возрасте до 5 лет. Ротавирусная инфекция (РВИ) является наиболее тяжело протекающим вирусным гастроэнтеритом у детей первых лет жизни.

Ротавирусы являются единственным из 15 родов семейства *Reoviridae*, имеющим реальное эпидемиологическое значение. Заболевания у человека

вызывают три из девяти видов (групп) ротавирусов – А, В и С. Ротавирусы являются возбудителями заболеваний различных групп млекопитающих и, в меньшей мере, птиц. Несмотря на высокую гостальную специфичность, ротавирусам животных, особенно свиным и бычьим, отводится существенная роль в генетической изменчивости ротавирусов человека. Повсеместную высокую распространенность имеют ротавирусы человека группы А, для диагностики которых производится большой спектр наборов реагентов. Ротавирусы группы С имеют широкое географическое распространение, но связаны с редкими случаями заболеваний. Ротавирусы группы В эндемичны для территории Юго-Восточной Азии (преимущественно Китая).

Ротавирусы группы А объединяют большое число генотипов (серотипов), упрощенная номенклатура которых включает характеристику двух антигенных эпитопов, обозначаемых как Р и G типы ротавирусов. Из них глобальное распространение имеют типы Wa, обуславливающие основную часть заболеваний человека. Основной группой риска для РВИ являются неорганизованные дети дошкольного возраста, преимущественно младше 3 лет. Наиболее тяжелым течением характеризуется первый эпизод инфицирования, при повторных встречах с возбудителем выраженность клинической манифестации снижается, и увеличивается число субманифестных форм заболеваний. Фекально-оральный механизм передачи реализуется преимущественно контактно-бытовым путем, с преобладающей ролью в качестве источника лиц старшего возраста с субманифестными формами инфекции. В острую фазу заболевания при ротавирусной инфекции может быть также реализован аэрогенный путь передачи, но его эпидемиологическое значение невелико.

Показания к обследованию

- Все пациенты детского возраста при наличии диарейного синдрома;
- взрослые пациенты при наличии диарейного синдрома в период сезонного подъема заболеваемости (в РФ с октября-ноября по май-июнь).

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление АГ или РНК ротавирусов группы А.

Материал для исследований

Нативные образцы фекалий, собранные в первые 72 ч от начала заболевания – определение АГ и РНК вируса.

Диагностическая ценность исследования мазков со слизистых верхних дыхательных путей, крови пациентов в острую фазу заболеваний существенно ниже.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

В клинической лабораторной диагностике наибольшее применение находит выявление АГ ротавирусов группы А в фекалиях пациентов методом ИФА, реже с применением экспресс-тестов на основе ИХА или латекс-агглютинации. Характерные для острой фазы заболевания концентрации ротави-

русов обеспечивают высокую эффективность применения данных тестов. Выявление РНК ротавирусов группы А с использованием ПЦР получило меньшее распространение в сфере клинической лабораторной диагностики в силу более высокой стоимости исследований, однако является безальтернативным методом проведения эпидемиологических исследований, включающих обследование лиц на поздних стадиях заболеваний и объектов окружающей среды. При исследовании биологического материала, полученного от пациентов в острую фазу заболеваний и валидированного с применением ПЦР, диагностическая чувствительность наборов для определения АГ вирусов на основе ИФА и ИХА варьирует в диапазоне от 71 до 85%.

При обследовании пациентов позже 72 ч от начала заболевания, а также лиц со стертой клинической симптоматикой для детекции ротавирусов целесообразно использовать выявление РНК вируса методом ПЦР, как более чувствительный метод.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Выявление АГ ротавирусов в фекалиях методом ИФА целесообразно использовать в качестве скринингового исследования в зимне-весенний период в РФ у госпитализированных детей в возрасте до 5 лет, поскольку в данный период ротавирусная инфекция выявляется у 70-80% таких пациентов. Выявление АГ ротавирусов в фекалиях экспресс-методами, применяемыми в формате «у постели больного», может быть рекомендовано только при отсутствии возможности проведения исследований в лабораторных условиях.

Несмотря на достаточно длительные средние сроки выделения ротавирусов после перенесенного заболевания (АГ вирусов около 10 дней при использовании ИФА тестов и РНК вирусов 14 дней при использовании ПЦР), лабораторное обследование пациентов необходимо проводить в первые 72 часа от начала заболевания. Наиболее информативным материалом являются образцы фекалий. Существует потенциальная возможность выявления РНК ротавирусов в мазках со слизистых верхних дыхательных путей и крови пациентов в острую фазу заболеваний, однако низкая диагностическая чувствительность такого формата исследований не позволяет рекомендовать их для применения на практике.

Выявление РНК ротавирусов методом ПЦР экономически целесообразно при применении мультиплексных наборов реагентов в рамках комплексной детекции нескольких вирусных/бактериальных патогенов.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Среди клинически здоровых и невакцинированных детей младшего возраста, как основной группы риска по РВИ, бессимптомное выделение ротавирусов встречается довольно редко. По этой причине при использовании наборов реагентов, обладающих высокой специфичностью, интерпретация положительных результатов исследований у пациентов с

симптоматикой ОКИ не вызывает затруднений. У вакцинированных от ротавирусной инфекции детей, а также детей старшего возраста и взрослых отмечается более высокая частота субманифестного течения инфицирования с возможностью выявления ротавирусов в фекалиях.

Однако следует помнить о случаях сочетанного выявления ротавирусов и других возбудителей ОКИ, они могут быть связаны с длительностью выделения ротавирусов с фекалиями после перенесенного заболевания (при использовании высокочувствительных наборов реагентов вирус может быть обнаружен в течение 30-40 дней).

Калицивирусная инфекция (норовирусная и саповирусная инфекция)

Семейство калицивирусов (*Caliciviridae*) объединяет одиннадцать родов вирусов, которые были выделены у широкого спектра позвоночных и, как правило, характеризовались высокой гостальной специфичностью. Представители двух родов (*Norovirus* и *Sapovirus*) способны вызывать заболевания у человека. Каждый из родов подразделяется на геногруппы, генотипы, генетические варианты. Наибольшее распространение имеют норовирусы 2 геногруппы (*Norovirus* GII). Характерной особенностью возбудителей является способность к рекомбинации в «горячей точке» на границе двух рамок считывания, кодирующих последовательности полимеразы и белков капсида. По этой причине стандартная номенклатура штаммов включает информацию, характеризующую как тип полимеразы, так и тип капсида норовируса. На протяжении длительного времени не существовало методик культивирования норовирусов человека, что затрудняло их детальное изучение. Разработанная в 2012 г. и позднее усовершенствованная технология создания и использования для культивирования патогенов т.н. кишечных энтероидов человека (Human Intestinal Enteroid (HIE) Cultures) позволила преодолеть данное ограничение. Эпидемиологической особенностью норовирусов второй геногруппы является регулярное появление новых антигенных типов, получающих широкое региональное или глобальное распространение и обуславливающих более высокие показатели заболеваемости.

Норовирусы являются наиболее распространенным этиологическим агентом, вызывающим инфекционные диареи. Низкая напряженность постинфекционного иммунного ответа и высокая антигенная вариабельность возбудителя приводят к высокой вовлеченности в эпидемический процесс всех возрастных групп. По данным эпидемиологических исследований, наиболее часто реализуется контактно-бытовой путь передачи патогена, вторым по актуальности является пищевой, связанный с контаминацией продуктов, или «псевдопищевой» путь передачи, обусловленный загрязнением посуды или упаковок пищевых продуктов. Контаминация продуктов происходит чаще всего на последних этапах их приготовления, а источником и приоритетной целью эпидемиологических исследований

являются лица, их осуществлявшие.

Наиболее активное выделение норовирусов наблюдается в первые 72 часа от начала заболевания. По данным ряда исследований, через 72 часа после прекращения основных клинических проявлений заболевания (рвоты и диареи), реконвалесценты не представляют эпидемиологической опасности для окружающих при соблюдении базовых правил личной гигиены. Средняя продолжительность выделения норовирусов составляет около 14 дней, у дошкольников и лиц пожилого возраста она может увеличиваться в полтора-два раза.

Показания к обследованию

- Симптоматика острой инфекционной диареи (за исключением случаев гемоколита), преимущественно легкого течения;
- возникновение групповых случаев ОКИ.

Этиологическая лабораторная диагностика включает обнаружение АГ и РНК вирусов в образцах фекалий.

Материал для исследований

Образцы фекалий, собранные в первые 72 ч от начала заболевания.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Информативность применения различных методов диагностики норовирусной инфекции определяется ее двумя специфическими параметрами: высокой антигенной вариабельностью возбудителя и наиболее низкой, в сравнении с другими вирусными гастроэнтеритами, концентрацией патогена в фекалиях. Особенности антигенной структуры норовирусов требуют использования в наборах для выявления АГ норовирусов смеси моноклональных антител, что обуславливает их высокую стоимость, а регулярное появление новых эпидемических штаммов – валидации ранее разработанных диагностикумов. С другой стороны, низкие концентрации патогена в биологическом материале предъявляют очень жесткие требования к чувствительности его выявления. По указанным причинам диагностические тесты на основе выявления АГ норовирусов в фекалиях, как правило, характеризуются низкой диагностической чувствительностью, что ограничивает их применение в диагностике норовирусной инфекции областью экспресс-диагностики при вспышках ОКИ с необходимостью подтверждения отрицательного результата ПЦР-исследованием.

Предпочтительными и универсальными для индикации норовирусов во всех областях применения являются наборы реагентов для обнаружения РНК на основе ПЦР.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Учитывая более высокую диагностическую чувствительность, наборы реагентов для выявления РНК норовирусов методом ПЦР могут быть рекомендованы в качестве основного инструмента для диагностики норовирусной инфекции.

Выявления АГ норовирусов в фекалиях методами ИФА или ИХА, в силу более низкой диагностической чувствительности, могут быть рекомендованы для экстренного применения при установлении этиологии ОКИ в очагах групповой заболеваемости. При этом использование экспресс-тестов на основе ИХА оправдано только при отсутствии возможности проведения исследований в стационарной лаборатории.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Все доступные диагностические исследования для выявления норовирусов относятся к прямым способам лабораторной диагностики. Однако интерпретация их результатов требует учета особенностей данного заболевания: низкой (в сравнении с другими вирусными агентами) концентрации калицивирусов в образцах фекалий и связанным с этим риском ложноотрицательных результатов при использовании низкочувствительных методов диагностики. По этой причине возможно появление дискордантных результатов при одновременном проведении исследования для обнаружения РНК и АГ норовирусов у пациента. В таких случаях интерпретация должна проводиться согласно результатам более высокочувствительных методов диагностики (результаты обнаружения РНК методом ПЦР более информативны, чем результаты обнаружения АГ методом ИФА, которые, в свою очередь, более информативны, чем обнаружение АГ с использованием ИХА).

Астровирусная инфекция

Представители семейства *Astroviridae* способны вызывать заболевания у различных позвоночных, наиболее хорошо изучены изоляты от млекопитающих (*Mamastrovirus*) и птиц (*Avastrovirus*). Род *Mamastrovirus* объединяет шесть видов, четыре из которых выявлялись у человека. Наиболее широкое распространение из них имеют 8 серотипов первого вида (*MAstV 1*). До недавнего времени считалось, что только они имеют ассоциацию с патологией человека. Однако впоследствии, благодаря широкому применению молекулярно-биологических методов исследований, от пациентов с острой диарейной симптоматикой были выявлены еще несколько видов астровирусов (*MAstV 6*, *MAstV 8*, *MAstV 9*), получивших название «неканонических». Применение методов высокопроизводительного секвенирования позволило выявить неожиданную потенциальную роль данных видов астровирусов в развитии энцефалитов у человека. Неканонические астровирусы достаточно редко детектируют у пациентов с острой диарейной симптоматикой. Из «канонических», наибольшее распространение у детей имеют 1 и 2 серотипы (генотипы) *MAstV 1*, у лиц старшего возраста – 4-й. Астровирусная инфекция не обладает клиническими особенностями, позволяющими дифференцировать ее от других кишечных инфекций. Вклад астровирусной инфекции в показатели спорадической заболеваемости в

разных регионах земного шара варьирует в широких пределах (4-17%). В нашей стране на основании проведенных пилотных исследований можно утверждать, что астровирусы уступают по распространенности ротавирусам и норовирусам, составляя около 4% случаев госпитализации с ОКИ. Превалирующую распространенность астровирусная инфекция имеет у детей первых лет жизни, в группу риска входят также пожилые люди.

Средняя продолжительность инкубационного периода составляет 4-5 дней. Клинические проявления астровирусной кишечной инфекции сохраняются на протяжении 2-3 дней и несколько чаще, в сравнении с ротавирусной инфекцией, могут включать колитическую симптоматику. Длительность выделения астровирусов после перенесенного заболевания относительно короткая и составляет в среднем около 4 дней. Фекально-оральный механизм передачи астровирусной инфекции наиболее часто реализуется контактно-бытовым путем, алиментарный и водный пути передачи имеют меньшее значение.

Показания к обследованию

- Пациенты с диарейным синдромом неустановленной этиологии.

Этиологическая лабораторная диагностика включает обнаружение АГ и НК вирусов.

Материал для исследований

Нативные образцы фекалий, собранные в первые 72 ч от начала заболевания.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

В настоящее время лабораторная диагностика астровирусной инфекции включает выявление АГ астровирусов в фекалиях методами ИФА и ИХА и обнаружение РНК вирусов методом ПЦР.

Естественное течение астровирусной инфекции характеризуется высокой концентрацией возбудителей в фекалиях в первые трое суток заболевания (средние значения концентрации астровирусов в фекалиях близки к концентрациям ротавирусов). В это время для диагностики инфекции эффективно обнаружение РНК вирусов методом ПЦР и выявление АГ астровирусов в фекалиях методом ИФА. Опыт применения тестов на основе ИХА для детекции АГ астровирусов пока недостаточен для их сравнительной характеристики.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В острую фазу заболевания для диагностики инфекции определяют РНК методом ПЦР либо АГ в фекалиях методом ИФА. На поздних стадиях заболевания предпочтение должно отдаваться более чувствительным ПЦР-исследованиям. Поскольку распространенность астровирусов ниже, чем ротавирусов и норовирусов, наборы реагентов для их выявления являются более дорогостоящими, что делает оправданным использование комбинированных (мультиплексных) наборов, при использовании кото-

рых астровирусы могут быть выявлены параллельно с более распространенными патогенами.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Все перечисленные выше диагностические исследования являются прямыми, интерпретация их результатов не вызывает затруднений. Частота бессимптомного носительства астровирусов достаточно низка и не снижает диагностическую значимость их обнаружения.

Аденовирусная кишечная инфекция

Аденовирусные инфекции у человека отличаются разнообразием клинической симптоматики и ассоциированы с семью видами аденовирусов человека (Human mastadenovirus A-G), которые объединяют более 50 серотипов. С симптоматикой ОКИ в настоящее время доказательно ассоциированы только аденовирусы видов (групп) F и G (40, 41 и 52 типы), но в связи с крайне низкой распространенностью аденовирусов 52 типа, диагностика кишечных аденовирусных инфекций обычно ограничивается выявлением 40 и 41 типов аденовирусов. У лиц с острыми респираторными заболеваниями, а часто и клинически здоровых лиц, в образцах фекалий закономерно обнаруживаются аденовирусы других типов, не имеющих связи с патологией ЖКТ. Аденовирусная инфекция не обладает клиническими особенностями, позволяющими дифференцировать ее от других кишечных инфекций. В нашей стране на основании анализа первичных данных лабораторных исследований аденовирусы группы F занимают 3 место по распространенности среди вирусных агентов, вызывающих ОКИ, уступая лишь норовирусам и ротавирусам. Несмотря на достаточно высокую распространенность, групповые случаи заболеваний при кишечной аденовирусной инфекции достаточно редки.

Наряду с фекально-оральным механизмом передачи, реализуемым контактно-бытовым и алиментарным путями, при кишечной аденовирусной инфекции возможна аэрогенная передача возбудителя. Аденовирусы группы F характеризуются очень высокими концентрациями в образцах фекалий в острый период заболевания.

Показания к обследованию

- Пациенты со спорадическими или групповыми случаями ОКИ на этапе расширенного обследования.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление АГ и НК аденовирусов в фекалиях.

Материал для исследований

Нативные образцы фекалий, собранные в первые 72 ч от начала заболевания.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Для выявления АГ аденовирусов в фекалиях используют методы ИФА и ИХА. Основным фактором, ограничивающим использование выявления АГ аденовирусов в фекалиях, является их недостаточная специфичность в отношении аденовирусов группы F. Применение таких исследований можно рекомендовать лишь при анализе групповых случаев заболеваний.

При выявлении НК аденовирусов в фекалиях более информативным является применение тестов, позволяющих селективно выявлять аденовирусы группы F (40 и 41 типы), что позволяет избежать гипердиагностики ОКИ аденовирусной этиологии.

Показания к применению различных лабораторных исследований

При анализе спорадических случаев ОКИ рекомендовано выявление НК методом ПЦР для дифференцированного выявления аденовирусов группы F. При диагностике групповых случаев заболеваний может успешно применяться также и выявление АГ аденовирусов в фекалиях. При обследовании лиц на поздних сроках заболевания предпочтительнее применение ПЦР тестов.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Хотя интерпретация результатов выявления НК вируса методом ПЦР, обеспечивающих дифференцировку 40 и 41 типов аденовирусов, обычно не вызывает затруднений, необходимо помнить, что выявление низких концентраций ДНК аденовирусов в фекалиях в острый период болезни не является типичным и должно рассматриваться как показание к продолжению диагностического поиска. Высокая частота бессимптомного носительства аденовирусов других групп существенно снижает диагностическую значимость выявления АГ методом ИФА, т.к. в результате исследования происходит обнаружение АГ аденовирусов не только группы F (40 и 41 типов).

Энтеровирусная инфекция

Род *Enterovirus* по современным представлениям объединяет 12 видов энтеровирусов (*Enterovirus A-L*) и 3 вида риновирусов (*Rhinovirus A-C*). Четыре вида энтеровирусов (A-D), способные вызывать заболевания у человека и приматов, объединяют более чем 110 генотипов. Энтеровирусная инфекция широко распространена во всех регионах мира. У человека энтеровирусная инфекция может протекать бессимптомно или сопровождаться широким спектром клинических проявлений: от легкого недомогания или диарейного синдрома до развития тяжелых заболеваний, таких как серозный менингит, паралич, миокардит, энтеровирусный сепсис новорожденных. Более 90% случаев заболеваний серозным менингитом имеют энтеровирусную этиологию. Энтеровирусы одного серотипа могут быть связаны с различными клиническими проявлениями, но в то же

время энтеровирусы разных серотипов могут вызывать схожую симптоматику заболевания. Наиболее подвержены заболеванию дети младшего возраста. Сезонный подъем заболеваемости в РФ – летне-осенний период. Циркуляция энтеровирусов может сопровождаться развитием вспышек заболевания. Диагностика энтеровирусной инфекции требует комплексной оценки клинической симптоматики заболевания, результатов лабораторных исследований и эпидемиологических данных.

К энтеровирусам относятся и вирусы полиомиелита (полиовирусы), мониторинг циркуляции которых жестко регламентирован в связи с проводимой ВОЗ Программой глобальной ликвидации полиомиелита. Острый полиомиелит характеризуется разнообразием клинических форм – от абортивных до паралитических. Паралитические формы с развитием вялых и периферических парезов и/или параличей возникают при поражении серого вещества, расположенного в передних рогах спинного мозга и двигательных ядрах черепно-мозговых нервов. Благодаря интенсивной иммунизации против полиомиелита циркуляция вирусов дикого типа прекращена в большинстве стран. Исключениями из них продолжают оставаться Пакистан, Афганистан и Нигерия. В 2002 г. Европейский регион, включая РФ, сертифицирован ВОЗ как свободный от вирусов полиомиелита дикого типа. Однако в рамках Программы во всех странах осуществляется эпидемиологический надзор за паралитическим полиомиелитом, а также за клинически схожим синдромом острого вялого паралича (надзор за ПОЛИО/ОВП). В случае выявления больного с подозрением на ПОЛИО/ОВП медицинские работники организаций и частнопрактикующие медицинские работники обязаны руководствоваться действующей нормативно-методической документацией СП 3.1.2951-11.

Показания к обследованию

- Наличие одного или нескольких клинических синдромов: менингеальные симптомы, очаговая неврологическая симптоматика, сепсис новорожденных небактериальной природы, ящуроподобный синдром (экзантема полости рта и конечностей), герпангина, афтозный стоматит, миокардит, геморрагический конъюнктивит, увеит, миалгия;
- возникновение групповой заболеваемости в детском организованном коллективе при наличии таких синдромов, как респираторный, гастроэнтерит, экзантема и другие;
- эпидемиологические показания.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение энтеровируса в культуре клеток с последующей идентификацией, выявление РНК вируса.

Материал для исследований

Выбор информативного для исследований типа биологического материала определяется доминирующим синдромом и может включать как

«стерильные», так и «нестерильные» его типы:

- стерильные типы: СМЖ (при наличии клинических показаний для проведения люмбальной пункции), отделяемое конъюнктивы, мазок отделяемого везикул, биоптаты органов;
- нестерильные типы: мазок (смыв) из ротоглотки/носоглотки, мазок отделяемого язв при герпангине, образцы фекалий.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Выделение изолята вируса из биологического материала позволяет с наибольшей информативностью изучать его свойства. Для идентификации (определения серотипа) выделенного энтеровируса с целью изучения эпидемиологических аспектов инфекции используют иммунологический метод нейтрализации с помощью типоспецифических диагностических сывороток. Культуральные исследования, характеризующиеся высокой трудоемкостью, в настоящее время применяются преимущественно в научно-исследовательских целях. Применение типоспецифических диагностических сывороток для решения задач внутривидовой и внутритиповой дифференцировки энтеровирусов активно заменяется методиками генотипирования. Обнаружение РНК вируса методом ПЦР является более быстрым и доступным для практики подходом. Применение ПЦР также позволяет обнаружить РНК энтеровирусов, плохо размножающихся в культуре клеток.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Выявление РНК вируса методом ПЦР предпочтительно при обследовании пациентов для лабораторной диагностики энтеровирусных заболеваний.

Выделение вируса в культуре клеток показано при реализации программ эпидемиологического мониторинга циркулирующих изолятов энтеровирусов. В последние годы получают все более широкое распространение методы генетического типирования энтеровирусов. Такие исследования проводятся в ограниченном числе референтных лабораторий и применяются в основном для решения задач эпидемиологического мониторинга.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Обнаружение энтеровирусов или их РНК в стерильных типах биологического материала (СМЖ, отделяемое везикул) имеет высокую диагностическую значимость. Выявление энтеровирусов или их РНК в нестерильных типах биологического материала (фекалии, респираторные мазки) часто не имеет этиологической связи с диагностируемым заболеванием в связи с высоким уровнем их бессимптомного носительства в популяции.

Недопустимо подтверждение или исключение диагноза энтеровирусной инфекции, сопровождающейся любой неврологической симптоматикой, на основании результатов исследования нестерильных типов биологического материала. Для установления энтеровирусной инфекции с менингеальной симптоматикой должны учитываться только результаты исследования СМЖ.

При наличии специфической для некоторых форм энтеровирусной ин-

фекции симптоматики (ящуроподобное заболевание, острый геморрагический конъюнктивит, увеит и др.) интерпретация результатов исследования нестерильных типов биологического материала должна проводиться с учетом эпидемиологических и клинических данных.

Выявление энтеровирусов или их РНК в образцах фекалий и материале из рото/носоглотки у пациентов со sporadic заболеваемостью не может служить основанием для подтверждения этиологии не только серозных менингитов, но и заболеваний верхних дыхательных путей, диарейных инфекций и лихорадочных заболеваний неясной этиологии, вследствие высокой частоты транзитного носительства энтеровирусов в популяции.

Выявление энтеровирусов или их РНК в нестерильных типах биологического материала может служить подтверждением энтеровирусной инфекции при проведении исследований в очаге групповой заболеваемости при наличии у пациента характерной клинической картины заболевания.

Острые кишечные инфекции бактериальной этиологии

Сальмонеллезы

Под сальмонеллезами принято подразумевать заболевания, вызываемые комплексом сальмонелл, за исключением возбудителей брюшного тифа и паратифов. Род *Salmonella* (сем. *Enterobacteriaceae*), включает два вида (*S. enterica* и *S. bongori*). Вид *S. enterica* объединяет шесть подвидов и более 2600 серотипов. Антигенная классификация сальмонелл отражена в схеме Кауфмана-Уайта. Сальмонеллы имеют широкое распространение в природе как среди теплокровных животных (*S. enterica*), так и хладнокровных (преимущественно *S. bongori*). В соответствии с утвержденными в 2007 г. правилами обозначения серотипов сальмонелл, название серотипа принято писать с заглавной буквы. Только часть штаммов сальмонелл способна преодолевать барьер гостальной специфичности и вызывать патологию человека. Около 80% заболеваний у человека в настоящее время связано с тремя сероварами: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* и *S. Infantis*. Сальмонеллезы характеризуются значительным полиморфизмом клинического течения с преимущественным поражением ЖКТ, возможной генерализацией и различной степенью выраженности симптомов общей интоксикации и обезвоживания.

Основным источником сальмонеллезов в настоящее время является домашняя птица, а фактором передачи – продукция птицеводства (преимущественно яйца и мясо кур, в меньшей степени индеек, свинина, молоко). Значительно реже источником заражения может являться человек, занятый обработкой и приготовлением готовых блюд. Сальмонеллы гарантировано инактивируются при термической обработке (70 °С – 10 мин) контаминированных полуфабрикатов, поэтому развитие заболеваний об-

условлено, как правило, нарушениями при их транспортировке (контакт с готовыми к употреблению продуктами) и технологии приготовления (отсутствие или недостаточная термическая обработка).

Показания к обследованию

- Пациенты с острым диарейным синдромом и явлениями интоксикации.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление культуры патогена, обнаружение АГ и ДНК сальмонелл, определение специфических АТ к АГ возбудителя.

Материал для исследований

- Фекалии – культуральные исследования, ДНК и АГ сальмонелл;
- кровь, желчь (дуоденальное содержимое) – культуральные исследования, ДНК сальмонелл;
- сыворотка крови – выявления АТ к АГ сальмонелл.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

«Золотым стандартом» в диагностике сальмонеллезов является выявление чистой культуры патогена при последовательном использовании неселективной и двух жидких селективных сред обогащения перед высевом на плотные дифференциально-диагностические среды. В последние годы в международную практику вошел метод выявления подвижных сальмонелл, при которых две селективные среды заменены на полужидкий РВС агар с новобиоцином (т.н. «горизонтальный» метод выявления сальмонелл), применение которого позволяет более эффективно проводить исследование продуктов питания. Обязательным этапом исследований является биохимическая идентификация родовой принадлежности и установление серотипа изолята в реакциях агглютинации (МУ 4.2.2723-10). Средняя длительность исследования составляет 3-4 дня.

Выявление ДНК методом ПЦР являются наиболее оперативным методом прямой детекции микроорганизмов данного рода. Информативность исследований достаточна для диагностики сальмонеллезов в клинической практике, однако не решает эпидемиологических задач – серотипирования патогенов. Наборы реагентов, предназначенные для детекции НК *Salmonella spp.*, наряду с нетифоидными сальмонеллами выявляют возбудителей тифа и паратифов.

Для выявления АГ сальмонелл преимущественно используют наборы реагентов, сочетающих этап селективного культурального обогащения и метод ИХА для детекции патогена. Длительность этапа селективного обогащения не позволяет относить их к классическим экспресс-тестам.

Выявление специфических АТ (в отечественной практике наиболее часто применяют метод РПГА) обладает ограниченной информативностью вследствие трудности определения условно-диагностического титра и используется в формате исследования «парных сывороток», чаще – при неинформативности культурального метода. Этот вид исследований яв-

ляется ретроспективным, его преимущество – возможность диагностики на поздних сроках заболевания и после проведения антибиотикотерапии.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В острой фазе заболевания целесообразно применение прямых методов лабораторной диагностики – выявление культуры микроорганизма и его ДНК. При целенаправленном обследовании пациентов для диагностики сальмонеллеза предпочтение должно отдаваться классическим методам выделения микроорганизма (культуральные исследования с последующей биохимической идентификацией и серотипированием). При необходимости проведения исследований в короткий промежуток времени, а также при организации скринингового обследования для выявления широкого спектра патогенов целесообразна детекция ДНК микроорганизма. Определение специфических АТ показано на поздних сроках заболевания.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Результаты, полученные при применении прямых способов лабораторной диагностики (выявление сальмонелл, их АГ или ДНК в биологическом материале) являются лабораторным подтверждением этиологии заболевания.

При интерпретации результатов выявления АТ следует учитывать вариабельность так называемого условно-диагностического титра, возможность длительного сохранения высокого уровня АТ после перенесенного заболевания и недостаточную специфичность метода РНГА, дающего нередко ложноположительные результаты.

Шигеллез

Шигеллез (бактериальная дизентерия) – антропонозное заболевание, возбудителями которого являются микроорганизмы рода шигелл (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei*) семейства *Enterobacteriaceae*. Клинической особенностью шигеллеза является наличие у части заболевших классических форм поражения толстого кишечника в виде гемоколита со скудным стулом и ложными позывами на дефекацию. Следует отметить, что подобные классические формы течения шигеллеза и энтероинвазивного эшерихиоза наблюдаются у меньшей части пострадавших, у основной массы заболевших бактериальная дизентерия может протекать с симптоматикой, не позволяющей дифференцировать ее от других бактериальных ОКИ.

Показания к обследованию

- Пациенты с симптоматикой ОКИ на этапе установления диагноза и для оценки эффекта проведенной антибактериальной терапии;
- контактные лица в очаге шигеллеза по эпидемиологическим показаниям;
- работники декретированных профессий, производств и организаций (предприятий пищевой промышленности, общественного питания, торговли и др.) при поступлении на работу и по эпидемиологическим показаниям;

- оформление на стационарное лечение и другие учреждения с круглосуточным пребыванием.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление чистой культуры шигелл с последующей идентификацией по биохимическим и антигенным характеристикам, обнаружение ДНК патогена, выявление специфических АТ к шигеллам.

Материал для исследований

- Образцы фекалий и ректальные мазки, взятые до начала антибактериальной терапии – культуральные исследования, обнаружение ДНК шигелл;
- сыворотка крови – определение специфических АТ к АГ шигелл.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Культуральная диагностика шигеллеза обеспечивает высокую аналитическую чувствительность исследования и дает возможность дополнительной характеристики штаммов (определение чувствительности к антибактериальным препаратам, определение эпидемиологических маркеров штаммов и др.).

Согласно статистическим данным, примерно в четверти случаев клинический диагноз бактериальной дизентерии (шигеллез) не имеет лабораторного подтверждения. Причинами получения отрицательных результатов культурального исследования являются не только сложности культивирования шигелл, но и тот факт, что являясь факультативными внутриклеточными микроорганизмами, шигеллы могут проникать из клетки в клетку слизистой кишечника, минуя просвет кишечника, и отсутствовать в конкретном образце испражнений. Кроме того, клинически сходное с дизентерией заболевание могут вызывать энтероинвазивные *E. coli* (см. Эшерихиозы).

Выявление ДНК микроорганизма с использованием ПЦР, как и культуральное исследование, информативно в острой фазе заболеваний. Преимуществом таких исследований является наиболее полное выявление возбудителей шигеллезозов, а также ЕIES, информативность их применения у пациентов с предшествовавшей обследованию антибактериальной терапией и высокая оперативность получения результатов исследования. Недостатками ПЦР-исследований является невозможность видовой идентификации возбудителя и определения чувствительности к антибиотикам. Наборы реагентов для выявления ДНК методом ПЦР ориентированы на обнаружение ключевых факторов вирулентности, присущих шигеллам и энтероинвазивным *E. coli*, и выявляют комплекс данных возбудителей без их дифференцировки.

Определение специфических АТ применяют на поздних стадиях заболевания при отрицательных результатах культуральных исследований и обнаружения ДНК. Выявление АТ к шигеллам (методы РПГА) требует исследования в формате «парных сывороток» с определением кратности нарастания уровня АТ суммарных и АТ IgG. Исследование однократно взятых проб крови малоинформативно в связи с возможностью длительного

сохранения анамнестических титров АТ.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В качестве инструмента для скрининговых исследований, а также при проведении обследования после начала приема антибактериальных препаратов целесообразно выявление ДНК патогена методом ПЦР. При необходимости определения антибиотикочувствительности, а также видовой и антигенной характеристики изолятов, оправдано проведение культуральных методов исследования. Перспективным является сочетанный подход с использованием скринингового исследования в формате мультиплексной ПЦР и культурального исследования положительных образцов, при котором особое внимание необходимо уделять дифференциации шигелл и выявлению ЕИЕС (см. «Эшерихиозы»).

Применение косвенных методов лабораторной диагностики – выявления АТ – можно рекомендовать в основном для обследования лиц в начале заболевания при наличии возможности исследования «парных сывороток», на поздних стадиях заболевания для ретроспективной диагностики и в случаях сочетанного выявления шигелл с другими патогенами, для оценки их роли в развитии клинической симптоматики.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

При выявлении изолятов *Shigella spp.* в ходе культурального исследования интерпретация результатов не вызывает затруднений.

При положительных результатах выявления ДНК патогена гарантировано детектируется весь комплекс *Shigella spp.* и ЕИЕС, но не решается задача их дифференцировки.

Результаты выявления АТ к шигеллам методами РНГА должны учитываться только при наличии диагностически значимого уровня или при нарастании титра при исследовании в формате «парных сывороток».

Кампилобактериозы

Кампилобактериозы – группы зоонозных бактериальных инфекций, вызываемых представителями рода *Campylobacter*. Наибольшее значение для человека имеют термотолерантные (термофильные) виды: *C. jejuni*, *C. coli* и *C. lari*, как правило, приводящие к развитию диарейных заболеваний. В настоящее время во многих странах кампилобактеры являются более частыми бактериальными возбудителями ОКИ, чем сальмонеллы и шигеллы. Заболеваемость кампилобактериозом регистрируется повсеместно как в экономически развитых, так и развивающихся странах в виде спорадических случаев, локальных или крупных вспышек с пищевым и водным путями передачи инфекции. Доминирует пищевой путь передачи, с лидированием мяса бройлеров, как фактора передачи. Это связано с высокими уровнями инфицирования поголовья кур в условиях промышленного птицеводства.

Термотолерантные кампилобактеры вызывают инфекции с полиморфной клинической картиной, что делает невозможным постановку диагноза без проведения лабораторных исследований. В подавляющем большинстве случаев заболевание протекает в легкой или среднетяжелой форме и заканчивается полным выздоровлением. В некоторых случаях возможно развитие осложнений:

- кишечных (нарушение нормального функционирования кишечной микрофлоры),
- внекишечных (генерализация процесса),
- осложнения, обусловленные иммунопатологическими реакциями.

Наиболее грозным осложнением является синдром Гийена-Барре (Guillain-Barré syndrome) – тяжелый восходящий паралич, обусловленный аутоиммунным разрушением миелиновых оболочек нервных стволов. Он связан с антигенной близостью поверхностных структур штаммов *C. jejuni* некоторых сероваров и оболочек шванновских клеток.

Показания к обследованию

- Пациенты с острым диарейным синдромом и явлениями интоксикации; особенно при наличии проявлений колита или гемоколита
- работники неблагополучных по кампилобактериозу животноводческих и птицеводческих хозяйств с симптомами ОКИ;
- пациенты с ОКИ, имеющие эпидемиологические связи с зарегистрированным очагом кампилобактериоза.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное выявление кампилобактеров с использованием микроскопии, выделение чистой культуры кампилобактеров и определение видовой принадлежности, обнаружение ДНК и АГ кампилобактеров.

Материал для исследований

Пробы нативных фекалий, фекальные и ректальные пробы, взятые тампоном (при наличии рекомендаций производителя наборов) – микроскопические исследования, культуральные исследования, обнаружение ДНК и АГ кампилобактеров.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Микроскопические исследования для обнаружения кампилобактеров не имеют широкого применения, тем не менее, особенности морфологии кампилобактеров позволяют с высокой достоверностью провести идентификацию микроорганизма до рода, но только в случае высокой концентрации бактерий в исследуемом образце биоматериала (мазке испражнений). Микроскопия эффективна для обнаружения микроорганизма при гемоколите, при среднетяжелом, легком течении и в период реконвалесценции заболевания микроскопия неэффективна.

Основным методом выявления кампилобактеров является классический бактериологический: выделение чистой культуры возбудителя с по-

следующей идентификацией, однако его недостатком является длительность инкубации (до 72 ч.) и высокая цена селективных питательных сред. При выделении чистой культуры кампилобактерий из биологического материала культивирование проводится в микроаэрофильных условиях (анаэробостаты + газогенерирующие пакеты или газовая смесь в баллонах) с последующим определением видовой принадлежности.

Появление в медицинских лабораториях технологии MALDI-ToF MS делает возможной идентификацию выделенных культур до вида в течение нескольких минут. Постоянное обновление базы масс-спектров позволяет добиться не только быстрой, но и надежной идентификации. Метод не нашел пока широкого распространения в практике.

ПЦР-исследования являются высокочувствительными, их применение экономически целесообразно при использовании мультиплексных наборов реагентов, позволяющих быстро проводить комплексную детекцию ДНК широко распространенных энтеропатогенов вирусной и бактериальной природы. Для выявления АГ кампилобактеров в пробах биоматериала доступны наборы реагентов в формате ИФА и ИХА. Выявление АГ кампилобактеров методом ИХА уступает по диагностической чувствительности культуральным исследованиям и ПЦР-диагностике. Выявление АГ к АГ патогена в отечественной практике для лабораторной диагностики данной инфекции не используется.

Определение чувствительности штаммов *C. jejuni* и *C. coli* к антимикробным препаратам осуществляют диско-диффузионным методом или методами определения МПК (минимальная подавляющая концентрация) в соответствии с российскими Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» и рекомендациями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). В настоящее время критерии интерпретации результатов есть только для трех антибиотиков: ципрофлоксацина, эритромицина (интерпретация распространяется на азитромицин и кларитромицин) и тетрациклина (интерпретация распространяется на доксициклин). Для других видов кампилобактеров (*C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. fetus*) методы и критерии оценки чувствительности к антимикробным препаратам не разработаны.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В острой фазе заболевания до назначения антибактериальной терапии можно применять культуральное исследование. Выявление ДНК методом ПЦР и АГ методом ИХА можно применять на всех этапах болезни, последнее имеет меньшую чувствительность.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление чистой культуры или ДНК термофильных кампилобактерий в исследуемом материале и идентификация видовой принадлежности штаммов кампилобактеров к возбудителям болезни человека имеет высо-

кую диагностическую ценность и служит основанием для лабораторного подтверждения этиологии заболевания.

Эшерихиозы

Диареегенные *E. coli* (DEC), вызывающие ОКИ, в зависимости от патогенеза, эпидемиологии и клинических проявлений вызываемых ими заболеваний, подразделяются на несколько патогенетических типов (патотипов), входят в перечень инфекционных и паразитарных болезней, имеющих эпидемиологическое значение, подлежащих регистрации и учету, согласно МКБ 10 (A04.0 – A04.4). Классическими патотипами DEC являются: энтеропатогенные *E. coli* (EPEC), энтеротоксигенные *E. coli* (ETEC), энтерогеморрагические (шигатоксин или веротоксин продуцирующие) *E. coli* (EHEC), энтероинвазивные *E. coli* (EIEC) и энтероаггративные *E. coli* (EAgEC). Также были описаны диффузно-адгезивные *E. coli* (DAEC), однако по мнению ряда исследователей, выделение их в отдельный патотип требует дополнительных экспериментальных доказательств. Благодаря активному и постоянному обмену генетической информацией возможно естественное появление штаммов, обладающих наборами факторов вирулентности, характерными для разных патотипов. Ярким примером является гибридная группа шигатоксин (ST) продуцирующих энтероаггративных *E. coli* (STEAEC), вызвавшая крупную вспышку эшерихиоза (возбудитель *E. coli* O104:H4) в Германии в 2011 г. Перечисленные выше группы *E. coli* различаются по ключевым механизмам патогенеза и наличию специфических факторов вирулентности.

Наряду с этим, эволюционная близость *Escherichia coli* с микроорганизмами рода *Shigella* объясняет общность некоторых генетических детерминант вирулентности между EIEC и *Shigella spp.* (комплекс плазмидных факторов вирулентности), EHEC и *Shigella dysenteriae* I типа (шигалоподобные токсины) и др., что необходимо учитывать для достоверной интерпретации полученных результатов исследований.

Показания к обследованию

- Пациенты с симптоматикой ОКИ на этапе установления диагноза и для оценки эффекта проведенной терапии;
- контактные лица в очаге эшерихиоза по эпидемиологическим показаниям;
- работники декретированных профессий, производств и организаций (предприятия пищевой промышленности, общественного питания, торговли и др.) при поступлении на работу и по эпидемиологическим показаниям;
- оформление на стационарное лечение и другие учреждения с круглосуточным пребыванием.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление чистой культуры DEC с последующей идентификацией по биохимическим и антигенным характеристикам, обнаружение ДНК и АГ патогена.

Материал для исследований

- Образцы фекалий и ректальные мазки, взятые до начала антибактериальной терапии – культуральные исследования, выявление АГ, обнаружение ДНК диареогенных *E. coli*.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Лабораторная идентификация эшерихиозов осложнена необходимостью верификации специфических патотипов возбудителя в материале, постоянно содержащем большое количество авирулентных *E. coli*. Эффективное решение этой задачи, как правило, требует комбинации нескольких диагностических методов. Их спектр включает выявление специфических генетических маркеров (ДНК) различных патотипов как в биологическом материале, так и при исследовании чистых культур *E. coli*; детекция специфических метаболитов или антигенных детерминант, ассоциированных с определенными патотипами *E. coli* (наиболее часто – ЕНЕС).

Исторически сложившимся и традиционным для лабораторий микробиологического профиля подходом для диагностики ДЕС являются культуральные исследования, включающие посев исследуемого материала на плотные питательные среды с выделением чистых культур микроорганизмов и проведение их видовой и серотиповой идентификации. Исследование отличается специфичностью, обусловленной непосредственным выделением и идентификацией *E. coli*, включая чувствительность к антибактериальным препаратам. Однако практическая ценность его является очень низкой по двум причинам. Во-первых, по причине постоянного наличия в образцах фекалий авирулентных *E. coli*, численно преобладающих над ДЕС, и отсутствия культуральных особенностей, позволяющих на этапе изоляции культур дифференцировать ДЕС от *E. coli* – представителей нормальной микрофлоры кишечника. Во-вторых, отсутствие корреляции между серотипами и патотипами данных возбудителей. Например, *E. coli* O26:H11 в зависимости от наличия генов вирулентности могут относиться к двум патогруппам ЕРЕС и ЕНЕС.

При работе с клиническими изолятами *E. coli* эффективность их серотипирования остается очень низкой. Лактозонегативность изолятов *E. coli* и наличие у них гемолитической активности не коррелирует с принадлежностью изолята к различным патотипам. Применение ПЦР-диагностики для идентификации патотипов ДЕС позволяет проводить достаточно быстрое исследование образцов биологического материала, но при этом не дает информации о количестве и специфических особенностях изолята. Применительно к ЕНЕС, широкое применение нашли тесты на основе ИФА и ИХА, предназначенные для выявления АГ O157:H7 и/или шигаподобных токсинов, в некоторых случаях они требуют предварительного культурального обогащения образца. Наиболее высокой информативностью обладают комплексные исследования, в ходе которых используется комбинированное применение нескольких из описанных методов.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В качестве скринингового метода исследования биологического материала для выявления нескольких групп ДЕС наиболее оправдано применение ПЦР-диагностики с индикацией генетических мишеней конкретных патотипов. Для выявления ЕНЕС скрининговым методом может являться выявление шигаподобных токсинов методами ИФА или ИХА. При этом следует отметить, что использование аналогичных тестов для обнаружения АГ O157 может привести к существенному недовыявлению ЕНЕС за счет шигатоксин-продуцирующих штаммов других серотипов. Применение культурального метода в качестве скринингового целесообразно только при диагностике заболеваний, ассоциированных с сорбитол-негативными штаммами O157:H7. В остальных случаях использование культурального исследования оправдано при необходимости специфической характеристики штаммов *E. coli* (проведение субвидового типирования, оценка антибиотикорезистентности, характеристика антигенных свойств при подтвержденной принадлежности к конкретному патотипу).

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Прямыми критериями отнесения *E. coli* к патогенетическим группам являются ключевые факторы вирулентности, наиболее охарактеризованные из которых представлены ниже.

Для ЕНЕС – продукция шигаподобных токсинов (веротоксинов) 1 и/или 2 типа, в сочетании с наличием фактора адгезии – интимина, кодируемого геном *eae* или без него; ЕТЕС – продукция термостабильного (ST) и/или термолabileного (LT) токсинов; ЕРЕС – наличие так называемого А/Е (attaching and effacing) эффекта, обеспечиваемого белком интимином (*eae* – ген) при отсутствии генов шигаподобных токсинов; ЕІЕС – наличие плазмидных генов факторов вирулентности (*inv, ipa*); ЕАгЕС – наличие плазмидных генов факторов вирулентности *aggR, aspU*; ДАЕС – наличие афимбриального фактора адгезии (*afa* – ген) и фактора диффузной адгезии (*daa* – ген).

Схема основных генетических детерминант вирулентности патогенетических групп ДЕС представлена в таблице 11.

Таблица 11

Схема основных генетических детерминант вирулентности патогенетических групп диареегенных *E. coli*

	LT и/или ST	<i>eae</i> (интимин)	Stx1 и/или stx2	<i>aggR, aspU</i>	<i>inv, ipa</i>	<i>afa, daa</i>
ЕТЕС	+	-	-	-	-	-
ЕРЕС	-	+	-	-	-	-
ЕНЕС	-	+/-	+	-	-	-
ЕІЕС	-	-	-	-	+	-
ЕАЕС	-	-	-	+	-	-
ДАЕС	-	-	-	-	-	+
СТЕАЕС	-	-	+	+	-	-

Для правильной интерпретации результатов исследований важно пом-

нить, что комбинация нескольких мишеней, выявленная в биологическом материале пациента, может свидетельствовать как о наличии смеси изолятов, обладающих специфическими генами-маркерами, так и о возможной представленности данных генетических мишеней в геноме одного патогена. Наиболее типичным для представленных детерминант является сочетание в геноме интимина (*eae*) и шигаподобных токсинов (*stx1/2*), которое должно интерпретироваться как выявление *eae* «+» ЕНЕС.

Брюшной тиф и паратифы

Брюшной тиф и паратифы А, В и С являются антропонозными кишечными инфекциями, вызываемые бактериями рода *Salmonella* (брюшной тиф – *Salmonella Typhi*, паратиф А – *Salmonella Paratyphi A*, паратиф В – *Salmonella Paratyphi B*, паратиф С – *Salmonella Paratyphi C*). Возбудители относятся к роду *Salmonella* вид *enterica* подвид *enterica* и характеризуются следующими антигенными комплексами: возбудитель брюшного тифа – серовар *S. Typhi* (O 9, 12 (vi); H d); возбудитель паратифа А – серовар *S. Paratyphi A* (1,2,12:a:1,5), возбудитель паратифа В – серовар *S. Paratyphi B* (1,4,5,12:b:1,2), возбудитель паратифа С – серовар *S. Paratyphi C* (6,7,Vi:c:1,5).

В настоящее время чаще регистрируется брюшной тиф, редко – паратиф В и крайне редко – паратиф А и паратиф С. Брюшной тиф характеризуется циклическим клиническим течением с выраженной интоксикацией, бактериемией, лихорадкой, язвенным поражением лимфатической системы тонкой кишки, розеолезной сыпью на кожных покровах туловища, гепато- и спленомегалией. Изъязвление пейеровых бляшек подвздошной кишки в 1% случаев приводит к кишечному кровотечению и прободению кишечника с самыми неблагоприятными последствиями для больного. Частота рецидивов при брюшном тифе может достигать 10-15% и несколько реже отмечается при паратифах. Паратифы имеют менее выраженную клинику, но заболевания всегда начинаются с лихорадки с последующим развитием диарейного синдрома. Современной особенностью эпидемиологии брюшного тифа является резкое увеличение частоты заноса инфекции с территорий, эндемичных по брюшному тифу, из стран Юго-Восточной Азии. При наблюдаемых в течение последних лет глобальной интенсивной трудовой миграции и росте популярности международного туризма, в том числе в страны с высоким уровнем заболеваемости брюшным тифом, в любой момент может произойти «завоз» инфекции в РФ и развитие групповых заболеваний брюшного тифа. За последние 10 лет был отмечен «завоз» брюшного тифа трудовыми мигрантами и туристами на территорию России из 13 стран. У части переболевших может сформироваться хроническое бактерионосительство, они могут стать пожизненными источниками возбудителя, причем с высоким уровнем эпидемиологической опасности.

Показания к обследованию

- Подозрение на тифо-паратифозное заболевание;
- лихорадка неясного генеза, продолжающаяся 5 и более дней;
- оформление на стационарное лечение, включая психоневрологического (психосоматического) профиля, в дома престарелых, интернаты для лиц с хроническими психическими заболеваниями и поражениями ЦНС, другие типы закрытых учреждений с круглосуточным пребыванием;
- работники декретированных профессий, производств и организаций (предприятия пищевой промышленности, общественного питания, торговли и др.) при поступлении на работу и по эпидемиологическим показаниям;
- лица, контактировавшие с заболевшими в очагах брюшного тифа и паратифов А, В, С, по эпидемиологическим показаниям, включая декретированные контингенты населения;
- реконвалесценты, переболевшие брюшным тифом и паратифами А, В, С, при выписке из стационара и в период диспансерного наблюдения;
- хронические бактерионосители, выявленные среди работников отдельных профессий, производств и организаций, при повторном поступлении на работу на указанные предприятия и объекты;
- секционный материал при подозрении на заболевание брюшным тифом и паратифами.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение чистой культуры патогена из биологического материала и его идентификацию по культурально-ферментативным и антигенным свойствам, выявление ДНК и АГ возбудителя, определение специфических АТ.

Материал для исследований

- Фекалии – культуральные исследования, выявление ДНК и АГ сальмонелл;
- кровь, моча, желчь (дуоденальное содержимое); соскобы кожных высыпаний (розеол), костный мозг, грудное молоко – культуральные исследования, выявление ДНК сальмонелл;
- сыворотка крови – выявление АТ к АГ сальмонелл групп А, В, С, Д и Vi-антигену.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Культуральное исследование имеет приоритетное значение, т.к. в этом случае удастся получить наиболее полную информацию о биологических свойствах возбудителя, включая чувствительность к антибактериальным препаратам. Исследование биологического материала включает выделение чистой культуры и идентификацию микроорганизма по ферментативным и антигенным свойствам. Клиническое течение инфекционного процесса не всегда позволяет различить брюшной тиф и паратифы, поэтому единственным способом их дифференциальной диагностики является культуральное исследование проб биоматериала с выделением чистой культуры

возбудителя и идентификация его до уровня серологического варианта.

Мультиплексную ПЦР используют для скрининга при диагностике диарейных заболеваний бактериальной и вирусной этиологии. В настоящее время широко представлены наборы для выявления в биологическом материале ДНК сальмонелл (родовая идентификация) без дифференциации на серологические группы и серологические варианты, а также отдельно – ДНК возбудителя брюшного тифа. Наборы реагентов для выявления ДНК возбудителей паратифов пока практически недоступны.

Наборы реагентов для выявления АГ возбудителя с использованием методов ИХА и ИФА позволяют достоверно определить только родовую принадлежность микроорганизмов (род *Salmonella*), т.е не обладает необходимой специфичностью для обнаружения возбудителей брюшного тифа и паратифов.

Выявление АТ носит вспомогательный, ретроспективный характер, специфические АТ IgG появляются на 4-5 день заболевания. В отечественной практике применяют метод РПГА с эритроцитарными диагностикумами для выявления АТ к сальмонеллам серологических групп А, В, С, D, Е. Определение АТ к Vi-антигену возбудителя брюшного тифа является скрининговым тестом для выявления состояния хронического бактерионосительства. Дифференцировать брюшной тиф, паратифы и сальмонеллезы, вызванные другими сероварами, по уровню АТ к О-антигенам сальмонелл в сыворотке крови не представляется возможным, так как названные АТ являются группоспецифическими.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В острой фазе заболевания при лихорадке целесообразно проводить культуральное исследование или обнаружение ДНК в образцах крови, при появлении симптомов ОКИ (диареи) – в образцах фекалий и мочи; можно исследовать соскобы с розеол. Исследование желчи в период реконвалесценции позволяет выявить формирование хронического бактерионосительства; при летальных исходах исследуют пробы печени, селезенки, содержимое кишечника, костный мозг. Другие методы, направленные на выявление бактерий рода *Salmonella* без дифференциации на серологические группы и серологические варианты, не могут использоваться для идентификации возбудителей тифо-паратифозных заболеваний.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выделение чистой культуры возбудителей из биологического материала имеет высокую диагностическую ценность и служит основанием для лабораторного подтверждения этиологии заболевания.

При интерпретации результатов определения АТ методом РПГА для диагностики тифо-паратифов, так же как при диагностике других сальмонеллезов, следует учитывать вариабельность так называемого условно-диагностического уровня АТ, возможность длительного сохранения высокого уровня АТ после перенесенного заболевания, а также недостаточную спец-

ифичность метода РПГА, нередко дающего ложноположительные результаты. Низкая диагностическая ценность таких исследований для диагностики брюшного тифа и паратифов обусловлена тем, что выявленные АТ не являются специфическими для возбудителей тифо-паратифов (за исключением паратифа А), а характеризуют ответ на широкий спектр сероваров сальмонелл, входящих в серологические группы В, С, D и Е, соответственно.

Интерпретация результатов ПЦР-исследований должна учитывать дизайн тестов и проводиться в строгом соответствии с рекомендациями производителей. При выявлении *S. Typhi* на основании комбинаций генетических мишеней (например генов Vi антигена и H1 фазы d жгутикового антигена) невозможна дифференцировка выявления в биологическом материале возбудителя брюшного тифа от возможных случаев сочетаний нескольких серотипов сальмонелл (*S. Paratyphi C*, *S. Dublin c S. Stanley*, *S. Isangi*, *S. Muenchen*, *S. Gaminara*, *S. Utrecht*).

При интерпретации результатов определения чувствительности штаммов *Salmonella* к антимикробным препаратам (АМП), включая возбудителей брюшного тифа и паратифов А, В, С, следует руководствоваться действующими клиническими рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версии 2014, 2015, 2018) и международным рекомендациям EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). В перечисленных документах указаны критерии чувствительности штамма *Salmonella* ко всем фторхинолонам и не приведены критерии чувствительности/устойчивости энтеробактерий к азитромицину.

Инфекции, вызываемые *Cronobacter sakazakii*

Cronobacter sakazakii – представитель семейства *Enterobacteriaceae* (до 2007 г. – *Enterobacter sakazakii*) способен вызывать тяжелейшие инфекции у новорожденных детей, родившихся недоношенными, или в срок, но с малым весом, находящихся на искусственном вскармливании, такие как некротические энтероколиты, менингиты и сепсис. Летальность может достигать 80%. Наиболее грозными осложнениями являются: формирование абсцесса головного мозга, развитие гидроцефалии и резкого отставания в развитии ребенка. Заболевания регистрируются как спорадические случаи, групповые, связанные с контаминацией возбудителем сухих молочных смесей (в которых *C. sakazakii* способен выживать в течение многих лет), внутрибольничные вспышки в отделениях новорожденных. Известна роль *C. sakazakii* как возбудителя раневой гнойно-септической инфекции, связанной с нестерильными медицинскими изделиями. Учитывая хорошую выживаемость *C. sakazakii* в сухих молочных смесях для детей, низкую инфицирующую дозу (1-10 КОЕ/г) и тяжесть заболевания, действующие нормативные документы регламентируют отсутствие *C. sakazakii* в 300 г сухих

смесей, предназначенных для питания детей раннего возраста.

Показания к обследованию

- Дети раннего возраста (недоношенные или родившиеся в срок, но с низкой массой тела) с симптомами поражения желудочно-кишечного тракта (вздутие живота, рвота, энтероколит, перфорация кишечника), сепсиса или менингита, находящиеся на искусственном вскармливании.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение чистых культур микроорганизма, их родовую и видовую идентификацию; выявление ДНК *C.sakazakii*.

Материал для исследований

Нативные образцы фекалий, ректальные смывы, аспираты желудка, кровь, СМЖ – культуральные исследования, выявление ДНК микроорганизма.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

При культуральной диагностике способ посева и перечень питательных сред зависит от вида исследуемого материала. В зависимости от симптоматики исследуют нативные фекалии, ректальные смывы, рвотные массы, аспираты желудочного содержимого; при подозрении на сепсис – кровь, при менингеальных симптомах – СМЖ. Для проб фекалий, ректальных смывов, рвотных масс, аспиратов желудочного содержимого применяют селективные дифференциально-диагностические среды в комплексе с любыми идентификационными тестами для *Enterobacteriaceae*, обеспечивающими необходимый уровень видовой идентификации, позволяющими дифференцировать *C. sakazakii* от других представителей этого рода. Специальные питательные среды, для выделения *C. sakazakii* из биологического материала, не разработаны

Использование MALDI-TOF MS позволяет провести идентификацию *C. sakazakii* посредством изучения значительного числа выросших на дифференциально-диагностических средах различных колоний энтеробактерий, и что делает возможной идентификацию выделенных культур в течение нескольких минут.

Учитывая сложность идентификации *C. sakazakii* при проведении культурального исследования по фенотипическим свойствам, целесообразно для определения видовой принадлежности выделенных культур использовать выявление ДНК возбудителя методом ПЦР. Применение МАНК для исследования биологического материала позволяет сократить время исследований.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Лабораторная диагностика возбудителя некротических колитов у детей раннего возраста, вызванных *C. sakazakii*, проводится культуральным методом в комплексе с поиском других патогенных энтеробактерий (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *E. coli*), а также *Clostridium difficile* и других микроорганизмов, способных вызывать колиты и гемоколиты, или методами АНК для выявления ДНК патогена.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление у детей раннего возраста, находящихся на искусственном вскармливании, с характерной клиникой некротического энтероколита или гемоколита, колонизации кишечника *E. sakazakii* в значительном количестве или обнаружение ДНК возбудителя при отсутствии облигатных энтеропатогенов (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *E. coli*) позволяет поставить этиологический диагноз.

Кишечный иерсиниоз и псевдотуберкулез

Кишечный иерсиниоз и псевдотуберкулез – две самостоятельные, имеющие много общих черт зоонозные инфекции с фекально-оральным механизмом передачи. Клинические проявления этих заболеваний полиморфны и включают симптомы поражения ЖКТ в некоторых случаях со склонностью к генерализации инфекции, развитием экзантемы, в отдельных случаях с последующими поражениями опорно-двигательного аппарата.

Возбудители данных заболеваний относятся к роду *Yersinia*, сем. *Enterobacteriaceae*. Вид *Y. enterocolitica* в настоящее время насчитывает 6 биотипов (1А, 1В, 2, 3, 4, 5) и более 70 серотипов, из которых 5 наиболее часто вызывают заболевания у человека. Не все изоляты *Y. enterocolitica*, выделенные из биологического материала, обладают факторами вирулентности и способны вызывать патологию человека. Наиболее известным и важным маркером вирулентности *Y. enterocolitica* является плазида рYV размером 64-75 тыс. п.н. Вид *Y. pseudotuberculosis* включает 21 серотип, объединенных в 5 биоваров. Для изолятов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных из биологического материала, дополнительное определение детерминант вирулентности не является необходимым.

Частым источником вирулентных штаммов *Y. enterocolitica* в Европе являются свиньи, потенциальные резервуары *Y. pseudotuberculosis* могут быть более разнообразными. Для России высоким считается эпидемиологическое значение грызунов как резервуара иерсиниоза, обеспечивающего возможность контаминации растительной продукции на централизованных овощехранилищах. Как и для большинства пищевых зоонозов ведущими факторами передачи иерсиний являются продукты животного происхождения.

Способность возбудителей размножаться при низких температурах объясняет редкие случаи крайне тяжелого течения сепсиса, связанные с использованием донорской крови, взятой у лиц с субклинической бактериемией, в которой происходило селективное накопление *Y. enterocolitica* при ее хранении без замораживания. Характерный для *Y. pseudotuberculosis* мезентериальный лимфаденит часто обуславливает сложности в дифференциальной диагностике с острым аппендицитом. Несмотря на существенное снижение заболеваемости псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом в последние годы, сохраняются территории с эндемично вы-

сокими показателями заболеваемости. Кроме того, эти заболевания продолжают представлять значительную проблему для отдельных изолированных коллективов (воинские части и др.).

Показания к обследованию

- Обследование пациентов с ОКИ при отрицательных результатах выявления более распространенных патогенов;
- пациенты с особенностями клинической симптоматики ОКИ (сочетание ОКИ с катаральной симптоматикой, экзантемой, периферической лимфаденопатией, суставным синдромом);
- первичный скрининг пациентов с ОКИ при наличии эпидемиологических показаний (проживание на эндемичной территории, принадлежность к группе риска).

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение чистой культуры с дальнейшей идентификацией возбудителя, обнаружение ДНК патогенов, выявление специфических АТ.

Материал для исследований

- Образцы фекалий – культуральные исследования, выявление АТ, ДНК;
- сыворотка крови – обнаружение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Наиболее информативным методом лабораторной диагностики кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза является культуральный в сочетании с адекватными методами видовой идентификации возбудителя и, в случае выявления *Y. enterocolitica*, доказательствами наличия у него вирулентных свойств. Антигенная характеристика изолята не может служить прямым доказательством наличия у него вирулентных свойств и его этиологической связи с картиной заболевания.

Выявление ДНК патогенов с использованием ПЦР применяется для скрининговой диагностики иерсиниоза и псевдотуберкулеза в острой фазе заболевания. Тест наиболее адаптирован для скрининговых исследований, что связано с его оперативностью и возможностью детектировать нежизнеспособные на фоне антибиотикотерапии формы микроорганизмов. Обязательным требованием к диагностическим тестам для выявления *Y. enterocolitica*, является возможность определять не только видовую принадлежность изолята, но и гены ключевых факторов вирулентности. При детекции *Y. pseudotuberculosis* – отсутствие перекрестных реакций с близким в филогенетическом плане видом – *Y. pestis*.

Для выявления АТ применяют наборы реагентов с использованием ИФА (в РФ мало распространены), а также РА и РНГА. Исследование проводится с использованием парных сывороток, использование «условно-диагностического» титра является нежелательным.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Для применения прямых методов выявления *Y. enterocolitica* и *Y. pseudo-*

tuberculosis следует использовать образцы фекалий, забранные у пациента в первые 3-5 дней заболевания до начала антибактериальной терапии. При проведении исследований в очагах групповой заболеваемости или решении других эпидемиологических задач целесообразно применение культурального исследования для изоляции штамма микроорганизма и возможностью его последующей характеристики по ферментативным и антигенным свойствам. Необходимость подтверждения вирулентных свойств выделенных изолятов *Y. enterocolitica*, требует применения дополнительных тестов.

Детекция ДНК возбудителей методом ПЦР оправдана при решении задач диагностики, обследовании пациентов на фоне антибиотикотерапии или в качестве скринингового этапа исследования.

Определение АТ к указанным возбудителям целесообразно при неинформативности результатов прямых методов выявления патогенов. Рекомендовано исследование образцов крови, взятых в динамике (конец первой недели и начало третьей недели заболевания).

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Факт обнаружения *Y. enterocolitica* или ее ДНК в фекалиях у пациентов с острыми диарейными заболеваниями недостаточен для установления иерсиниозной этиологии заболевания. Лабораторным подтверждением диагноза кишечного иерсиниоза служит выявление штаммов возбудителя, обладающих факторами вирулентности (или их генами). Выявление *Y. pseudotuberculosis* или ее ДНК методом ПЦР является достаточным для подтверждения диагноза псевдотуберкулеза.

При интерпретации результатов определения специфических АТ минимально учитываемым диагностическим титром при использовании методов РА и РНГА считают 1:160 и 1:200 соответственно. При исследовании в формате «парных сывороток» диагностически значимым считается как минимум 2-4-кратное нарастание титра АТ.

Хеликобактериоз

Хеликобактериоз – антропонозная инфекция, проявляющаяся в форме хронического активного гастрита, способного приводить к язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, атрофическому гастриту, аденокарциноме и мальтоме (MALT) желудка. Возбудитель хеликобактериоза – грамотрицательные мелкие подвижные палочки слегка изогнутой или спиральной формы *Helicobacter pylori* (сем. *Helicobacteraceae*, класс *Epsilonproteobacteria*). Имеются доказательства связи *H. pylori* с идиопатической железододефицитной анемией, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой и авитаминозом В12.

Helicobacter pylori – микроаэрофил, требовательный к условиям культивирования, с оптимальной температурой роста 37 °С. Характерная осо-

бенность биохимических свойств *H. pylori* – экстраординарная продукция фермента уреазы (расщепляющей мочевины до аммиака и CO_2), что широко используют для индикации микроорганизма и его дифференциации от бактерий иных видов. Предпочтительной в отношении данной нозологии, в соответствии с Маастрихтским консенсусом (Maastricht V, 2016), является стратегия, направленная на применение диагностических методов, не требующих проведения эзофагогастродуоденоскопии и проведение этиотропной терапии при выявлении патогена.

Показания к обследованию

- Острые и хронические формы гастрита;
- язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки;
- новообразования желудка;
- идиопатическая железодефицитная анемия;
- идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура;
- авитаминоз В12.

Этиологическая лабораторная диагностика включает посев биологического материала с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя, определением антибиотикочувствительности; выявление ДНК и АГ микроорганизма; обнаружение специфических АТ к АГ *Helicobacter pylori*. Скрининговые экспресс-тесты – определение уреазной активности возбудителя в биоптатах желудка, гистологическое исследование биоптатов, дыхательные тесты, носят ориентировочный характер.

Материал для исследований

- Биоптаты слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки – обнаружение ДНК *H. pylori*, культуральные исследования;
- образцы фекалий – выявление АГ *H. pylori*, культуральные исследования;
- сыворотка крови – выявление АТ к *H. pylori*.

Сравнительная характеристика методов лабораторных исследований

Перечень материалов для этиологической диагностики хеликобактериоза обусловлен выбором инвазивной и неинвазивной стратегии исследований. Посев биопсийного материала слизистой оболочки желудка, полученного при эндоскопическом обследовании, является наиболее информативным из используемых методов, он позволяет проводить дополнительные исследования (определение чувствительности микроорганизма к антибиотикам), однако высокая трудоемкость такой диагностики делает ее малораспространенной. Также распространено стандартное гистохимическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой желудка.

Выявление ДНК методом ПЦР в сравнении с культуральными исследованиями обладает меньшей трудоемкостью, с гистологическими исследованиями – меньшей субъективностью. Для обнаружения ДНК патогена при использовании МАНК рекомендовано исследование биоптатов, исследование других типов биоматериала не обеспечивает приемлемой ди-

агностической чувствительности, получение отрицательных результатов таких исследований не имеет валидного значения. Наборы реагентов для диагностики инфекции с использованием ПЦР предназначены как для обнаружения ДНК *H. pylori*, так и для характеристики генетических детерминант антибиотикорезистентности.

Из числа неинвазивных тестов наиболее предпочтительным для скрининга и контроля эрадикации возбудителя является дыхательный уреазный тест с нерадиоактивным изотопом ^{13}C , используются также тесты на основе радиоактивного изотопа ^{14}C . Основной альтернативой названных тестов является определение АГ *H. pylori* в образцах фекалий методом ИФА, предпочтение должно отдаваться диагностикумам на основе моноклональных антител.

Выявление в сыворотке крови пациента специфических АТ к АГ микроорганизма используется для первичной диагностики инфекции. Недостатком такого способа диагностики является отсутствие возможности контролировать результаты этиотропного лечения после его окончания, так как уровень специфических АТ медленно снижается после эрадикации *H. pylori*. Исследование требует обязательной региональной валидации тестов, т.к. результативность их применения может различаться в зависимости от антигенной характеристики штаммов, циркулирующих в популяции, и их распространенности. Не рекомендованы для практического применения «быстрые тесты», для выполнения которых используют цельную (капиллярную) кровь.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Посев биологического материала, отобранного с использованием инвазивных процедур, с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя выполняют по клиническим показаниям. Определение АТ целесообразно назначать при обследовании пациентов, не получавших ранее эрадикационную терапию, использовать для первичного скрининга хелиобактериоза.

Для подтверждения эффективности эрадикационной терапии оптимальными являются быстрые дыхательные тесты, в качестве альтернативы рассматривается определение АГ *H. pylori* в фекалиях методом ИФА с использованием моноклональных АТ. В случае отсутствия клинической эффективности эрадикационной терапии рекомендуется культуральное исследование, включая выделение чистой культуры возбудителя с последующим определением чувствительности к АМП. Для выявления маркёров резистентности к АМП (кларитромицину и реже метронидазолу) целесообразно использовать МАНК.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление возбудителя культуральным методом или обнаружение ДНК возбудителя методом ПЦР являются достоверным подтвержде-

нием инфицированности. Длительное присутствие АТ к *H. pylori* делает невозможным использование этих тестов для определения эффективности курса эрадикационной терапии. Ложноотрицательные результаты культуральных исследований могут наблюдаться в случаях желудочного кровотечения. Наличие в пробах материала уреазопозитивных бактерий (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. и др.) могут обуславливать ложноположительные результаты быстрого уреазного и дыхательных тестов.

Препараты, используемые для симптоматической терапии заболеваний, ассоциированных с *H. pylori*, могут оказывать существенное влияние на информативность исследований. Прием АМП и препаратов висмута должен исключаться за четыре, а ингибиторов протонной помпы – за две недели до проведения лабораторных исследований с целью обнаружения *H. pylori*.

Протозойные кишечные инфекции

Лямблиоз

Лямблиоз (гиардиаз) – болезнь, вызываемая простейшими – лямблиями, паразитирующими в тонкой кишке, иногда в желчном пузыре. У человека паразитирует один вид лямблий – *G. intestinalis* (синоним *G. lamblia*, *G. duodenalis*). Сложная генетическая структура затрудняет разработку универсальной номенклатуры генотипов данного возбудителя. На основании анализа трех локусов генома выделяют восемь комплексов возбудителя (А-Н), из которых два – А и В, являются наиболее частыми возбудителями заболеваний у человека. Преимущественными проявлениями заболевания является длительная (хроническая) диарея, сопровождающаяся плохим усвоением жиров и лактозы, и при длительном течении – потерей веса. Основным источником инфекции являются бессимптомные носители лямблий, а также животные, способные выступать природными резервуарами данной инфекции (beaver fever – «бобровая лихорадка»). Важным фактором передачи лямблий является загрязненная питьевая вода, актуальны также контактно-бытовой и пищевой путь передачи. Длительность инкубационного периода составляет в среднем 1-3 недели. Типичная длительность циклической формы заболевания – около 6 недель, но хроническая диарея может длиться месяцами.

Показания к обследованию

- Кишечные инфекции неустановленной этиологии длительного течения, в том числе сопровождающиеся аллергическими проявлениями, непереносимостью лактозы и плохой усвояемостью жиров.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное обнаружение трофозоитов и цист лямблий методом микроскопии, выявление ДНК и АГ лямблий.

Материал для исследований

- Желчь – микроскопические исследования;
- фекалии – микроскопические исследования, выявление ДНК, АГ.

Сравнительная характеристика методов лабораторных исследований

Для визуального выявления вегетативных или цистных форм лямблий в образцах желчи и фекалий выполняют микроскопическое исследование нативного мазка, окрашенного 1% раствором Люголя, в комбинации с различными методами обогащения. Для лямблиоза характерны «немые» промежутки, связанные с прерывистостью выделения цист, длительностью 8-12 дней. Для повышения эффективности диагностики рекомендуется исследовать несколько образцов фекалий трехкратно. Вероятность обнаружения лямблий при однократном исследовании дуоденального содержимого гораздо выше, чем при исследовании кала. Метод прямой микроскопии считается одним из наиболее экономичных и оперативных для практического применения, но предъявляет определенные требования к квалификации паразитолога. Существуют риски гипердиагностики лямблиоза при ошибочной интерпретации дрожжеподобных грибов как цист лямблий.

Использование концентрации цист с применением флотации (предпочтительнее) и седиментации позволяют существенно повысить эффективность диагностики.

Для диагностики лямблиоза используют выявление АГ лямблий в пробах фекалий. На основе сравнительной оценки данных тестов с результатами диагностики методом микроскопии можно сделать вывод, что они обеспечивают более высокую чувствительность детекции патогена.

Выявление ДНК лямблий методом ПЦР является перспективным направлением лабораторной диагностики лямблиоза. Обнаружение ДНК лямблий, их АГ и АТ имеют более высокий диагностический потенциал по сравнению с микроскопическими исследованиями.

Показания к применению различных лабораторных исследований определяются прежде всего ценовой доступностью микроскопических исследований и потенциально более высокой чувствительностью выявления АГ и ДНК лямблий в образцах фекалий.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Результаты, полученные с применением прямых методов лабораторной диагностики (микроскопические исследования, обнаружение АГ и ДНК лямблий в фекалиях), имеют общие принципы интерпретации. Заключение об отсутствии у пациента лямблиоза не должно формироваться после однократного исследования биоматериала.

Лабораторный контроль эффективности лечения лямблиоза проводят через 5-6 дней после окончания приема препаратов. Критерии эффективности лечения: три отрицательных результата микроскопического исследования с интервалом 1-2 дня.

Амебиаз

Амебиаз (амебная дизентерия) – протозойное заболевание, вызванное дизентерийной амёбой (*Entamoeba histolytica*). С данным патогеном может быть связано бессимптомное носительство, при котором цисты и просветные формы амёб могут длительное время обитать в кишечнике как комменсалы, и манифестные формы заболеваний (т.н. инвазивный амебиаз), характеризующиеся язвенным поражением кишечника (кишечный амебиаз) и, в осложненных случаях, – формированием абсцессов печени, мозга и др. органов (внекишечный амебиаз). Наиболее частым следствием инфицирования является бессимптомное носительство. Кишечный амебиаз регистрируется в различных регионах мира, но наибольшую распространенность имеет в странах с тропическим и субтропическим климатом. Источником заболевания является больной человек или носитель, выделяющий цисты амёб с фекалиями. Цисты обладают высокой устойчивостью во внешней среде, что определяет водный, алиментарный и контактно-бытовой пути передачи возбудителя. Особенностью амебиаза является длительный инкубационный период (20-40 дней, в некоторых случаях до 3 месяцев).

Показания к обследованию

- Больные ОКИ с синдромом гемоколита при наличии эпидемиологических показаний. При внекишечном амебиазе клиническая манифестация и показания к обследованию определяются локализацией процесса.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное обнаружение *E. histolytica* с использованием микроскопии, выявление ДНК *E. histolytica*, выявление АТ к АГ микроорганизма.

Материал для исследований

- Образцы фекалий – микроскопические исследования, выявление ДНК *E. histolytica*;
- сыворотка крови – выявление АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторных исследований

Наиболее распространенным методом диагностики кишечного амебиаза является микроскопия образцов фекалий, которая позволяет выявить различные морфологические формы патогена. Микроскопическим подтверждением амебной этиологии поражения кишечника является обнаружение тканевых (вегетативных) форм амёбы с фагоцитированными эритроцитами. Микроскопическое исследование рекомендуется проводить в два этапа. На первом этапе исследуют нативные или окрашенные препараты фекалий для выявления вегетативных форм возбудителя. При отрицательных результатах исследования необходимо провести предварительное обогащение образца, которое позволяет выявить цисты амёб. Ложноположительные результаты исследования могут быть связаны с наличием в исследуемых об-

разцах непатогенных видов амёб, прежде всего *E. dispar*.

Обнаружение ДНК *E. histolytica* с использованием методов АНК (преимущественно ПЦР), которое дает возможность с наибольшей специфичностью выявлять патоген, находит в последние годы все большее применение в диагностике кишечного амебиоза. Обнаружение ДНК методом ПЦР не позволяют дифференцировать острое заболевание от носительства просветных форм *E. histolytica* на фоне ОКИ другой этиологии.

Для выявления специфических АТ используют ИФА, РНИФ. Методы определения АТ более информативны в диагностике внекишечных форм амебиоза. Снижение уровня АТ наблюдается в течение 6-12 месяцев после завершения эффективного курса терапии.

Для выявления амёбных абсцессов при внекишечном амебиозе наиболее информативны различные формы лучевой диагностики.

Показания к применению различных лабораторных исследований

При проведении исследований в регионах с высокой распространенностью амебиоза (тропические и субтропические зоны), при наличии квалифицированных специалистов, имеющих опыт микроскопической диагностики амебиоза, целесообразно применение микроскопии как скринингового метода, обладающего большей универсальностью по отношению к спектру возбудителей, характерных для данных территорий.

При проведении исследований в неэндемичных регионах целесообразно применение комплекса методологически унифицированных тестов для выявления ДНК возбудителя методом ПЦР и исследований по выявлению специфических АТ для дифференцировки стадии заболевания и выявления носительства *E. histolytica*.

Применение инструментальных методов исследований является обязательным для исключения внекишечных осложнений амебиоза (наиболее частая форма – амёбные абсцессы печени).

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

При кишечном амебиозе безусловным подтверждением амёбной этиологии поражения кишечника является обнаружение вегетативных форм амёб, фагоцитирующих эритроциты, в окрашенных или нативных препаратах фекалий без их обогачения. Диагностическая чувствительность такого исследования у пациентов с подострым и хроническим течением заболевания бывает невысокой. Более высокая чувствительность достигается при использовании методов обогачения фекалий, однако они позволяют проводить концентрирование только цист амёб. Выявление цист имеет меньшее диагностическое значение и не позволяет подтвердить этиологию острых форм язвенного поражения кишечника. При использовании наборов реагентов на основе ПЦР обеспечивается возможность дифференцировки морфологически сходных *E. histolytica* и *E. dispar*. Но данные тесты не позволяют проводить дифференцировку между различ-

ными морфологическими формами патогена.

Определяемый титр АТ к *E. histolytica* как правило, не коррелирует с тяжестью течения заболевания. Наибольшую информативность определение уровня АТ имеет у пациентов с внекишечными формами амебиаза.

Криптоспоридиоз

Криптоспоридиоз – протозойная инфекция с фекально-оральным механизмом передачи. Характеризуется преимущественным поражением пищеварительного тракта с обезвоживанием организма. Относится к оппортунистическим инфекциям, т.к. представляет значительную угрозу для жизни людей с иммунодефицитными состояниями, в первую очередь, больных СПИДом.

Возбудители криптоспоридиоза – кокцидии рода *Cryptosporidium* – облигатные паразиты, инфицирующие микроворсинки слизистых оболочек ЖКТ и дыхательных путей животных и человека. Практически все случаи заболевания у людей связаны с *C. parvum*, *C. hominis* (ранее классифицировавшийся как 1 генотип *C. parvum*), однако у больных СПИДом были выделены и *C. baileyi*.

Жизненный цикл криптоспоридии проходит в организме одного хозяина и напоминает таковой у других кокцидий. Локализуется криптоспоридия в паразитоформной вакуоле, которую образуют микроворсинки кишки, так что паразит расположен внутриклеточно, но экстраплазматически. В организме хозяина образуются два типа ооцист: толстостенные, которые покидают организм хозяина с фекалиями, и тонкостенные, которые высвобождают спорозоиты в кишечнике, за счет чего происходит аутоинфекция. Сохраняясь в окружающей среде, ооцисты криптоспоридий способны к инфицированию в течение до 18 мес. при температуре +4 °С и до 1 нед. при -10 °С. При нагревании (+72 °С) они погибают в течение 1 мин. Ооцисты резистентны к действию дезинфектантов, особенно к хлорированию. Благодаря этому, а также их малым размерам (4-7 мкм), которые позволяют возбудителю проходить через многие фильтры, с помощью современных технологий добиться очистки воды от криптоспоридий не удается, что реализует водный путь распространения заболевания.

При изучении водных вспышек криптоспоридиоза ооцисты были выделены из водопроводной и речной воды и из сточных вод на полях орошения, воды колодцев, куда попадала дождевая вода, а также из льда, полученного с поверхности открытых водоисточников.

Основным источником криптоспоридиоза является как человек, так и различные млекопитающие, в основном, сельскохозяйственные (телята, ягнята), а также другие животные, связанные с местами проживания людей (грызуны и др.). В качестве фактора передачи инвазии играют роль многие продукты (сырые овощи, зелень, молоко, морепродукты и др.), но

главным фактором является вода. Отмечаются случаи заражения детей в детских учреждениях, внутрибольничные вспышки и случайные заражения лабораторного персонала.

Наиболее тяжелым течением отличается криптоспоридиоз у ВИЧ-инфицированных пациентов, что сопровождается большой потерей массы тела и часто является непосредственной причиной летальных исходов. Среди больных ВИЧ-инфекцией, заболевших криптоспоридиозом, в результате длительной (хронической) инвазии умирает более 50%.

Естественная восприимчивость людей невысокая. Заболеванию больше подвержены дети до 2-х лет, а также лица с различными иммунодефицитными состояниями (онкобольные, получающие химиопрепараты, больные сахарным диабетом, реципиенты после пересадки органов или костного мозга и особенно больные ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях болезни). К профессиональным группам риска относят ветеринаров, животноводов, работников предприятий по убою скота.

Патогенез заболевания изучен недостаточно. Преобладание в клинической картине болезни профузной водянистой диареи, подобной холерной, предполагает продукцию энтеротоксина, однако несмотря на многочисленные поиски, токсин у криптоспоридий обнаружен не был. Некоторые исследования показали наличие у криптоспоридий гена, ответственного за продукцию белка, который обладает гемолитической активностью и имеет сходство с шигаподобными токсинами.

Наиболее типичная локализация процесса – дистальные отделы тонкой кишки. При размножении паразита в кишечнике поражается большое число энтероцитов, что приводит к атрофии ворсинок. При этом наблюдается гипертрофия крипт, моноклеарная и полиморфно-ядерная инфильтрация базальной мембраны и кратерообразные углубления на поверхности эпителия. Массивное поражение микроворсинок приводит к значительному нарушению всасывания воды и электролитов. Повышается их секреция через кишечную стенку, что проявляется в виде водянистой диареи. Нарушается ферментативная деятельность кишечника. Возникают вторичные мальабсорбция и стеаторея. У больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции возможно поражение не только всего ЖКТ, но и гепатобилиарной системы и дыхательных путей.

В основе клинических проявлений при криптоспоридиозе лежит острый диарейный синдром, развивающийся через 2-14 дней после заражения и протекающий по типу острого энтерита или гастроэнтерита. Выраженность симптомов в значительной мере зависит от состояния иммунной системы пациента. При отсутствии иммунодефицита обильный водянистый (холероподобный) стул с очень неприятным запахом с частотой до 20 раз в сутки отмечается, в среднем, на протяжении 7-10 дней (2-26 дней). Больной теряет при этом от 1 до 15-17 л жидкости в сутки. Профузный понос может сопровождаться умеренными спастическими

болями в животе, тошнотой и рвотой (у 50%), небольшим повышением температуры тела, отсутствием аппетита, головной болью. Обычно наступает выздоровление, но у ослабленных детей болезнь может продолжаться более 3 нед и закончиться фатально. Очень редко заболевание может приобретать характер колита с появлением крови и слизи в кале.

У больных с поздними стадиями ВИЧ-инфекции (при снижении числа CD4⁺ Т-лимфоцитов менее $0,1 \times 10^9$ клеток/л) заболевание обычно принимает хронический характер и продолжается несколько месяцев, сопровождаясь резким уменьшением массы тела (слим-синдром). У 15% больных развивается картина бескалькулезного холецистита, реже – гепатита и склерозирующего холангита. Для поражения легких, которое чаще всего сочетается с поражением кишечника, характерны неспецифичные проявления. Поскольку проблема лечения криптоспоридиоза остается нерешенной и эффективных средств этиотропной терапии пока не существует, многие больные с наличием глубокого иммунодефицита погибают в результате полного истощения на фоне длительного течения болезни.

Показания к обследованию

- Длительная диарея у пациентов с нарушениями иммунной системы;
- наличие гастроэнтеритов неуточненной этиологии у детей младшего возраста и работников профессиональных групп риска.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное выявление криптоспоридий при использовании микроскопии, обнаружение АГ и ДНК криптоспоридий.

Материал для исследований

- Образцы фекалий.

Дифференциальная диагностика

- Другие диарейные заболевания, протекающие с обезвоживанием;
- у больных ВИЧ-инфекцией – ЦМВ-колит, микроспоририоз, изоспороз, заболевания желчевыводящей системы.

Сравнительная характеристика методов лабораторных исследований

Наиболее распространенный метод диагностики криптоспоририоза – выявление ооцист при микроскопическом исследовании окрашенного препарата фекалий. В связи с особенностями строения ооцист для их окрашивания применяются специальные методы, позволяющие выявлять кислотоустойчивые микроорганизмы. У пациентов без иммунодефицитов криптоспоририоз протекает как ОКИ с высокой концентрацией криптоспоридий в фекалиях, что позволяет с высокой эффективностью использовать микроскопические исследования для диагностики. Для обнаружения АГ криптоспоридий используют метод РИФ, детекцию результатов выполняют с использованием люминесцентной микроскопии. Обнаружение ДНК методом ПЦР в сравнении с микроскопическим исследованием обладает более высокой чувствительностью для детекции криптоспори-

дий. Применение ПЦР-исследования для обнаружения ДНК возбудителя или микроскопии в комбинации с предварительным обогащением образцов предпочтительно у пациентов с ВИЧ-инфекцией, течение заболевания у которых носит затяжной характер и может сопровождаться низким содержанием ооцист криптоспоридий в фекалиях.

Кишечные гельминтные инвазии

Энтеробиоз

Энтеробиоз – повсеместно распространенный антропонозный кишечный гельминтоз, вызванный острицами – *Enterobius vermicularis* (*Oxyuris vermicularis*). Наиболее часто заболевание регистрируется у детей. Острицы паразитируют в нижней половине тонкого кишечника, слепой кишке и в начальной части ободочной кишки. Самки остриц активно выходят из анального отверстия и откладывают яйца в его окружности. Инвазионными являются зрелые яйца гельминтов, ведущий путь передачи заболевания – пищевой. Длительность жизни остриц в организме человека не превышает одного месяца, нередко наблюдают длительное течение заболевания, что связано с аутоинвазией. Специфической клинической особенностью данного гельминтоза является интенсивный зуд в перианальной области. При массивной инвазии отмечается кишечная симптоматика – кашицеобразный стул с примесями крови и слизи, тенезмы. Описаны случаи заноса острицами бактериальной инфекции в урогенитальный тракт у девочек. При массивной инвазии даже макроскопическое исследование позволяет выявить взрослых гельминтов на поверхности фекалий.

Показания к обследованию

- Клинические – жалобы пациента на зуд в перианальной области, следы расчесов на коже в перианальной области;
- профилактические – проведение обследования перед посещением детских дошкольных учреждений.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление яиц *Enterobius vermicularis* методом микроскопии.

Материал для исследований

Кожа перианальной области (мазки, соскобы и аппликанты), соскобы кожи подногтевых пространств.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Наиболее распространенный метод диагностики энтеробиоза – микроскопические исследования для выявления яиц *Enterobius*. Острицы практически не откладывают яйца в кишечнике, поэтому исследование образцов фекалий для обнаружения их яиц неинформативно. Наибольшая чувстви-

тельность достигается при исследовании мазков, соскобов и аппликатов с кожи перианальной области и соскобов кожи подногтевых пространств.

Учитывая использование на практике фактически только микроскопической диагностики энтеробиоза, способ взятия образцов для исследования и метод их обогащения имеют решающее значение для результативности диагностики. Наибольшей чувствительностью обладает метод Грэхема и его модификации, заключающийся в получении отпечатка кожи перианальной области на пластиковой пленке с липким слоем. Исследование соскоба в сравнении с ним имеет в 2-3 раза меньшую информативность. Данные исследования рекомендуется повторять трехкратно с интервалами в 7-10 дней.

Для диагностики энтеробиоза может быть также применено выявление ДНК гельминта методом ПЦР.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Положительные результаты, полученные при применении любых методов выявления яиц остриц, являются подтверждением диагноза энтеробиоза.

Аскаридоз

Аскаридоз – один из наиболее распространенных геогельминтозов человека. Возбудителем заболевания является аскарида человека *Ascaris lumbricoides*, в редких случаях заболевание человека может быть связано со свиной аскаридой (*Ascaris suis*). Естественное течение заболевания характеризуется несколькими фазами. Началом миграционной фазы инвазии служит внедрение личинок аскарид, вылупившихся из попавших в ЖКТ яиц гельминта. Вместе с кровотоком личинки попадают в воротную вену, затем в нижнюю полую вену и, через правые отделы сердца и легочную артерию, – в легкие. В миграционной фазе аскаридоза основным показанием к обследованию является легочная симптоматика – кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты, которая может содержать примесь крови), плевриты в сочетании с эозинофилией и возможными кожными проявлениями аллергических реакций, возможны симптомы бронхиальной астмы, атипичной бронхопневмонии. При инструментальном исследовании часто выявляются «летучие» инфильтраты в легких.

Начало кишечной фазы заболевания – повторное попадание личинок в ЖКТ после миграции через трахею. В этой фазе происходит окончательное половое созревание гельминтов с последующим выделением во внешнюю среду яиц. Кишечная стадия инвазии в зависимости от ее интенсивности может протекать бессимптомно или манифестно (наблюдается анорексия, тошнота, схваткообразные боли в эпигастрии, мезогастрии и правой подвздошной области).

Показания к обследованию

- По клиническим показаниям обследуются амбулаторные и госпитализированные пациенты;
- по эпидемиологическим показаниям – дети младшего возраста в организованных коллективах и взрослые лица, по роду своих занятий, относящиеся к группам риска (рабочие очистных сооружений, земледельческих полей орошения и др.).

Этиологическая лабораторная диагностика включает

- в миграционной фазе – микроскопические исследования образцов мокроты для выявления личинок, обнаружение ДНК паразита в мокроте или фекалиях;
- в кишечной фазе – микроскопические исследования для выявления яиц аскарид в образцах фекалий, обнаружение ДНК паразита в фекалиях, выявление специфических АТ к АГ паразита.

Материал для исследований

- Мокрота, образцы фекалий – микроскопические исследования, обнаружение ДНК;
- сыворотка крови – обнаружение специфических АТ;
- образцы почвы – обнаружение ДНК.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Подтверждением диагноза в миграционной фазе аскаридоза является обнаружение личинок аскарид в образцах мокроты в ходе микроскопического исследования. В данном периоде заболевания пациенты редко попадают в поле зрения специалистов-паразитологов. Отрицательный результат исследования не может служить основанием для исключения аскаридоза. В таких случаях рекомендовано повторное микроскопическое исследование образцов фекалий для выявления яиц аскарид (обычно через 3 месяца).

В кишечной фазе заболевания основные методы диагностики направлены на выявление яиц аскарид в фекалиях. Чаще всего используется микроскопия толстого мазка по Като и обогащенного препарата, полученного с применением одного из методов концентрирования (Фюллеборна, Калантарян и др.).

Обнаружение ДНК методом ПЦР – перспективный метод детекции яиц аскарид во внешней среде. Яйца аскарид, прошедшие период созревания в почве, отличаются более высокой копийностью генетического материала в сравнении с содержащимися в биологическом материале.

В настоящее время имеется большое количество наборов реагентов для выявления АТ при диагностике аскаридоза. Однако многие из них имеют рекомендации производителей применять подтверждающие прямые тесты при получении положительных результатов исследований. В этих условиях прямые методы обнаружения патогена (микроскопия, выявление ДНК) являются наиболее доступными методами лабораторной диагностики аскаридоза.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Эффективность диагностики достигается сочетанным применением лабораторных и инструментальных методов, соответствующих фазе заболевания: в миграционной фазе аскаридоза – исследование мокроты с применением прямых методов выявления личинок аскарид, в кишечной фазе – исследование обогащенных образцов фекалий методом микроскопии с применением при отрицательных результатах исследования методов лучевой диагностики и профилактической дегельминтизации.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Выявление личинок аскарид или их яиц в любых типах исследуемого материала служит безусловным подтверждением диагноза аскаридоза.

Отрицательные результаты выявления личинок аскарид в миграционной фазе могут быть связаны с отсутствием мокроты или малым количеством личинок в ней. В таких случаях требуется применение инструментальных клинических исследований или обследование пациентов в динамике (выявление личинок в период достижения половой зрелости).

Отрицательные результаты обнаружения яиц аскарид в фекалиях могут быть связаны с инвазией мужскими особями, неполовозрелыми или старыми женскими особями. В таких случаях применяются другие методы диагностики (рентгенографические исследования с контрастированием, диагностическая дегельминтизация).

Литература

1. ГОСТ Р 57989-2017 Продукция пищевая специализированная. Методы выявления патогенных микроорганизмов на основе полимеразной цепной реакции.
2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2018. – №1. – С. 55-70.
3. Жебрун А.Б., Сварваль А.В., Ферман Р.С., Гончарова Л.Б. Методы лабораторной диагностики инфекции, обусловленной *Helicobacter pylori* / Пособие для врачей. Санкт-Петербург, 2014. – 60 с.
4. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие / Под ред. В.В.Меньшикова. Том 3 – М.: Лабора, 2009. – 880 с.
5. Подколзин А.Т., Гусева А.Н., Веселова О.А. и др. Интерпретация результатов детекции возбудителей вирусных диарей в режиме real-time // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 6. – С. 52-57.
6. Подколзин. А.Т., Ермак Т.Н. Криптоспоридиоз // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. М.: Бином, 2013. – С. 227-230.
7. Успенский Ю.П., Суворов А.Н., Барышникова Н.В. Инфекция *Helicobacter pylori* в клинической практике. // Санкт-Петербург: ИнформМед, 2011. – 572 с.
8. Методические рекомендации. «Бактериологическая диагностика брюшного тифа и

- паратифов А, В и С» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 29 декабря 2007 N 0100/13745-07-34).
9. Методические рекомендации. МР 01/15702-8-34 «Микробиологическая диагностика кампилобактериоза» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 26 декабря 2008).
 10. Методические указания. МУК 4.2.735-99 «Паразитологические методы лабораторной диагностики гельминтозов и протозоозов» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 25 февраля 1999).
 11. Методические указания. МУК 4.2.992-00 «Методы выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки E.coliO157:H7» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 4 ноября 2000).
 12. Методические указания. МУК 4.12.1890-04 «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 4 марта 2004).
 13. Методические указания. МУ 3.1.1.2363-08 «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации 25 мая 2008).
 14. Методические указания. МУК 4.2.2428-08. «Метод определения бактерий *Enterobacter sakazakii* в продуктах питания детей раннего возраста» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 29 октября 2008).
 15. Методические указания. МУК 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 13.08.2010).
 16. Методические указания. МУ 4.2.2746-10 «Порядок применения молекулярно-генетических методов при обследовании очагов острых кишечных инфекций с групповой заболеваемостью» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 30 сентября 2010).
 17. Методические указания. МУК 4.2.2963-11 «Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *Escherichiacoli*, продуцирующих шига-токсины (STEC-культуры), и обнаружению возбудителей STEC-инфекций в пищевых продуктах» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 19 августа 2011).
 18. Методические указания. МУ 3.1.1.2957-11 «Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика ротавирусной инфекции» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 29 июля 2011).
 19. Методические указания. МУ 3.1.1.2969-11 «Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика норовирусной инфекции» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 15 ноября 2011).
 20. Методические указания МУК 4.2.3145-13 Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов (утв. врио руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 26 ноября 2013 г.).
 21. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1.2950-11 «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 27.07.2011).
 22. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1.2951-11 «Профилактика полиомиелита» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 28 июля 2011 года).
 23. American Public Health Association. Enterobiasis // In: Heyman DL, editor. Control of com-

- municable diseases manual. 18th ed. Washington, DC: American Public Health Association. – 2004. – P. 194-196.
24. Bancercz-Kisiel A., Pieczywek M., Łada P, Szweda W. The Most Important Virulence Markers of *Yersinia enterocolitica* and Their Role during Infection // *Genes (Basel)*. 2018 May 3;9(5). pii: E235. doi: 10.3390/genes9050235.
 25. Benkő M. Adenoviruses. Pathogenesis // In: B.W.J. Mahy and M.H.V. van Regenmortel (Eds.), *Encyclopedia of Virology*, 3rd edition Elsevier, Oxford, 2008. – Vol. 1. – P. 24-29.
 26. Casemore D., Armstrong M., Sands R. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis // *Journal of Clinical Pathology*. – 1985. – Vol. 38. – P. 1337-1341.
 27. Checkley W., White A., Jaganath D. et al. A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for *Cryptosporidium*. // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 15. – P. 85-94.
 28. Cortez V., Meliopoulos V., Karlsson E. et al. Astrovirus Biology and Pathogenesis // *Annu Rev Virol*. – 2017. – Vol. 29. – P.327-348.
 29. Crawford S., Ramani S., Tate J. et al. Rotavirus infection // *Nat Rev Dis Primers*. 2017. Nov 9;3:17083. doi: 10.1038/nrdp.2017.83.
 30. De Benedictis P., Schultz-Cherry S., Burnham A., Cattoli G. Astrovirus infections in humans and animals – molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions // *Infection Genetics and Evolution*. – 2011. – Vol. 11. – P. 1529-1544.
 31. Dold C.; Holland C. *Ascaris* and ascariasis. *Microbes and Infection* // Institut Pasteur. 13 (7): 632–7. doi:10.1016/j.micinf.2010.09.012.
 32. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 // *EFSA Journal* 2018. 16(12):5500. doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500
 33. Enterovirus Surveillance Guidelines – Guidelines for Enterovirus Surveillance in Support of the Polio Eradication Initiative. World Health Organization Regional Office for Europe (2015).
 34. Forster J., Guarino A., Perez N. et al. Hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis among European children younger than 5 years of age // *Pediatrics*. – 2009. – Vol. 13. – P. e393-400.
 35. Glass R., Parashar U., Estes M. Norovirus gastroenteritis // *N. Engl. J. Med*. – 2009. – Vol. 361. – P. 1776-1785.
 36. Gould H., Bopp C., Strockbine N. et al. Recommendations for diagnosis of Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories // *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR Recommendations and Reports)*. – 2009. – Vol. 58. – P.1-14.
 37. Green K., Knipe D., Howley P. *Caliciviridae: The Noroviruses* // *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer Business, Philadelphia: 2007. – P.949-980.
 38. Greenberg H., Estes M. Rotaviruses: From Pathogenesis to Vaccination // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 136. – P. 1939-1951.
 39. Griffin P., Carneil E. *Yersiniosis* // *Control of Communicable Diseases Manual*, 20th ed. Editor: Heymann D. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2014. – P. 690-693.
 40. Grimont P. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars // 9th edition WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*.
 41. Guidance for Public Health Laboratories «Isolation and Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from Clinical Specimens», 2012 // www.aphl.org/about-APHL/publications/Documents (дата обращения 23.04.2020).
 42. Hansman G., Oka T., Katayama K., Takeda N. Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification // *Rev. Med. Virol*. – 2007. – Vol. 17. – P.133-141.
 43. Harrach, B. Adenoviruses. General features // B.W.J. Mahy and M.H.V. van Regenmortel

- (Eds.), *Encyclopedia of Virology*, 3rd edn. Elsevier, Oxford:2008. – Vol. 1. P. 1-9.
44. Harvala H., Jasir A., Penttinen P. et al. Surveillance and laboratory detection for non-polio enteroviruses in the EU/EEA region // *Eurosurveillance*, 22 (45) (2017), 10.2807/1560-7917.
 45. Harvala H., Broberg E., Benschop K. et al. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe // *Journal of Clinical Virology*. – 2018. – Vol. 101. – P. 11-17.
 46. Holm-Hansen C., Midgley S., Schjørring S., Fischer T. The importance of enterovirus surveillance in a Post-polio world // *Clinical Microbiology and Infection*/ – 2017. – Vol. 23. – P. 352-354.
 47. Huang D., White A. An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia* // *External Gastroenterol Clin North Am*. – 2006. – Vol. 35. – P. 291-314.
 48. ISO 6579-1 Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
 49. Jiang H., Holtz L., Bauer I. et al. Comparison of novel MLB-clade, VA-clade and classic human astroviruses highlights constrained evolution of the classic human astrovirus nonstructural genes // *Virology*. – 2013. – Vol. 436. – P.8-14.
 50. Kapoor A., Li L., Victoria J. et al. Multiple novel astrovirus species in human stool // *J Gen Virol*. – 2009. – Vol. 90. – P. 2965-2972.
 51. Knowles N., Hovi Hyypiä T. et al. Picornaviridae // *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. Adams M., Carstens E., Lefkowitz E. Elsevier, San Diego, 2012. – P. 855-880.
 52. Kucik C., Martin G., Sortor B. Common intestinal parasites // *Am Fam Physician*. -2004. – Vol.69. – P.1161-1168.
 53. Long C., Jones T., Vugia D. et al. *Yersinia pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* infections, FoodNet, 1996-2007 // *Emerg Infect Dis*. – 2010. – Vol. 16. – P. 566-567.
 54. MacCannell T., Umscheid G., Agarwal R. et al. Guideline for the Prevention and Control of Norovirus Gastroenteritis Outbreaks in Healthcare Settings, 2011 // www.cdc.gov/infection-control/guidelines/norovirus/(дата обращения 23.04.2020).
 55. Maguire J. Intestinal nematodes (roundworms) // In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. – P. 3577-3605.
 56. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. et al. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht V. Florence Consensus Report // *Gut*. – 2017. – vol.6 – P. 6-30.
 57. Manual of rotavirus detection and characterization methods. World Health Organization // www.who.int/vaccines-documents (дата обращения 23.04.2020).
 58. Matthijnssens J., Martella V., Van Ranst M. Priority Paper Evaluation: Genomic evolution, host-species barrier, reassortment and classification of rotaviruses // *Future Virology*. – 2010. – Vol. 4. – P.385-390.
 59. Pang X, Lee B. Laboratory diagnosis of noroviruses: present and future // *Clin Lab Med*. – 2015. – Vol.35 - . P.345-362.
 60. «Parasites – *Cryptosporidium* (also known as «Crypto»)». Centers for Disease Control and Prevention. February 20, 2015. <https://www.cdc.gov/parasites/crypto/index.html> (дата обращения 23.04.2020).
 61. Parashar U., Hummelman E., Breese, J. et al. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children // *Emerg Infect Dis*. – 2003. – Vol. 9. – P. 565-572.
 62. Pérot P., Lecuit M., Eloit M. Astrovirus Diagnostics // *Viruses*. 2017. pii: E10. doi: 10.3390/v9010010.
 63. Ravdin J. Amebiasis // *External Clin Infect Dis*. – 1995. – Vol. 20. – P. 1453-1466.
 64. Ryan, U., Fayer, R., Xiao, L., 2014. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs // *Parasitology*. – 2014. – Vol. 141. – P. 1667-1685.
 65. Saidin S., Othman N. Noordin Update on laboratory diagnosis of amoebiasis // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. – 2019. – Vol.38. – P.15-38.

66. Shah M., Hall A. Norovirus illnesses in children and adolescents // *Infect Dis Clin North Am.* – 2018. – Vol. 32. – P. 103-118.
67. Stauffer W., Ravdin I. Entamoeba histolytica: an update // *External Curr Opin Infect Dis.* – 2003. – Vol.16. – P. 479-485.
68. Thompson R. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential // *External Int J Parasitol.* – 2000. – Vol. 30. – P.1259-1267.
69. Walter J., Mitchell D. Astrovirus infection in children // *Curr Opin Infect Dis.* – 2003. – Vol.16/ – P.247–253.
70. World Health Organization. Diarrhoeal Disease: Fact Sheet N 330. Geneva, Switzerland: WHO; 2013.
71. Wu M., Jones V. Ascaris lumbricoides // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2000. – Vol. 124. – P.174-175.

■ Микозы

Заболевания человека, вызываемые различными видами патогенных и условно-патогенных грибов, являются важной проблемой здравоохранения. Данные ретроспективных исследований свидетельствуют, что подавляющее большинство летальных случаев среди микозов приходится на пациентов с иммунодефицитными состояниями различного генеза. Широкое распространение ВИЧ-инфекции, применение иммуносупрессивной терапии, проведение инвазивных диагностических процедур привело к увеличению числа пациентов с высоким риском микозов. Важнейшим условием успешного лечения микозов является ранняя и интенсивная антифунгальная терапия. В связи с чем существует потребность в совершенствовании системы ранней диагностики микозов.

В клинической практике в настоящее время имеют значение около 100 видов патогенных и условно-патогенных грибов, не исключается медицинская значимость и сотен других видов. Особо опасные микозы – это группа инфекционных заболеваний, вызываемых микроскопическими грибами родов *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*. Данные микроорганизмы относят к возбудителям особо опасных инфекций II группы патогенности. Наиболее частый путь инфицирования – ингаляционный, но в некоторых случаях грибы могут проникнуть через кожу при травмах. Среди возбудителей особо опасных микозов гистоплазмоз находится на первом месте по распространенности на территории земного шара. В эндемичных районах ежегодно регистрируют до 6 случаев гистоплазмоза на 100000 человек. Данные о выделении возбудителей особо опасных микозов на территории России отсутствуют. Считается, что в нашу страну они могут попасть только вместе с туристами, посещающими эндемичные регионы.

По данным ВОЗ, каждый пятый житель планеты страдает от грибковых заболеваний кожи и ее придатков, вызываемых микроскопическими грибами – дерматомицетами (дерматофитами). Дерматомицеты – пато-

генные для человека и животных грибы, поражающие роговой слой кожи, ногти, когти или волосы. Возбудители дерматомикозов относятся к родам *Trichophyton*, *Microsporum* и *Epidermophyton*. Распространение дерматомикозов происходит контактно-бытовым путем и передается при непосредственном соприкосновении с источником микотической инфекции (больной человек, больное животное или носитель) или при контакте с объектами окружающей среды, контаминированными дерматомицетами.

Условно-патогенные грибы все чаще становятся причиной инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Возрастает частота нозокомиальных инфекций кровотока грибковой этиологии. По некоторым исследованиям, представители рода *Candida spp.* занимают четвертое место после *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* и *Enterococcus spp.* среди наиболее часто выделяемых из крови возбудителей. При этом у пациентов с фунгемией, по данным некоторых авторов, выявляют более высокий показатель больницы летальности по сравнению с пациентами, имеющими бактериальные инфекции кровотока. Повышение роли грибов в этиологии госпитальных инфекций привело к внедрению в клиническую практику значительного числа новых препаратов и к их широкому применению. Это, в свою очередь, неизбежно сопровождается формированием резистентности грибов к антимикотикам. Повсеместно распространенные грибы рода *Candida* у больных ВИЧ-инфекцией могут вызывать тяжелое поражение любого органа. Наиболее ранний клинический показатель прогрессирующего иммунодефицита – кандидоз слизистых оболочек. 90-95% инфекций, вызванных грибами рода *Candida*, относятся к пяти видам: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. parapsilosis*. Идентификация до вида имеет важное значение в связи с более широким спектром противогрибковой резистентности некоторых из видов.

К наиболее важным грибковым патогенам относятся также широко распространенные *Cryptococcus neoformans*. Криптококк занимает второе место (после *Candida albicans*) среди возбудителей грибковых инфекций у ВИЧ-инфицированных. Несмотря на то, что криптококкоз является преимущественно болезнью пациентов с ослабленным иммунитетом и не передается от человека к человеку, есть литературные данные о вспышке криптококкоза у здоровых людей в Северной Америке и Канаде. *C. neoformans* обнаруживается в почве и помете птиц. Предполагается, что голуби могут быть основным источником инфекции в городской местности.

Пневмоцистная пневмония остается самым характерным серьезным проявлением ВИЧ-инфекции по своей частоте и летальности, а также самым частым оппортунистическим поражением легких на поздних стадиях болезни. Риск пневмоцистной пневмонии особенно высок, когда число лимфоцитов CD4 опускается ниже 200 мкл⁻¹. Однако несмотря на то, что пневмоцистная пневмония является относительно редким заболеванием у пациентов без ВИЧ-инфекции, необходимо помнить о ее возможности. Возбудитель *Pneumocystis jiroveci* распространен повсеместно, источником

является больной или носитель этого микроорганизма, входными воротами служат дыхательные пути.

В последние годы все большее значение в качестве оппортунистических возбудителей приобретают и аспергиллы. Смертность при инвазивном аспергиллезе может достигать 50-70%. Особую обеспокоенность вызывает рост устойчивости к противогрибковым препаратам у некоторых видов аспергилл. Инфекции, вызванные резистентными штаммами, отличаются длительным течением, увеличивают продолжительность пребывания в стационаре, ухудшают прогноз для пациентов. При неэффективности препаратов выбора приходится использовать средства второго или третьего рядов, которые более дороги, менее безопасны и не всегда доступны. Показано, что заражение азолрезистентными штаммами связано с более высокой смертностью у пациентов.

Установление этиологической роли конкретного возбудителя при микозах чаще всего является непростой задачей, обусловленной определенными ограничениями стандартных методов их диагностики. С помощью методов лабораторной диагностики, направленных на выделение чистой культуры возбудителей микозов, возможна их видовая идентификация не ранее, чем через 1-3 недели. Микроскопическое исследование биологического материала, как правило, позволяет лишь предположить природу заболевания, но не определить возбудитель до вида. Выявление антигенов может обеспечить получение результатов в более короткие сроки, но обладает относительно низкой чувствительностью и недостаточной специфичностью в связи с перекрестными реакциями антигенов различных видов грибов. У пациентов с иммуносупрессией, у которых изначально снижена продукция антител, их выявление становится неэффективным методом диагностики. В настоящее время все большее применение в области лабораторной диагностики находят молекулярно-биологические методы для определения ДНК патогена, позволяющие определить возбудителя до вида с высокой чувствительностью и специфичностью. На практике особое распространение получил метод ПЦР. Несмотря на возможную перспективность данного подхода, высокая стоимость исследования с применением наборов реагентов, созданных за рубежом, исключает его широкое применение, поэтому целесообразным представляется создание отечественных разработок. Одной из задач лабораторной диагностики микозов является разработка методов на основе ПЦР для определения концентрации ДНК микроорганизма и установление диагностически значимого уровня для выявления заболевания.

Аспергиллез

Аспергиллез – группа заболеваний, вызванных грибами рода *Aspergillus*, относящихся к отделу *Ascomycota*. Среди более двухсот известных ви-

дов аспергилл, заболевания (аспергиллезы) у людей способны вызывать менее двух десятков видов, среди которых: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. alliaceus*, *A. oryzae*, *A. versicolor*, *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. flavipes*, *A. glaucus*, *A. japonicus*, *A. nidulans*, *A. sydowii*, *A. ustus* и др. Наиболее часто заболевания вызывают *A. fumigatus*, *A. flavus* и *A. niger*.

Большинство видов *Aspergillus* размножаются только бесполом способом, т.е. являются анаморфами; однако, для ряда видов была описана и половая стадия жизненного цикла, называемая телеоморфой. Следует отметить, что патогенными являются аспергиллы в анаморфном состоянии, и если их случайно выявляют в виде телеоморф (например, *A. repens*, *A. nidulans*) в посевах биологического материала, то это может произойти только на питательных средах *in vitro*. Факторами патогенности *Aspergillus spp.* являются способность к росту при 37 °С, наличие ферментов (протеазы, фосфолипазы), токсинов (афлатоксин, фумагиллин и пр.) и ингибиторов функций компонентов иммунной системы (например, нарушающего функции макрофагов и нейтрофилов глиотоксина), а также выраженная ангиоинвазивность.

Аспергиллы – одни из самых распространенных грибов в мире. Они обитают в почве, органических остатках, птичьим помете, воздухе и пыли, системах вентиляции и водоснабжения, описана контаминация медицинских инструментов (ИВЛ, небулайзеры и пр.). Основной путь заражения человека – аэрогенный, реже – алиментарный или травматический. Инфицирование обычно происходит при вдыхании пыли, содержащей конидии *Aspergillus spp.* Вдыхание конидий *Aspergillus spp.* у здорового человека очень редко ведет к развитию инфекции – они уничтожаются клетками иммунной системы. Однако у людей с иммунодефицитами аспергиллы являются распространенной причиной инфекций инвазивного типа со значительным уровнем смертности. От человека к человеку ни одна форма аспергиллеза не передается. Полной и достоверной статистики по частоте выявления аспергиллеза в настоящее время нет, так как значительное число случаев заболевания не диагностируется.

Согласно МКБ-10 выделяют несколько заболеваний, возбудителями которых являются *Aspergillus spp.*: инвазивный легочный аспергиллез, тонзиллярный, диссеминированный (генерализованный) аспергиллез и другие виды и формы аспергиллеза. Кроме того, аспергиллы ассоциированы с развитием аллергического бронхо-легочного аспергиллеза. Следует отметить, что клинический вариант и тяжесть инвазивного аспергиллеза определяются преимущественно состоянием иммунной системы больного, а не особенностями возбудителя. К факторам риска развития заболевания относятся длительная нейтропения и выраженная иммуносупрессия. Аспергиллезу подвержены, в первую очередь, пациенты с онкогематологическими заболеваниями, реципиенты аллотрансплантантов кроветворных стволовых клеток, пациенты, длительно находящиеся на терапии глюкокортикоидами, пациенты с ВИЧ-инфекцией и др. Кроме того, аспергиллы способны коло-

низировать дыхательные пути больных туберкулезом легких, что приводит в ряде случаев к развитию вторичного легочного аспергиллеза. В большинстве случаев инвазивного аспергиллеза имеет место первичное поражение легких (у 80-98% больных), придаточных пазух носа – у 2-10%. Способность представителей рода *Aspergillus* проникать в кровеносные сосуды и вызывать тромбозы приводит к частой (15-40%) гематогенной диссеминации с поражением других органов, например головного мозга (3-20%), кожи и подкожной клетчатки, костей, щитовидной железы, печени, почек и пр. Летальность при диссеминированном аспергиллезе достигает 60-90%. Без лечения инвазивный аспергиллез практически всегда заканчивается летальным исходом. Важнейшее условие успешного лечения инвазивного аспергиллеза – ранняя диагностика, которая нередко является трудной задачей. Ранние клинические признаки инвазивного аспергиллеза неспецифичны, их часто принимают за проявления бактериальной инфекции. Аспергиллезная пневмония может протекать по клиническим признакам как тяжелая бактериальная пневмония, рак или гангрена легкого. Сходную рентгенологическую картину дают некоторые другие глубокие микозы, например кандидоз.

Дифференциальная диагностика

- Бактериальные пневмонии;
- микозы, вызванные другими возбудителями.

Показания к обследованию

- Лица с ослабленной иммунной системой при признаках поражения легких, придаточных пазух носа, ЦНС;
- пациенты после длительного применения глюкокортикостероидов;
- лица, находящиеся в больничных, жилых или производственных помещениях с высокой концентрацией *Aspergillus spp.* в воздухе.

Этиологическая лабораторная диагностика включает культуральное исследование, микроскопическое исследование, определение галактоманнана (АГ *Aspergillus spp.*), обнаружение ДНК аспергилл, выявление специфических АТ.

Материал для исследования

- Смывы, соскобы с кожи, биопсийный материал и отделяемое из очагов поражения, мокрота, БАЛ – выявление ДНК;
- кровь, БАЛ, мокрота, биопсийный материал – культуральное исследование;
- БАЛ, мокрота – микроскопическое исследование;
- кровь, БАЛ, СМЖ – определение АГ *Aspergillus* (галактоманнана).

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Культуральное (микологическое) исследование для обнаружения грибов рода *Aspergillus* широко используют в клинической практике ввиду его относительной простоты и низкой стоимости. Для культурального исследования проводят посев крови, БАЛ, мокроты, биопсийного материала. Аспергиллы

неприхотливы в культивировании, растут на агаризованных средах. Определение вида возбудителя аспергиллеза имеет важное клиническое значение в связи с их различной чувствительностью к антимикотикам. Идентификация наиболее клинически значимых видов (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* и *A. terreus*) обычно не вызывает затруднений у специалистов практических лабораторий, однако идентифицировать вид редко встречающихся возбудителей аспергиллеза значительно сложнее, главным образом из-за отсутствия опыта работы с такими грибами. Культуральное исследование имеет низкую чувствительность: среди пациентов, у которых были обнаружены ДНК аспергилл, только 25-50% имели положительный результат культурального исследования. В связи с широким распространением аспергилл в окружающей среде, особенно в воздухе и пыли, результаты выявления ДНК при использовании качественного формата ПЦР-исследования могут быть признаны ложноположительными. Решением данной проблемы может быть использование при диагностике аспергиллеза МАНК в количественном формате.

Исследование образцов биологического материала при применении световой или люминесцентной (флуоресцентной) микроскопии широко распространено в практике лабораторий и зачастую проводится параллельно с культуральным. Результаты микроскопии позволяют подтвердить положительные результаты выявления культуры *Aspergillus* на различных средах. Однако частота обнаружения *Aspergillus spp.* при микроскопии БАЛ у больных с доказанным инвазивным аспергиллезом легких составляет около 50%, поэтому отрицательный результат микроскопии мокроты и БАЛ не исключает наличия у больного инвазивного аспергиллеза.

Определение АГ *Aspergillus* (галактоманнана) методом ИФА в сыворотке крови, БАЛ, СМЖ – распространенный на сегодняшний день метод диагностики аспергиллеза. Чувствительность определения галактоманнана в сыворотке крови при доказанном инвазивном аспергиллезе составляет 71%, специфичность – 89%. Частота ложноположительных результатов при использовании данного теста у больных без инвазивного аспергиллеза составляет 1-18%, поэтому для повышения диагностической специфичности рекомендуется проводить повторное исследование.

Чувствительность и специфичность тестов для определения 1,3-β-D-глюкана (преобладающего компонента клеточной стенки большинства патогенных грибов) у пациентов с инвазивными грибковыми инфекциями составляют 75% и 85% соответственно. Однако следует учитывать, что присутствие 1,3-β-D-глюканов в крови указывает на наличие инвазивной грибковой инфекции, но не является специфичной для грибов рода *Aspergillus*. В клинической практике этот тест используется относительно редко и данные по его применению довольно ограничены.

Выявление специфических АТ в сыворотке крови используется в основном для диагностики аллергического бронхолегочного аспергиллеза и аспергилломы. Для диагностики острого инвазивного аспергиллеза ис-

следование используется редко, в связи с нарушением продукции иммуноглобулинов у пациентов с тяжелыми иммунодефицитами.

В настоящее время разработано много подходов к определению НК *Aspergillus spp.* с помощью молекулярно-биологических методов, описано множество различных мишеней, техник, протоколов. К сожалению, в России пока официально не зарегистрировано ни одного набора реагентов для обнаружения ДНК аспергилл на основе ПЦР. Тесты используются только в рамках научных исследований и недоступны для использования в клинике. Молекулярные методы имеют значительный потенциал в сфере повышения качества лабораторной диагностики инвазивного аспергиллеза. Диагностику инвазивного аспергиллеза необходимо проводить с использованием комплекса методов.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Исследования, основанные на обнаружении НК *Aspergillus spp.*, в настоящее время все шире внедряются для ранней диагностики аспергиллеза. Поскольку возбудителями аспергиллеза является довольно широкий спектр видов, то наиболее простым и удобным для использования в клинической практике является метод мультиплексной ПЦР-РВ. Преимущество такого теста – возможность в одном исследовании одновременно выявлять ДНК нескольких наиболее распространенных видов *Aspergillus*, недостаток – такой подход не позволяет выявлять редких возбудителей аспергиллеза.

В случае идентификации редких возбудителей аспергиллеза используют родо-специфичные праймеры, позволяющие выявлять сразу всех представителей рода *Aspergillus* в одном исследовании. С этой целью проводят амплификацию фрагментов рРНК – кодирующих генов. Методика позволяет в кратчайшие сроки установить факт наличия или отсутствия ДНК аспергилл в образце биологического материала. В случае получения положительного результата проводится секвенирование продуктов амплификации. Такой подход позволяет идентифицировать большой спектр видов аспергилл сразу и имеет большую значимость в свете того, что список патогенных для человека видов постоянно увеличивается. Однако данная технология является трудоемкой и требует наличия сложного дорогостоящего оборудования.

Выбор вида биологического материала для исследования с помощью молекулярно-биологических методов зависит от локализации очага поражения: в случае кожных поражений – смывы, соскобы с кожи, биопсийный материал и отделяемое из очагов поражения; мокрота, БАЛ, биопсийный материал легкого – при легочном аспергиллезе; кровь, отделяемое из очагов поражения, моча, биопсийный материал – при диссеминированном аспергиллезе; СМЖ – при поражении ЦНС. Разные виды биологического материала для исследования имеют свои преимущества и ограничения. При исследовании образцов биологического материала из нестерильных локусов возникают сложности с дифференцированием инвазивной инфекции и поверхностной колонизации. По данным литературы, при исследовании цельной крови, сыворотки и плазмы крови диагностическая

чувствительность обнаружения ДНК методом ПЦР составила 88%, а специфичность – 75%. Чувствительность и специфичность ПЦР-исследования БАЛ составляет в среднем 91% и 92% соответственно, тогда как специфичность исследования мокроты очень низкая в связи с тем, что аспергиллы зачастую колонизируют слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Наибольшей чувствительностью и специфичностью обладает исследование биопсийного материала из очага инфекции, однако проведение инвазивных процедур забора связано с риском возникновения осложнений.

Кандидозы

Кандидозы – группа оппортунистических, преимущественно эндогенных инфекций, вызываемых грибами рода *Candida* – род одноклеточных дрожжевых грибов, относящихся к отделу *Ascomycota*, классу *Saccharomycetes*. В настоящее время ведется пересмотр таксономии дрожжевых грибов с учетом генетических особенностей, в результате чего некоторые виды *Candida* отнесены к семейству *Debaryomycetaceae*, другие же по-прежнему принадлежат *Saccharomycetaceae*.

Кандиды распространены повсеместно, они обитают в почве, на растениях, плодах, некоторые виды являются сапрофитными комменсалами кожи и слизистых оболочек ротовой полости, ЖКТ и гениталий. Всего известно несколько сотен видов *Candida*, из них около 20 видов (в первую очередь, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*), при определенных условиях могут вызывать патологические процессы различной локализации, известные как кандидозы.

Все грибы рода *Candida* являются высшими эукариотами, окрашиваются по Граму положительно, при росте на хромогенных средах образуют пастообразные колонии с характерной окраской. Клетки достигают размеров 6-10 мкм и имеют многослойную клеточную стенку. Многие виды характеризуются полиморфизмом – способностью к гифальному или дрожжевому росту (почкованию) в зависимости от условий культивирования. Например, при температуре тела человека они растут в виде дрожжевых клеток, а на питательных средах (при комнатной температуре) образуют гифы и мицелий. *C. albicans* обладает уникальной способностью к формированию четырех морфологических форм: дрожжевые клетки, гифы, псевдогифы и хламидоспоры (хламидоконидии). Для этого вида также характерно образование герминантных (зародышевых) ростовых трубок, развивающихся из бластоконидий и являющихся предшественниками настоящих гиф. Размножаются *Candida spp.* бесполом путем (анаморфы), для некоторых видов описана половая стадия жизненного цикла (телеоморфы).

Несмотря на то, что представители рода *Candida* обнаруживаются у 20-50% здоровых людей, возможно активное размножение дрожжеподобных грибов, нарушающее баланс микрофлоры и приводящее к развитию

инфекционно-воспалительного процесса. Формы взаимодействия грибов с клетками организма разнообразны – от поверхностной колонизации, не сопровождающейся разрушением клеток организма хозяина, до проникновения грибов в кровоток с развитием кандидемии и/или формированием множественных очагов во внутренних органах.

К поверхностным кандидозам относят инфекции кожи, ее придатков, видимых слизистых оболочек, обусловленных грибами рода *Candida* (орофарингеальный кандидоз, кандидозный вульвовагинит (КВВ), баланопостит, кандидоз кожи, кандидоз ногтей и паронихия). Факторами риска, приводящими к развитию кандидоза, являются врожденные или приобретенные нарушения иммунитета, гормональный дисбаланс, длительное применение антибактериальных препаратов и др.

К глубоким кандидозам (инвазивный кандидоз, ИК) относят кандидемию, острый диссеминированный кандидоз, хронический диссеминированный кандидоз и кандидозное поражение одного органа. Основным проявлением инвазивного кандидоза является кандидемия, однако грибы рода *Candida* могут инфицировать любые органы и системы, попадая туда гематогенным путем либо путем транслокации или инокуляции, например, при травме или медицинских процедурах. В связи с этим кандидемия может сопутствовать или предшествовать инвазивному поражению органов-мишеней, а в некоторых случаях, например, при интраабдоминальном кандидозе отсутствовать. На сегодняшний день основными видами, обуславливающими ИК, являются *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*. В 2009 г. в Японии был выделен новый вид с множественной лекарственной устойчивостью – *Candida auris*. К 2018 году случаи заражения *C. auris* стали широко распространены по всему миру. *C. auris* вызывает внутрибольничные вспышки ИК с высокой летальностью.

Показания к обследованию

При наличии факторов риска кандидоза

- недоношенность новорожденных;
- возраст более 65 лет;
- хронические заболевания (СПИД, сахарный диабет, злокачественные новообразования и др.);
- медицинские манипуляции (эндотрахеальная интубация; оперативное вмешательство, гемодиализ, катетеризация мочевого пузыря, искусственная вентиляция легких, длительное нахождение в отделениях реанимации и интенсивной терапии, полное парентеральное питание);
- лекарственная терапия (применение ингаляционных и системных глюкокортикостероидов, антибактериальных препаратов, иммуносупрессоров и цитостатиков).

При наличии признаков поверхностного кандидоза

- признаки инфекции кожи и ее придатков (легко снимающийся белый

или желтоватый налет творожистого вида, эритема кожи или слизистых под налетом, эрозия, зуд (нередко невыносимый), проксимально-латеральное поражение ногтевой пластинки);

- признаки инфекции слизистых оболочек (симптомы воспалительного процесса нижних отделов урогенитального тракта, патологические выделения из влагалища, дискомфорт в области наружных половых органов, диспареуния, дизурия);
- частый водянистый стул и спастические боли в нижних отделах брюшной полости.

При наличии признаков инвазивного кандидоза

- повышение температуры тела $> 38^{\circ}\text{C}$, рефрактерное к применению антибактериальных лекарственных средств;
- синдром полиорганной недостаточности;
- ДВС-синдром.

Дифференциальная диагностика

Поверхностный кандидоз

- Заболевания полости рта и ротоглотки (стоматит, глоссит, хейлит, гингивит, фарингит) другой этиологии;
- кожные заболевания (красный плоский лишай, лейкоплакия, псориаз, микробная экзема, эритразма, дерматофитии) другой этиологии,
- заболевания урогенитального тракта (урогенитальный трихомониаз, хламидийная, гонококковая инфекция); аэробный вагинит; бактериальный вагиноз; баланопостит, уретриты и др.).

Инвазивный кандидоз

- Заболевания внутренних органов и систем органов другой этиологии (сепсис, цистит, пиелонефрит, эзофагит, гастрит, перитонит, колит, трахеобронхит, пневмония, поражения печени и селезенки, абсцессы почек, эндофтальмит, тромбоз, кардит, миозит, менингит, остеомиелит, артрит и др.)

Этиологическая лабораторная диагностика кандидозов включает визуальное выявление дрожжеподобных грибов с использованием микроскопии, выделение культуры *Candida* с видовой идентификацией, выявление АГ и ДНК *Candida* spp., обнаружение специфических АГ.

Материал для исследований

- Цельная кровь, БАЛ; СМЖ; плевральная, перитонеальная, синовиальная жидкости, отделяемое слизистых оболочек ротоглотки, кожа и ее придатки, моча, отделяемое из дренажей и ран – микроскопическое и бактериологическое исследования;
- отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта, кожа и ее придатки, прямой кишки, – обнаружение и количественное определение ДНК, бактериологическое исследование;

- сыворотка крови – определение АГ, АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторных исследований

Микроскопическое исследование биологического материала является наиболее широко используемым методом диагностики вульвовагинального, орофагингеального, кожного и других поверхностных кандидозов. С этой целью исследуют нативные или окрашенные (по Граму, Романовскому и метиленовым синим) мазки-отпечатки. Недостатком микроскопии является субъективность и возможные ошибки при интерпретации результата, невозможность видовой идентификации, а также низкая диагностическая чувствительность.

Культуральное исследование остается «золотым стандартом» диагностики инвазивных микозов, т.к. обладает рядом преимуществ – позволяет определить вид гриба, провести количественную оценку степени обсемененности и определение чувствительности к антимикотикам, что имеет большую значимость в связи с разной чувствительностью видов *Candida* к антимикотическим препаратам. Однако длительность культурального исследования и высокая стоимость ограничивают применение данного метода. Кроме того, до 50% результатов посева крови могут быть отрицательными в случаях инвазивного кандидоза, а положительный результат посева материала с поверхности слизистых оболочек не обязательно указывает на инвазивное заболевание, поскольку может являться свидетельством поверхностной колонизации.

Культуральное исследование целесообразно проводить в случае рецидивирующего КВВ или при отсутствии ответа на назначенную терапию, при первичном обращении, в случае же обнаружения дрожжевых грибов при микроскопии или молекулярно-биологическими методами, культуральное исследование излишне. ДЧ метода составляет 90-95%.

Лабораторные исследования, основанные на выявлении антигенов маннана и 1,3 β -D-глюкана (основных компонентов клеточной стенки грибов *Candida spp.*) используются сравнительно редко, в первую очередь для диагностики глубокого инвазивного кандидоза и кандидемии.

Для обнаружения в крови АГ разработаны и доступны для использования наборы реагентов (маннан – методы ELISA, латекс-агглютинация, ИФА, 1,3 β -D-глюкан – методы с использованием хромогенов). По оценкам некоторых исследований, диагностическая чувствительность и специфичность определения маннана для диагностики инвазивного кандидоза у пациентов с гематологическими заболеваниями в отделениях реанимации и интенсивной терапии составили 58% и 93% соответственно. При определении 1,3 β -D-глюкана у пациентов в критическом состоянии ДЧ исследования составила 77%, ДС – 85%. В последние годы в диагностике глубокого кандидоза используется газожидкостная хроматография, определяющая компоненты клеточной стенки грибов – D-маннозу и арабинитол.

Определение специфических АТ малоэффективно в связи с распро-

страненным носительством грибов рода *Candida*. Для исследования используют методы иммунопреципитации, ИФА, латекс-агглютинации. Необходимо помнить, что диагностика, основанная на обнаружении АТ в крови, может быть затруднена у пациентов с иммунодефицитами. Чувствительность и специфичность тестов, основанных на определении АТ к маннану, составляют 59% и 83% соответственно. Сочетание двух подходов – определения АГ кандид (маннана) и АТ к нему позволяет повысить чувствительность и специфичность до 83% и 86%.

Выявление ДНК молекулярно-биологическими методами все чаще применяется в клинической практике в диагностике поверхностных и глубоких микозов. С этой целью разработаны многочисленные тесты «*in house*» и серийно выпускаемые наборы реагентов на основе ГиФА, всевозможных вариантов ПЦР (nested-ПЦР, мультиплексная ПЦР в качественном и количественном форматах с различными вариантами детекции продуктов амплификации (ЭФ, РВ, FEP), HRM-анализ, ПДРФ-анализ, RAPD, пиро-секвенирования различных генов и др.

Большинство зарубежных серийно выпускаемых МАНК-тестов для диагностики инвазивных микозов продемонстрировали высокую диагностическую чувствительность (80-99%) и специфичность (87,5-99,9%). Однако не существует ни одного МАНК-теста российского производства, рекомендованного и валидированного для диагностики инвазивных микозов, хотя и предпринимаются попытки использовать с этой целью наборы реагентов, предназначенные для диагностики поверхностных кандидозов.

Что касается диагностики поверхностных кандидозов, в первую очередь, КВВ, в России ситуация более благоприятная – все российские серийно выпускаемые МАНК-тесты имеют регистрационное удостоверение и могут применяться с этой целью. Молекулярно-биологические тесты обладают большей чувствительностью в сравнении с классическими лабораторными методами диагностики КВВ. Однако при выборе МАНК необходимо учитывать особенности молекулярной диагностики КВВ:

- ПЦР без количественной оценки ДНК не информативна. Большинство серийно выпускаемых наборов реагентов, используемых в РФ, направлены на выявление ДНК *S. albicans* без количественной оценки. Однако грибы рода *Candida* относятся к сапрофитам и могут в низкой концентрации присутствовать на поверхности кожи и слизистых оболочек, а развитие манифестной формы кандидоза может происходить при концентрации *Candida* начиная с 10^2 ГЭ/мл. При концентрации *Candida* менее 10^2 ГЭ/мл и наличии признаков воспаления необходимо исключить иную этиологию вагинита (аэробный, трихомонадный, аллергический). Следует помнить также, что кандидоносительство – резервуар для развития манифестной формы кандидоза при благоприятных условиях.
- Суммарное определение всех видов *Candida* (*Candida sp.*) избыточно. Виды *Candida*, не приводящие к развитию КВВ, широко распростра-

нены в природе и обнаруживаются в т.ч. на коже, а потому возможно получение «ложноположительных» результатов исследования и некорректное назначение антимикотических препаратов. Целесообразно выявлять только клинически значимые виды *Candida*.

- Определение только *C. albicans* недостаточно, так как *non-albicans* виды *Candida* могут обнаруживаться при осложненных формах кандидозов и более устойчивы к азоловым препаратам.

Показания к применению различных лабораторных исследований

В случае поверхностных кандидозов наиболее целесообразно количественное определение *Candida* видов *albicans* и *non-albicans* (*C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*). Такой подход позволит определять степень обсемененности и может использоваться при рецидивирующих формах КВВ для установления его этиологии и выбора тактики лечения, т.к. профиль чувствительности к антимикотикам установлен для отдельных видов *Candida*.

Лабораторная диагностика ИК достаточно затруднительна, поскольку существующие в настоящее время культуральные и некультуральные методы диагностики ИК недостаточно чувствительны и специфичны, требуют длительного времени для получения результата, причем большинство из них в настоящее время недоступны в РФ. Основным методом лабораторной диагностики ИК является бактериологическое исследование – посев крови и других стерильных в норме субстратов с дальнейшим определением вида гриба с использованием автоматических бактериологических анализаторов, зарегистрированных в РФ наборов реагентов или методом MALDI-TOF MS. Ежедневно следует проводить от 2-х до 4-х посевов крови. Обязательное определение чувствительности выделенных изолятов грибов к антимикотическим препаратам необходимо проводить с использованием автоматических бактериологических анализаторов или зарегистрированных в РФ наборов реагентов для определения чувствительности грибов к антимикотическим препаратам. Рутинное микроскопическое исследование обязательно для образцов, полученных из стерильных в норме локусов и БАЛ у пациентов с иммуносупрессией, и должно предшествовать видовой идентификации *Candida*. Для определения степени поверхностной колонизации рекомендуется проводить микроскопию биосубстратов (материал из зева, моча, отделяемое из дренажей и ран и др.). Совместное определение маннана и антиманнановых антител в сыворотке крови является вспомогательным методом диагностики. Для повышения эффективности необходимы повторные исследования.

Криптококкоз

Криптококкоз – оппортунистический микоз, вызываемый микроорганизмами рода *Cryptococcus*. Известно более 30 видов рода *Cryptococcus*, но

патогенными для человека являются представители только *Cryptococcus neoformans species complex*. Криптококки представляют собой дрожжеподобные клетки сферической или овальной формы размером чаще всего 5-8 мкм. Природный источник *C. neoformans* – почва, содержащая помет голубей, реже – гниющие овощи, фрукты, растения. Инфицирование человека от животных, также как передача возбудителя от человека человеку (за исключением случаев пересадки зараженных органов) не доказаны. Основной путь передачи – воздушно-пылевой, возможно заражение через поврежденную кожу или слизистые оболочки. Чаще всего входными воротами инфекции являются легкие. Проникшие в легкие криптококки (обычно мелкие бескапсульные формы, достигающие альвеол) создают первичный очаг инфекции, откуда возбудители могут разноситься гематогенным путем в другие органы и ткани. Имеются данные, что у людей без нарушений иммунитета криптококки могут находиться в неактивной форме в легких неопределенно долго, а активация латентной инфекции происходит только при неблагоприятных условиях.

Инкубационный период заболевания составляет от нескольких дней до нескольких месяцев. Клинические проявления зависят от локализации поражений и выраженности иммунодефицита. *C. neoformans* является одной из основных причин поражений ЦНС у пациентов с иммунодефицитами. Заболевание возникает преимущественно у больных с Т-клеточным иммунодефицитом. Самая частая клиническая форма – менингит (до 90% всех случаев криптококкоза), который развивается у 2,0-7,5% больных СПИДом. Заболевание обычно носит генерализованный характер. Кроме ЦНС, возбудитель поражает легкие и кожу, реже – другие органы (костный мозг, лимфатические узлы, печень, почки, надпочечники, суставы, миокард, перикард, селезенку). Приблизительно у 50% больных ВИЧ-инфекцией, страдающих криптококковым менингитом, развивается криптококковая пневмония. Описаны случаи бессимптомного течения болезни. Криптококковая инфекция у лиц с нормальным иммунным статусом во многих случаях самоэлиминируется, выявляясь в основном при профилактическом рентгенологическом исследовании в виде остаточных явлений в легких. Исключение составляет криптококковый менингит, который при несвоевременных диагностике и лечении заканчивается летальным исходом, либо оставляет резидуальные изменения. По расчетным данным, опубликованным в 2017 году, в мире насчитывается более 200 тысяч случаев криптококкового менингита в год. При отсутствии лечения летальность при криптококковом менингите у больных СПИДом достигает 100%. Ежегодные смертельные исходы криптококкового менингита оцениваются в 181 100 случаев, большая часть из которых происходит в странах Африки к югу от Сахары.

Факторы риска развития криптококкоза: иммунодефицитные состояния, связанные с ВИЧ-инфекцией, длительным применением глюкокортикоидов и иммуносупрессоров, трансплантацией органов и тканей, некото-

рыми гемобластозами (острый лимфобластный лейкоз, лимфома). Риск заболевания подвержены также люди с декомпенсированным сахарным диабетом, печеночной и почечной недостаточностью, саркоидозом, коллагенозами. Клинические признаки инфекции часто неспецифичны, что определяет важность лабораторной диагностики.

Показания к обследованию

- Больные ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях болезни (количество CD4+ лимфоцитов менее 200 клеток/мл);
- лица с иммунодефицитными состояниями другой природы с признаками поражения ЦНС или пневмонией.

Дифференциальная диагностика

Токсоплазмоз, лимфома, прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия, ЦМВИ, туберкулез, пневмоцистоз, саркоидоз; менингиты, обусловленные вирусами *HSV*, *VZV*, микромицетами *Aspergillus* и др. Кожные проявления дифференцируют с угрями, базальноклеточной карциномой, саркоидозом, контагиозным моллюском.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное выявление микроорганизма с использованием микроскопии, посев биологического материала с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией патогена, выявление АГ или ДНК *C. neoformans*.

Материал для исследования

- СМЖ, биоптаты костного мозга, мокрота, БАЛ, материал из очагов поражения кожи, кровь – микроскопические исследования, выявление АГ, выявление ДНК, посев с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией патогена;
- сыворотка крови – определение АГ, выявление АГ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики, показания к применению различных лабораторных исследований и особенности интерпретации их результатов

При визуальном выявлении *C. neoformans* методом микроскопии для окраски препаратов используют разные способы: окраска по Граму, нигрозином или тушью по Бурри, муцикармином или конго красным. Клетки криптококков диаметром 4-12 мкм располагаются преимущественно в макрофагах. Диагностическая чувствительность микроскопического исследования СМЖ с окраской тушью по Бурри составляет 40-70%. При микроскопии на темном фоне под большим увеличением наблюдают почкующиеся клетки криптококка, окруженные светлым ободком. Размер капсулы различается в зависимости от штамма и состояния иммунной системы организма. У ВИЧ-инфицированных в стадии СПИД встречаются бескапсульные формы или клетки с истонченной капсулой. При использовании микроскопии для истинной идентификации *C. neoformans* необходимы высококвалифицированные специалисты лабораторной диагностики.

Для выявления *C. neoformans* используют посев с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя, исследованием чувствительности штаммов к антимикотическим препаратам. На стандартных средах колонии *C. neoformans* обычно выявляют через 3-10 дней. Диагностическая чувствительность при выявлении возбудителя в СМЖ составляет 50-70%. По литературным данным, первичная резистентность *C. neoformans* к азоловым антимикотикам встречается редко, однако возможно появление вторичной резистентности при длительной терапии. Поэтому для пациентов, длительно принимающих антифунгальные препараты, рекомендуется забор материала с целью получения роста культуры с обязательной оценкой ее чувствительности до начала антимикотической терапии.

В целях экспресс-диагностики криптококкоза используют определение АТ и АГ. Исследование сыворотки крови для определения АГ криптококка является скрининговым методом диагностики, так как не всегда возможно провести пункцию спинного мозга для получения ликвора. Для выявления АГ применяют РА. Ложноположительные результаты определения возможны при развитии злокачественных новообразований, высоком уровне ревматоидного фактора в крови, а также при инфекциях, обусловленных *Trichosporon spp.*, *Capnocytophaga canimorsus* и *Stomatococcus mucilaginosus*. Определение АГ криптококков не является методом оценки эффективности лечения в связи с его длительным персистированием в СМЖ и сыворотке крови даже при успешном лечении. Для определения специфических АТ к *C. neoformans* (суммарных или отдельных классов) применяют методы ИФА и РНИФ. Титры АТ при криптококкозе бывают достаточно высокими – 1:1000 и выше. У больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции с выраженным иммунодефицитом (СПИД) определение АТ не всегда бывает эффективным.

Высокую диагностическую значимость имеет обнаружение ДНК криптококка методом ПЦР в СМЖ и других биологических жидкостях. Выявление специфического фрагмента ДНК *C. neoformans* позволяет при однократном тестировании подтвердить клинический диагноз криптококкоза. Метод ПЦР позволяет выявлять как капсулированные, так и бескапсульные формы ДНК *C. neoformans*. Для мониторинга эффективности проводимой этиотропной терапии возможно применение ПЦР для определения концентрации ДНК возбудителя.

Необходимо отметить, что при применении бактериологических исследований для обнаружения криптококка или выявления ДНК микроорганизма выбор биологического материала для исследования зависит от локализации очага инфекционного процесса. При церебральном криптококкозе, криптококковом менингите и менингоэнцефалите исследуют СМЖ; при легочной локализации – мокроту, БАЛ; при кожном криптококкозе – материал из очага поражения. Аутопсийный материал также забирают из очага поражения.

Пневмоцистоз

Пневмоцистоз – оппортунистическая инфекция, вызываемая внеклеточным возбудителем *Pneumocystis jirovecii*. На сегодня микроорганизм *P. jirovecii* относят к царству грибов. Различают 2 фазы жизненного цикла пневмоцисты: половая и бесполовая и три основные морфологические формы: трофозоит, циста и спорозоит. *P. jirovecii* обладает выраженным тропизмом к легочной ткани. Весь свой жизненный цикл пневмоциста проходит в альвеоле, плотно прикрепляясь к ее стенке. Воздействие трофозоида *P. jirovecii* на стенку альвеол человека вызывает ее утолщение, развитие альвеолярно-капиллярного блока, что приводит к тяжелой гипоксии. Так как чаще всего страдают легкие, обычно говорят о пневмоцистной пневмонии, но пневмоцисты могут поражать и другие органы.

Пневмоцистоз характеризуется повсеместным распространением. Источником возбудителя выступает не только человек, но и домашние и сельскохозяйственные животные, а также грызуны. В структуре вторичных заболеваний в РФ и в Московском регионе в последние годы пневмоцистная пневмония занимает третье место вместе с ЦМВИ и токсоплазмозом головного мозга после туберкулеза и тяжелых проявлений кандидозной инфекции.

Основной механизм передачи *P. jirovecii* – аэрогенный. Входными воротами инфекции являются дыхательные пути. Описаны единичные случаи трансплацентарной передачи пневмоцист. Известны вспышки пневмоцистной пневмонии в пределах одного больничного отделения, в домах ребенка. Дети старшего возраста и взрослые заболевают пневмоцистозом преимущественно при иммунодефицитных состояниях. Заболевание может развиваться у недоношенных детей. Пневмоцистная пневмония является частым осложнением у больных гемобластозами, реже у больных солидными опухолями. Применение иммуносупрессивной терапии у реципиентов при трансплантации органов также может привести к развитию пневмоцистоза. У здоровых людей пневмоцистоз – достаточно редкое заболевание. У детей раннего возраста болезнь протекает как классическая интерстициальная пневмония с четким соответствием стадиям патологического процесса. Пневмоцистоз у детей может протекать также под маской острого ларингита, обструктивного бронхита или бронхиолита. На фоне грубого нарушения клеточного иммунитета пневмоцистоз может проявляться не только поражением легких, но и надпочечников, щитовидной железы, печени, селезенки, ЖКТ, сердца, кожи, а также могут развиваться отиты, мастоидиты и гаймориты пневмоцистной этиологии.

Пневмоцистная пневмония регистрируется приблизительно у 25% больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, не получавших профилактическое лечение и антиретровирусную терапию. У подавляющего числа пациентов пневмоцистная пневмония развивается при количестве CD4-

лимфоцитов в крови менее 200 клеток в мкл. Возможно развитие нескольких оппортунистических заболеваний одновременно. Часто регистрируется сочетание пневмоцистной пневмонии с туберкулезом и ЦМВИ.

Наиболее ранним признаком пневмоцистной пневмонии является одышка, появляющаяся при умеренной нагрузке, а впоследствии и в покое. Кашель при прогрессировании заболевания становится постоянным, отмечается снижение аппетита, бледность, тахикардия, потеря веса, ночная потливость. У детей до года заболевание может протекать не только как интерстициальная пневмония, но и в виде ларингита, обструктивного бронхита или бронхолита, у детей старше года – как астматический бронхит. При развитии отека легких возможен летальный исход заболевания в результате острой дыхательной недостаточности, связанной с резким нарушением вентиляции легких и газообмена. При длительном рецидивирующем течении (при неадекватной терапии) у больных с выраженным иммунодефицитным состоянием возможно развитие полостей в легких. Любые диагностические и лечебные манипуляции в разгар болезни (получение индуцированной мокроты, бронхоскопия, установка подключичного катетера и пр.) и даже изменение положения тела больного могут привести к спонтанному пневмотораксу.

В большинстве случаев при пневмоцистозе рентгенологическая картина не имеет характерных особенностей и характеризуется как двустороннее симметричное поражение легких (описано как «завуалированные», «ватные» легкие). У 10% больных СПИДом при явной клинике пневмоцистной пневмонии рентгенологические изменения отсутствуют. Пневмоцистная пневмония не имеет патогномичных симптомов, в связи с чем крайне важна лабораторная диагностика.

Показания к обследованию

- Пациенты с количеством CD-4 лимфоцитов ниже 200 клеток/мкл;
- наличие выраженной легочной патологии у лиц следующих категорий:
 - пациенты с иммунодефицитом различной природы;
 - дети: недоношенные, ослабленные новорожденные, раннего возраста с гипогаммаглобулинемией, гипотрофией и рахитом;
 - больные лейкозом, онкологические больные;
 - реципиенты органов, получающие иммунодепрессанты;
 - больные туберкулезом;
 - больные ЦМВИ;
 - больные ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях болезни, имеющие признаки дыхательной недостаточности;
 - больные, длительно получающие стероидную терапию;
 - пациенты с лучевой болезнью.

Дифференциальная диагностика

Туберкулез, микоплазменная инфекция, кандидозная, криптококковая, цитомегаловирусная пневмония, токсоплазмоз, гистоплазмоз, легочная

форма криптоспоридиоза, фиброзирующий альвеолит, саркома Капоши.

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное выявление возбудителя при использовании микроскопии, обнаружение его АГ или ДНК, определение специфических АТ.

Материал для исследования

- Мокрота, индуцированная мокрота, БАЛ, биоптаты легочной ткани, аспираты из трахеи, смывы и мазки из ротоглотки – микроскопические исследования, выявление ДНК, выявление АГ;
- сыворотка крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики, показания к применению различных лабораторных исследований

В диагностике легочного пневмоцистоза основную роль играют микроскопия окрашенных мазков и гистологическое исследование, выявление АГ и ДНК микроорганизма. Рутинные методы обнаружения специфических АТ малопригодны из-за выраженного иммунодефицита большинства пациентов.

Наиболее часто используемым в рутинной лабораторной диагностике пневмоцистной пневмонии является микроскопическое исследование окрашенных мазков, мазков-отпечатков препаратов различного биологического материала: мокрота, индуцированная мокрота, БАЛ, биоптаты, у детей раннего возраста – аспираты из трахеи, смывы и мазки из ротоглотки. Выбор метода окрашивания и типа исследуемого биологического материала во многом влияет на достоверность результатов анализа. При окрашивании соответствующих препаратов с целью выявления *P. jirovecii* используют классические методы, подразделяемые на две группы. Первая группа методов позволяет дифференцировать внутреннюю структуру клетки без окрашивания оболочки (окраска по Романовскому, по Граму и др.). Такое окрашивание предназначено для проведения скринингового исследования, требующего дополнительной верификации. При использовании второй группы методов (импрегнация метенамин-серебряным нитратом по Гомори, окраска толуидиновым синим и др.) визуализируется клеточная стенка возбудителя без определения внутренней структуры. Наиболее универсальным способом окрашивания препаратов биологического материала, позволяющим выявлять все морфологические формы пневмоцист, является окраска по Романовскому-Гимзе.

Диагностическая чувствительность микроскопического исследования индуцированной мокроты гораздо выше, чем при исследовании свободно отделяемой мокроты. К несомненным достоинствам процедуры получения образца относятся: отсутствие необходимости проведения инвазивных медицинских манипуляций, легкость выполнения и низкая себестоимость. Однако при выборе данного вида биологического материала следует учитывать, что эффективность выявления *P. jirovecii* в индуцированной мокроте у больных, неинфицированных ВИЧ, значительно ниже, чем у пациентов

с ВИЧ-инфекцией. При отрицательном результате тестирования препаратов индуцированной мокроты рекомендуют исследование БАЛ, диагностическая чувствительность возрастает при исследовании двустороннего БАЛ по сравнению с односторонним. Комплексное исследование трансbronхиального биоптата и БАЛ позволяет обнаружить пневмоцисты практически в 100% случаев. При исследовании трансbronхиального биоптата (содержащего не менее 25 неповрежденных альвеол), полученного при проведении фибробронхоскопии, диагностическая чувствительность составляет 66-98%. Для пациентов, которым по той или иной причине противопоказано проведение трансbronхиальной биопсии при прогрессирующем течении заболевания, возможно получение исследуемого материала с помощью чрезкожной интраторакальной аспирации. Метод открытой биопсии легкого дает наилучшие (100%) результаты, но применяется в крайне редких случаях, когда невозможно установить диагноз другим способом.

Выявление АГ *P. jirovecii* с использованием метода РИФ (РНИФ) проводят в мазках различного биологического материала: мокрота, индуцированная мокрота, БАЛ, биоптаты; у детей раннего возраста – аспираты из ротоглотки и трахеи, смывы и мазки из ротоглотки.

Наиболее перспективным при диагностике пневмоцистоза представляется определение концентрации ДНК *P.jirovecii* в образцах мокроты, индуцированной мокроты, БАЛ, биоптатах, аспиратах из трахеи, смывах и мазках из ротоглотки. Диагностическая чувствительность выявления ДНК *P. jirovecii* методом ПЦР при исследовании образцов индуцированной мокроты у пациентов с лабораторно подтвержденной пневмоцистной пневмонией составляет около 100%. Исследование отделяемого респираторного тракта методом ПЦР имеет существенные преимущества по сравнению с другими методами. Внедрение молекулярно-биологических методов позволит точно и быстро диагностировать инаппарантные, атипичные и стертые формы пневмоний.

Выявление специфических АТ IgG и IgM к *P. jirovecii* в крови играет роль при эпидемиологических исследованиях, оценке течения латентной инфекции или невозможности проведения лабораторных исследований других видов биологического материала. Для определения АТ IgG и IgM к *P. jirovecii* используют методы РНИФ и ИФА. Определение АТ необходимо проводить в динамике, для исследования отбирают образцы крови, взятые с интервалом 14 дней. У больных с иммунодефицитами определение АТ не информативно.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Результаты лабораторных исследований должны быть сопоставлены с клиническими данными. При выраженных клинических проявлениях легочной патологии обнаружение АГ или ДНК *P.jirovecii* в биологическом материале из респираторного тракта (БАЛ, мокрота, индуцированная мокрота, аспират трахеи, биоптаты легочной ткани) является лабораторным подтверждением диагноза «пневмоцистоз».

При обнаружении АГ или ДНК *P. jirovecii* в биологическом материале из респираторного тракта при отсутствии клинических симптомов назначение профилактики необходимо рассматривать в случае снижения у пациента числа CD4 лимфоцитов ниже 200 клеток/мкл.

Выявление 4-х кратного нарастания титра/уровня АТ IgG и/или выявление АТ IgM к *P. jirovecii* говорит об остром инфекционном процессе, вызванном этим возбудителем. Обнаружение только АТ IgG без увеличения титра во втором образце не может быть подтверждающим результатом и указывает только на наличие анамнестических АТ. Следует учитывать, что АТ IgG к АГ пневмоцисты среди здорового населения выявляют в 60-80%.

Литература

1. Атлас грибковых заболеваний/Под ред. К.К. Кауфман, Дж.Л. Манделла; Перевод с англ. под ред. Ю.В. Сергеева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 133-159.
2. Боровицкий В.С. Пневмоцистная пневмония. Этиология, патогенез, клиника, дифференциальная диагностика, лечение // Проблемы медицинской микологии. – 2012. – №1. – С. 13-20.
3. Винокурова И.О. Дифференциальная диагностика аспергиллезной пневмонии по данным клинико-лабораторно-рентгенологического исследования // Всероссийский междисциплинарный медицинский журнал. – 2011. – № 3-4. – С. 44-47.
4. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские рекомендации // Под ред. Климко Н.Н. – 2015. – С. 82-93.
5. Ермак Т.Н., Самитова Э.Р., Токмалаев А.К. и др. Современное течение пневмоцистной пневмонии у больных ВИЧ-инфекцией // Терапевтический архив. – 2011. – №11. – С. 19-24.
6. Ермак Т.Н., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Криптококкоз // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. – М.: Бином, 2013. – С. 175-177.
7. Ермак Т.Н., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Пневмоцитоз // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Ред. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. М.: Бином, 2013. – С. 220-224.
8. Каражас Н.В. Пневмоцистоз // Современное состояние проблемы // Альманах клинической медицины. – 2010. – № 23. – С. 49-55.
9. Ковалева Е.П., Ермак Т.Н. Эпидемиология и профилактика пневмоцистоза как оппортунистической инфекции // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2007. – №6. – С. 10-13.
10. Кулько А.Б., Иванушкина Н.Е. Редко встречающиеся возбудители аспергиллёза: видовой состав, особенности идентификации, чувствительность к противогрибковым препаратам in vitro // Успехи медицинской микологии. – 2013. – №11. – С. 22-25.
11. Матосова С.В., Шипулина О.Ю. *Aspergillus spp* // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: Рипол Классик. – 2018. – С. 601-607.
12. Матосова С.В., Шипулина О.Ю. *Cryptococcus neoformans* // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под редакцией. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина – М.: РИПОЛ классик, 2018. – С.616-621.
13. Матосова С.В., Шипулина О.Ю. *Pneumocystis jirovecii* // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под редакцией. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А.

- Шипулина – М.: РИПОЛ классик, 2018. – С. 621-626 .
14. Российские национальные рекомендации. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии/Под ред. Н. Н. Климов. – Москва, 2010. – С. 68-75.
 15. Самитова Э.Р., Ермак Т.Н., Колтунов И.Е. Внутриутробная пневмоцистная инфекция // Терапевтический архив. – 2016. – №11. – С. 99-102.
 16. Самитова Э.Р., Ермак Т.Н., Токмалаев А.К. и др. Диагностика пневмоцистной пневмонии у больных ВИЧ-инфекцией // Инфекционные болезни. – 2007. – № 4. – С. 66-68.
 17. Самсонова М.В., Кудрявцев Ю.В., Черняев А.Л. Пневмоцистная пневмония // Архив патологии. – 2012. – №3. – С. 30-32.
 18. Сафонова А.П., Шипулина О.Ю., Шахгильдян В.И. и др. Молекулярная диагностика пневмоцистной пневмонии у ВИЧ-инфицированных больных с легочной патологией // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – №3. – С. 58-60.
 19. Сафонова А.П., Волкова О.Е., Скачкова Т.С и др. Прогностическое значение молекулярно-биологических методов в диагностике церебрального криптококкоза // Молекулярная диагностика. Сборник трудов. Под редакцией В.И. Покровского. – 2014. – С. 78-79.
 20. Arvanitis M., Mylonakis E. Diagnosis of invasive aspergillosis: recent developments and ongoing challenges // Eur J Clin Invest. – 2015. – Vol.45. – P. 646-652.
 21. Barton R.C. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis: from diagnosis to prediction of outcome // Scientifica(Cairo). – 2013:459405<http://dx.doi.org/10.1155/2013/459405> (дата обращения 30.04.2020).
 22. Borui P., Dongliang Y., Fangwei D. et al. A genomics based discovery of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in *Aspergillus ustus* // PLoS One. 2015 Feb 23;10(2):e0116089. doi: 10.1371/journal.pone.0116089 (дата обращения 10.04.2020).
 23. Denning D., Kibbler C., Barnes R. British Society for Medical Mycology proposed standards of care for patients with invasive fungal infections // Lancet Infect Dis. – 2003. – Vol.3. – P. 230-240.
 24. Diagnosis of fungal infections/Ed. Maertens J., Marr K.- Informa Healthcare, 2007. – P. 69-71.
 25. Edman J., Kovacs J., Masur H. et al. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi // Nature. – 1988. – Vol. 334. – P. 519-522.
 26. Karageorgopoulos D., Vouloumanou E., Ntziora F. et al. beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis // Clin Infect Dis. – 2011. – Vol.52. – P. 750-770.
 27. Mengoli C., Cruciani M., Barnes R. et al. Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis // Lancet Infect Dis. – 2009. – Vol.9. – P. 89-96.
 28. O'Halloran J., Powderly W., Spec A. Cryptococcosis Today: It Is Not All About HIV Infection // Curr Clin Micro Rpt. –2017. – Vol.4. – P. 88-95.
 29. Pfeiffer C., Fine J., Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay:a meta-analysis // Clin Infect Dis. – 2006. – Vol.42. – P. 1417-1427.
 30. Rajasingham R., Smith R., Benjamin J. et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis // Lancet Infect Dis. –2017. – Vol.17. – P. 873-881.
 31. Richardson M., Hope W. *Aspergillus* // Clinical Mycology. – Elsevier, 2009. – P. 271-296.
 32. Stevens D., Kan V., Judson M. et al. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus* // Clin Infect Dis. – 2000. – Vol.30. – P. 676-709.
 33. Stringer J., Beard C., Miller R., Wakefield A. A new name (*Pneumocystis jirovecii*) for pneumocystis from humans // Emerging Infectious Diseases. – 2002. – Vol.8. – P. 641-651.
 34. Summah H., Zhu Y., Falagas M. et al. Use of real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* in immunocompromised patients: a meta-analysis // Med J (Engl). – 2013. – Vol. 126. – P. 1965-1973.
 35. Sun W, Wang K, Gao W et al. Evaluation of PCR on bronchoalveolar lavage fluid for di-

- agnosis of invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review // PLoS One.2011;6(12):e28467. doi: 10.1371/journal.pone.0028467.
36. Tlamcani Z. Cryptococcosis infection among HIV patients // Asian Pacific Journal of Tropical Disease. –2016. – Vol. 6. – P. 489-491.
37. World Health Organization. Rapid advice: diagnosis, prevention and management of Cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children. World Health Organization, Geneva (Switzerland). – 2011.

■ Острые инфекции дыхательных путей

Острые инфекции дыхательных путей или острые респираторные инфекции (ОРИ) своей распространенностью значительно превосходят другие инфекционные болезни. Дети дошкольного возраста болеют ОРИ, в среднем, 4-8 раз в год, школьники – 2-6 раз в год, взрослые – 2-3 раза в год. У часто болеющих детей эпизоды ОРИ регистрируются от 10 до 12 раз в год.

ОРИ могут затрагивать только верхние дыхательные пути (ларингит, круп, ларинготрахеит, трахеит), только нижние дыхательные пути (бронхит, бронхиолит, пневмония), сочетанные поражения верхних и нижних дыхательных путей, либо вызывать генерализованную инфекцию (сепсис). ОРИ протекают в легкой, в среднетяжелой и в тяжелой формах.

ОРИ могут вызвать вирусы, бактерии и грибы, однако эпидемиологические исследования свидетельствуют о более широкой распространенности ОРИ вирусной этиологии (ОРВИ). Среди возбудителей ОРВИ наибольшее эпидемиологическое и клиническое значение имеют 20 видов вирусов, относящихся к семи семействам: РНК-содержащие вирусы (ортомиксовирусы, пневмовирусы, парамиксовирусы, коронавирусы и пикорнавирусы) и ДНК-содержащие вирусы (аденовирусы, парвовирусы).

В этиологической структуре ОРИ бактериальной природы, преимущественно затрагивающих нижние дыхательные пути, преобладают *Streptococcus pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*. Реже встречаются ОРИ, вызванные *Chlamydomphila (Chlamydia) pneumoniae*. Особое значение, обусловленное уникальными путями передачи возбудителя и способностью вызывать групповые заболевания, имеет *Legionella pneumophila*.

Коклюш в катаральном периоде и катаральная форма дифтерии протекают с симптомами ОРИ без характерных клинических признаков, что вызывает трудности клинической диагностики и приводит к необходимости прибегать к дифференциальной лабораторной диагностике. Описаны случаи бронхиолитов у детей младшего возраста, вызванные возбудителем коклюшной инфекции, который в ряде случаев обнаруживались в ассоциации с респираторными вирусами.

По оценкам исследователей из США, число случаев ОРИ (включая острый

бронхит), вызванных *Bordetella pertussis*, за 2006-2010 гг. составило в среднем 202 на 100 000 лиц в возрасте 50-64 лет, что в десятки раз превышало зарегистрированную заболеваемость коклюшем в стране. По данным мета-анализа, включавшего исследования многих стран мира, у пациентов с длительным кашлем, обследованных при оказании первичной медицинской помощи, доля коклюша составила 12,4% (95% ДИ, 4,9% -19,8%), и была еще выше в исследованиях, включавших только детей (17,6%; 95% ДИ, 3,4% – 31,8%).

Следует принимать во внимание, что пневмонии могут развиваться вследствие инфицирования возбудителями особо опасные и природно-очаговых инфекций (орнитоз, Ку-лихорадка, легочная форма сибирской язвы, туляремия и др.), в связи с чем необходимо тщательно собирать и анализировать эпидемиологический анамнез. У лиц со сниженной активностью иммунной системы, ОРИ могут вызывать также энтеровирусы, вирусы герпеса, в том числе цитомегаловирус, а также грибы – кандиды, аспергиллы, криптококки, пневмоцисты. Дифференциальная диагностика гриппа и ОРИ другой этиологии возможна только с помощью лабораторных методов исследования.

Общими показаниями для лабораторного обследования с целью определения этиологии ОРИ является наличие у пациента остро возникшего заболевания с симптомами поражения дыхательных путей при наличии общеинтоксикационного синдрома.

Острые инфекционные болезни дыхательных путей необходимо дифференцировать от других заболеваний/состояний неинфекционной природы (аллергия, тромбоэмболия легочной артерии, эндокардит трикуспидального клапана, облитерирующий бронхолит, системные васкулиты, инфаркт легкого, легочная эозинофилия и пр.) на основании результатов клинического, рентгенологического и лабораторного обследований.

Лабораторные исследования, применяемые с целью этиологической диагностики инфекций верхних и нижних дыхательных путей, включают прямые (получение чистой культуры возбудителя, его генома и АГ) и косвенные (обнаружение АТ) методы диагностики.

Лабораторный метод выбирается в зависимости от решаемой задачи, ценность метода различается в зависимости от того, из какого локуса организма больного отобран биологический материал. Некоторые методы, такие как микроскопия (бактериоскопия) окрашенного по Граму мазка мокроты (крови, СМЖ, плевральной жидкости, синовиальной жидкости), относятся к простым ускоренным методам и позволяют определить лишь доминирующий морфотип потенциального бактериального патогена и оценить качество мокроты. Целью исследования материала из нестерильных локусов – мокрота, БАЛ, отделяемое из уха или придаточных пазух, служит определение его пригодности для бактериологического посева и определение характера воспаления. Критерием пригодности мокроты для бактериологического посева служит наличие менее 10 эпителиальных кле-

ток и более 25 нейтрофильных лейкоцитов в поле зрения. Бактериоскопия мазков из носо- и ротоглотки не информативна, поэтому не проводится.

Культуральный метод (бактериологический посев) применяется для выделения и биохимической идентификации чистой культуры патогена, определения чувствительности к антибактериальным препаратам. В клинической практике метод используют для выявления бактериальных возбудителей ОРИ (*Streptococcus pneumoniae* и др.) за исключением *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydomphila pneumoniae*. Показанием для бактериологического посева крови служит пневмония, септические состояния, менингит. Метод позволяет обнаруживать возбудитель не более чем у 10-20% госпитализированных больных внебольничной пневмонией.

Среди вирусных возбудителей ОРИ выделение в культуре возможно для вирусов гриппа А и В, респираторно-синцитиального вируса, вирусов парагриппа, аденовирусов, некоторых риновирусов, метапневмовируса, однако как рутинная процедура данный метод используется только для вирусов гриппа. Исследование характеризуется достаточно большой продолжительностью, но незаменимо при необходимости детального изучения патогенности, чувствительности к антимикробным препаратам, антигенных и других свойств изолятов микроорганизмов. Аналитические характеристики культуральных исследований во многом зависят от качества используемых сред, а также иммунологических и биохимических тестов, применяемых для видовой идентификации.

Для выявления в мазках из респираторного тракта АГ внутриклеточных патогенов – *Chlamydomphila pneumoniae* и возбудителей гриппа и ОРВИ используется ИХА и ПИФ. Такие «быстрые тесты» удобно использовать в эпидемиологических целях для массового скрининга, но их аналитические характеристики могут варьировать в широких пределах в зависимости от используемого набора реагентов, хранения реагентов и навыков их использования. ИХА и ПИФ могут недовыявлять случаи инфицирования в период эпидемий (в связи с их недостаточной чувствительностью по сравнению с культуральными методами и ПЦР), и давать ложноположительные результаты в межэпидемический период (в связи с недостаточно высокой специфичностью).

Для обнаружения АГ пневмококка и ряда других бактериальных патогенов в стерильных видах биологического материала (кровь, СМЖ) применяют латекс-агглютинацию; для исследования материала из нестерильных локусов (мокрота, БАЛ и др.) метод не предназначен. Чувствительность и специфичность наборов реагентов на основе латекс-агглютинации разных производителей составляет 99-100% и 85-98%, соответственно.

Обнаружение фрагментов генома возбудителей ОРИ в большинстве случаев наиболее эффективно и востребовано как для ранней диагностики заболевания, так и скрининга в эпидемиологических целях с последующим получением чистой культуры возбудителя.

Для рутинных исследований применяют тесты на основе ПЦР, которые

позволяют обнаружить РНК/ДНК патогенов непосредственно в образцах биологического материала. В последнее время разрабатываются тесты, позволяющие обнаруживать маркеры резистентности к антибактериальным препаратам. Максимальный уровень специфичности и чувствительности имеют наборы реагентов с использованием ПЦР-РВ.

Для диагностики заболеваний, вызванных условно-патогенными бактериями, в связи с их распространенным носительством в верхних дыхательных путях, целесообразно исследование материала из нижних дыхательных путей с применением количественных тестов на основе ПЦР-РВ.

Обнаружение специфических АТ в сыворотках больных ОРИ методами ИФА, РТГА, РСК предназначено для ретроспективного подтверждения диагноза при инфицировании *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii* и ОРВИ. Положительным результатом считают 4-кратное нарастание титра специфических АТ в динамике в образцах сыворотки крови, полученных последовательно в острый период заболевания и в период реконвалесценции (спустя 10 дней – 1 месяц). Достоверность результата увеличивается в случае проведения исследования обеих сывороток одновременно. Определение АТ IgM считается более ценным с клинической точки зрения, поскольку они появляются в ранние сроки инфицирования и могут служить маркером недавно перенесенной инфекции.

Грипп

Возбудители гриппа – РНК-содержащие вирусы, относятся к семейству *Orthomyxoviridae*, в котором выделяют три рода – *Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus* и *Gammainfluenzavirus*, каждый из которых имеет по одному виду – *Influenza A virus*, *Influenza B virus* и *Influenza C virus*, соответственно. Вирусы гриппа А и В ежегодно вызывают эпидемии большей или меньшей интенсивности во всех странах мира Северного и Южного полушария волнообразно. Вирусы гриппа А (*Influenza A virus*) широко распространены в природе, их выделяют от большинства зверей и птиц, в связи с чем они имеют высокий пандемический потенциал, так как способны преодолевать межвидовые барьеры и подвержены явлению реассортации (обмена сегментами генома). Считается, что вирусы гриппа В (*Influenza B virus*) инфицируют только людей. Вирусы гриппа С (*Influenza C virus*) выделяют от людей и свиней. Вирусы гриппа А, В и С дифференцируют друг от друга с помощью иммунологических и молекулярно-биологических методов. Вирусы гриппа А дополнительно дифференцируют на подтипы (или субтипы) по главным поверхностным протеинам с помощью иммунологических и молекулярно-биологических методов на 16 субтипов гемагглютинина и 9 субтипов нейраминидазы.

Гриппом болеют взрослые и дети любого возраста. При инфицировании вирусами гриппа заболевание может протекать в легкой, среднетяжелой и тяжелой формах, осложняясь пневмонией, и, в ряде случаев, заканчиваться не-

благоприятным исходом. Неблагоприятному исходу способствуют отсутствие вакцинации против гриппа, позднее обращение за медицинской помощью, и как следствие – отсутствие или позднее назначение этиотропной терапии. К группам риска тяжелого течения и неблагоприятного исхода гриппа относятся дети младшего возраста, лица, имеющие врожденные пороки развития, страдающие заболеваниями сердечно-сосудистой системы, сахарным диабетом, метаболическим синдромом, ожирением или имеющие избыточную массу тела. Грипп может тяжело протекать у беременных женщин.

В 2009 году во время пандемии гриппа, вызванной гриппом свиного происхождения A(H1N1)pdm09, наибольший уровень летальности отмечался среди лиц среднего возраста – 30-64 лет в связи с отсутствием у лиц данной возрастной группы анамнестических перекрестных АГ к данному вирусу. Этот вариант гриппа опасен возможным быстрым (в среднем на 8-й день болезни) развитием вирусной пневмонии с геморрагическим синдромом, приводящей к острой дыхательной недостаточности. После перенесенного гриппа, вызванного преимущественно вирусами гриппа А (H3N2) и В, нередко наблюдаются осложнения в виде отитов и синуситов, пневмонии вследствие присоединения бактериальных инфекций. Поскольку грипп может протекать без характерных симптомов, достоверная дифференциальная диагностика гриппа от других ОРВИ возможна только с помощью лабораторных методов исследования.

Показания к обследованию

- Наличие характерных симптомов гриппа: высокая лихорадка (температура выше 38 °С, продолжающаяся до 3-х дней), боль в горле, сухой кашель и синдром интоксикации (головная боль, преимущественно в области лба, боль в глазных яблоках, ломота в мышцах, сильная слабость), катаральные явления появляются с третьих суток болезни;
- контакт с больным гриппом при наличии любых симптомов ОРВИ.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление РНК возбудителей и их АГ, культуральное исследование, обнаружение специфических АГ.

Материал для исследований

- Мазки из носоглотки – культуральное исследование, обнаружение АГ;
- мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки (при поражении верхних дыхательных путей) – выявление РНК вирусов;
- мокрота, плевральная жидкость, аспираты из зева, БАЛ (при поражении нижних дыхательных путей) – выявление РНК вирусов;
- сыворотка крови – обнаружение АГ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Культуральное исследование основано на изоляции вирусов в живых культурах клеток млекопитающих или на развивающихся куриных эмбрионах с последующей идентификацией по наличию гемагглютинации (агглютинации вирусами эритроцитов) и проведением типирования гемагглютинина в РТГА с

типоспецифическими сыворотками. Исследование отличается трудоемкостью и длительностью, его эффективность во многом зависит от качества нестандартизованных реагентов, в связи с чем для рутинной диагностики практически не используется, но активно применяется в эпидемиологических исследованиях.

Для обнаружения АГ вирусов гриппа применяют методы ИХА, РИФ (МФА). Метод РИФ обладает низкой чувствительностью, недостаточной специфичностью и отличается субъективностью при интерпретации результатов анализа. При использовании ИХА велика вероятность ложноотрицательных результатов, особенно во время эпидемического подъема гриппа, в связи с чем CDC для быстрой диагностики гриппа рекомендует использовать выявление РНК вирусов гриппа методом ПЦР. Чувствительность выявления АГ гриппа методом ИХА повышается при обследовании больного не позднее вторых суток от начала заболевания.

Использование в качестве мишени специфичных консервативных участков генома вирусов гриппа обуславливает высокие показатели диагностической чувствительности ПЦР, сравнимые с культуральной диагностикой, а в ряде случаев превышающие ее. Преимуществами такого способа диагностики являются короткие сроки выполнения анализа, а также возможность идентификации вирусов гриппа (А и В) и проведение субтипирования вирусов гриппа А, в том числе – возможность идентификации пандемического варианта «свиного» вируса гриппа. Максимальный уровень специфичности и чувствительности имеют наборы реагентов с использованием ПЦР-РВ.

При выявлении специфических АГ оценивают нарастание их титра в образцах крови, полученных с интервалом в 2 недели (парные сыворотки) с использованием методов ИФА, РТГА и РСК. Специфические АГ в диагностическом титре появляются к концу первой недели заболевания.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Выявление РНК вирусов гриппа методом ПЦР используется для быстрой этиологической диагностики гриппа и скрининга биологического материала в целях эпидемиологического надзора. Выявление АГ методом ИХА у постели больного целесообразно при обследовании не позднее вторых суток от начала заболевания. Выявление специфических АГ используется для определения уровня коллективного гуморального иммунитета, ретроспективной диагностики и ретроспективного анализа природы эпидемических вспышек гриппа.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Использование не рекомендованного биологического материала или несоблюдение техники его получения может сильно снизить информативность анализа вплоть до получения отрицательного результата. В связи с недостаточно высокой чувствительностью тестов для выявления АГ получение отрицательных результатов при их использовании не исключает возможного заболевания. Исследования методом ПЦР позволяют обнаружить РНК вируса гриппа А, В или С и/или определить подтип вируса гриппа А.

Острые респираторные вирусные инфекции

Помимо вирусов гриппа, в популяции людей циркулируют еще 17 видов вирусов семи семейств, которые вызывают ежегодный эпидемиологический подъем заболеваемости ОРВИ различной интенсивности.

- Респираторно-синцитиальный вирус человека (*Human Orthopneumovirus*, ранее называвшийся *Human Respiratory Syncytial virus*), на основании современной классификации относится роду *Orthopneumovirus*, метапневмовирус человека (*Human Metapneumovirus*) – к роду *Metapneumovirus* семейства *Pneumoviridae*.
- В семействе парамиксовирусов (*Paramyxoviridae*) выделяют подсемейство *Orthoparamyxovirinae*, род *Respirovirus*, к которому относят *Human Respirovirus 1* (ранее называвшийся – *Human Parainfluenzavirus 1*, распространенное название – вирус парагриппа 1) и *Human Respirovirus 3* (ранее – *Human Parainfluenzavirus 3*, распространенное название – вирус парагриппа 3), и подсемейство *Rubulavirinae*, род *Orthorubulavirus*, к которому относят *Human Orthorubulavirus 2* (ранее – *Human Parainfluenzavirus 2*, распространенное название – вирус парагриппа 2) и *Human Orthorubulavirus 4* (ранее – *Human Parainfluenzavirus 4*, распространенное название – вирус парагриппа 4).
- Аденовирусы принадлежат к роду *Mastadenovirus*, в котором выделяют 7 видов (*Human mastadenovirus A – G*), и на основании данных иммунологических исследований, гомологии ДНК и филогенетического анализа – более 60 серотипов аденовируса человека.
- Среди бокавирусов, циркулирующих в популяции людей, выделяют 2 вида: один из которых – *Primate bocaparvovirus 1*, ранее называвшийся *Human bocavirus*, вызывает ОРВИ, второй вид – *Primate bocaparvovirus 2* ассоциируют с острыми кишечными инфекциями. Оба вируса относятся к семейству *Parvoviridae*, подсемейству *Parvovirinae*, роду – *Bocaparvovirus*.
- Среди представителей семейства коронавирусов (*Coronaviridae*), вызывающих ОРВИ и циркулирующих среди людей, выделяют четыре вида. *Human coronavirus 229E* принадлежит к роду *Alphacoronavirus* подроду *Duvinacovirus*, *Human coronavirus NL63* относится к подроду *Setracovirus*, *Human coronavirus HKU1* и *Betacoronavirus 1* принадлежат к роду *Betacoronavirus* подроду *Embecovirus*.
- Среди риновирусов, инфицирующих людей, в настоящее время выделяют 3 вида: *Rhinovirus A, B* и *C*, которые относятся к роду *Enterovirus* семейства *Picornaviridae*.

Все вышеперечисленные вирусы, за исключением бокавируса человека, вызывают заболевания у всех возрастных групп. Бокавирус обна-

руживается только у больных ОРВИ детей и иммунокомпрометированных взрослых. У лиц со сниженной активностью иммунной системы ОРЗ могут вызывать также энтеровирусы, вирусы герпеса, в том числе цитомегаловирус.

Наиболее тяжело протекает ОРВИ, вызванная респираторно-синцитиальным (РС) вирусом. РС-вирус является причиной 80% случаев госпитализации детей, до 12% из которых требуют интенсивной терапии. Высокий риск развития тяжелой РС-вирусной инфекции имеется у новорожденных детей, рожденных преждевременно, особенно имеющих бронхолегочную дисплазию, хронические заболевания легких, врожденные пороки развития сердца и других органов. РС-вирусная инфекция регистрируется и у взрослых, тяжело протекает у пожилых и ослабленных сопутствующими хроническими заболеваниями людей. При РС-инфекции могут поражаться как верхние, так и нижние дыхательные пути, могут наблюдаться симптомы гриппа, развиваться бронхиты, бронхиолиты и пневмония. Инapparантная (бессимптомная) форма инфекции встречается редко. При отсутствии осложнений выздоровление наступает на 7-12 день.

Доля вирусов парагриппа (НРiv) в этиологической структуре ОРВИ составляет от 9 до 30%. Вирусы парагриппа вызывают инфекции у людей любого возраста, однако чаще встречается у детей в возрасте до 5 лет. На инфекцию, вызванную вирусами парагриппа, приходится 7% случаев госпитализации по поводу ОРИ детей в возрасте до 5 лет. Среди вирусов парагриппа чаще распространены НРiv-3 и НРiv-1, реже других обнаруживается НРiv-4. Вирусы парагриппа вызывают ринит, фарингит, ларингит, круп (стеноз гортани), реже диагностируются бронхиты, бронхиолиты и пневмонии. Вирусы парагриппа являются причиной почти половины случаев тяжелого крупа у детей младшего возраста. НРiv-3 чаще других вирусов парагриппа вызывает бронхиолиты и пневмонию у младенцев. С вирусами парагриппа связаны около 10% случаев заболеваний, имеющих симптомы гриппа. У взрослых вирусы парагриппа вызывают, как правило, инфекции верхних дыхательных путей средней тяжести, однако у пожилых и иммунокомпрометированных людей может отмечаться тяжелое течение и даже летальные исходы.

Метапневмовирусная (НМrv) инфекция сходна по клинической картине с РС-вирусной инфекцией, однако распространена реже. Среди случаев ОРВИ доля НМrv-инфекции в разные годы составляет от 1 до 15%. При НМrv-инфекции могут наблюдаться конъюнктивит, симптомы поражения ЖКТ, отиты, однако они встречаются редко. НМrv обнаруживается у 5-20% больных инфекциями нижних дыхательных путей детей в возрасте до 5 лет. Сообщения о заболевании НМrv-инфекцией взрослых среднего возраста относительно редки, однако, она нередко регистрируется у пожилых людей.

Бокавирус (НBov1) является третьим по частоте обнаружения среди возбудителей ОРВИ. Основной восприимчивой группой являются дети до

2-3 лет, в более старшем возрасте HBoV1 нередко обнаруживается в сочетании с другими возбудителями ОРВИ. Бокавирусная инфекция осложняется пневмонией у 5,1% больных детей. У детей с хроническими тонзиллитами и воспалением аденоидов ДНК HBoV обнаруживается в 43% случаев в респираторных мазках и ткани аденоидов. В исследованиях здоровых детей без признаков ОРЗ и хронической патологии органов дыхания бокавирус обнаруживался не более чем в 1% случаев.

После перенесенного заболевания при наличии остаточных катаральных явлений (редкий кашель, легкая ринорея) или без видимых симптомов ОРЗ, ДНК бокавируса обнаруживается в среднем на протяжении 14 дней, в редких случаях – около месяца, в одном случае до 90 дней. Эти сведения нужно учитывать при проведении диагностических исследований у детей старше двух лет, поскольку бокавирус часто обнаруживается в сочетании с другими возбудителями ОРЗ, и в таких случаях он может быть сопутствующим, а не основным этиологическим фактором заболевания.

Самым распространенным возбудителем ОРВИ детей и взрослых является риновирус. Риновирусы наиболее часто обнаруживают при не тяжелых заболеваниях верхних дыхательных путей с сильно выраженной ринореей, однако они могут вызывать и инфекции нижних дыхательных путей (трахеобронхиты, пневмония) и быть причиной обострения хронических бронхитов и бронхиальной астмы. На фоне риновирусной инфекции могут развиваться средний отит и синуситы. Кроме того, зарегистрированы случаи риновирусной виремии у внезапно умерших грудных детей. Симптомами риновирусной инфекции, как правило, являются ринорея, боль в горле, кашель, головная боль, слабость. Заболевание может протекать и с гриппоподобной симптоматикой.

Аденовирусы вызывают широкий спектр заболеваний, включая острые респираторные заболевания верхних и нижних дыхательных путей, конъюнктивиты, кератоконъюнктивиты, поражения желудочно-кишечного тракта, энцефалиты и менингиты, также возможно бессимптомное носительство в кишечнике. С респираторными заболеваниями ассоциированы виды В, С, Е, с конъюнктивитами и кератоконъюнктивитами – главным образом вид D, реже А, В, С, Е, с кишечными инфекциями – виды F, G, с менингитами и энцефалитами – В.

Аденовирус часто обнаруживается во время вспышек в домах ребенка, домах престарелых и среди военнослужащих срочной службы. В контингентах военнослужащих вспышки аденовирусной инфекции регистрируются практически ежегодно в разных странах. В структуре спорадических случаев респираторной инфекции аденовирусы в сравнении с вирусами гриппа, респираторно-синцитиальным вирусом, вирусами парагриппа и риновирусами, представлены менее широко. Описаны случаи выделения аденовирусов из ткани легких иммунокомпетентных взрослых при тяжелом течении пневмонии, заканчивающейся летальным исходом. Исследование показало,

что у 2,5% детей, госпитализированных по поводу аденовирусной инфекции в 1990-1996 гг. в США, развивалась тяжелая пневмония, с летальностью 60% у иммунокомпетентных и 83% – у иммунокомпрометированных детей. Клиническими признаками респираторной аденовирусной инфекции могут являться: длительная лихорадка (7-14 дней), одышка, кашель, часто фаринготонзиллит, аденоидит, увеличение лимфоузлов, нередко имеются признаки кишечной инфекции и конъюнктивита.

Доля эпидемических коронавирусов в этиологической структуре ОРВИ составляет 2-10%. Коронавирусы обнаруживаются преимущественно у детей младшего возраста, имеющих симптомы крупа или ларинготрахеита, однако могут быть причиной ОРВИ у людей любого возраста. При коронавирусной инфекции наблюдается лихорадка (в 50% случаев – фебрильная), кашель и ринорея, может отмечаться гриппоподобная симптоматика, у части детей развивается гастроинтестинальная дисфункция.

Помимо эпидемических коронавирусов, человек, находясь в эндемичных странах, может инфицироваться коронавирусами, природным резервуаром которых являются летучие мыши. Заражение может происходить при контакте с пометом инфицированных летучих мышей (или других животных – промежуточных хозяев вируса), а также при употреблении в пищу инфицированных животных. Такие зоонозные коронавирусы способны преодолевать межвидовой барьер и вызывать эпидемии и пандемии, обладая вирулентностью и контагиозностью. В организме больного вирус реплицируется в слизистых оболочках дыхательных путей и ЖКТ и может передаваться от человека к человеку. Среди таких зоонозных коронавирусов известны SARS-CoV и SARS-CoV-2 – представители рода *Betacoronavirus*, подрода *Sarbecovirus* и MERS-CoV из подрода *Merbecovirus*.

SARS-CoV, возбудитель тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС), появившись в 2003 году в Китае, стал быстро распространяться в популяции людей воздушно-капельным, контактным и, вероятно, фекально-оральным путем (вирус обнаруживался в фекалиях больных). Первоначально инфицирование людей могло происходить при употреблении в пищу мяса циветт, затем вирус стал быстро передаваться от человека к человеку. Эпидемия ТОРС затронула 32 страны мира, и привела к инфицированию 8500 человек, завершившись за 6 месяцев, в настоящее время о случаях заболевания людей SARS-CoV не сообщается. ТОРС начинался остро с лихорадки и непродуктивного кашля, затем быстро развивалась пневмония с дыхательной недостаточностью, в 10% случаев приводил к летальному исходу. У некоторых пациентов (до 70%) наблюдалась диарея.

С сентября 2012 г. на Ближнем Востоке стали регистрироваться первые случаи инфекции, вызванной впервые выявленным коронавирусом MERS-CoV, который циркулирует по настоящее время. Заболевание людей (Ближневосточный респираторный синдром – БВРС-КоВ) происходит при контакте с инфицированными верблюдами или употреблении

в пищу их мяса и молока. Среди основных симптомов БВРС-КоВ отмечается лихорадка, кашель и, в ряде случаев, симптомы поражения ЖКТ. Тяжелое течение инфекции, наблюдаемое, как правило, у лиц с ослабленной иммунной системой, пожилых людей и имеющих сопутствующие заболевания (сахарный диабет, онкологические заболевания и хронические заболевания легких) приводит к развитию дыхательной недостаточности, полиорганной недостаточности и септическому шоку. MERS-CoV способен передаваться от человека к человеку при тесном длительном контакте. В других странах, включая Европу, в 2014-2015 годах регистрировались завозные случаи заболевания БВРС-КоВ. В 2015 г. в Южной Корее произошла крупная вспышка внутрибольничной MERS-CoV – инфекции, во время которой за месяц было зарегистрировано 186 лабораторно подтвержденных случаев заболевания, 19% из них закончились летально. Среди заболевших 17% составил медицинский и обслуживающий персонал. Случаи инфицирования людей MERS-CoV регистрируются в Саудовской Аравии по настоящее время, летальность среди лабораторно подтвержденных случаев составляет порядка 34%.

31 декабря 2019 года появилась официальная информация о новом коронавирусе SARS-CoV-2 (временное название, присвоенное ВОЗ 12 января 2020 года – 2019-nCoV), источником распространения которого объявили оптовый рынок морепродуктов в г. Ухань (КНР) с населением более 11 млн человек. С 9 января 2020 г. в г. Ухань зарегистрирован первый летальный случай от инфекции, получившей название COVID-19 (коронавирусная инфекция 2019 года). 13 января выявлен первый случай заражения коронавирусом за пределами Китая (в Таиланде). 20 января были зафиксированы случаи передачи SARS-CoV-2 от человека к человеку. Вирус передается воздушно-капельным путем: при кашле, чихании и разговоре на близком (менее 2 метров) расстоянии, и контактным путем: во время рукопожатий и других видах непосредственного контакта с инфицированным человеком, а также через пищевые продукты, поверхности и предметы, контаминированные вирусом. Поскольку SARS-CoV-2 обнаруживается при исследовании образцов стула больных и в клетках слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, возможен и фекально-оральный механизм передачи. Регистрируются случаи внутрибольничной передачи вируса, 29% инфицированных составляет медицинский и обслуживающий персонал. Основными симптомами проявления заболевания являются лихорадка, сухой кашель, слабость. При осложненном течении болезни развивается пневмония. Неблагоприятный исход вследствие острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и дыхательной недостаточности происходит в 3,5 – 13% случаев. По состоянию на 11 августа 2020 г. пандемия COVID-19 продолжается, инфицированные имеются практически в каждой стране, в мире зарегистрировано более 20 миллионов заболевших, погибли – более 700 тыс. человек.

Источником возбудителей ОРВИ служат больные люди. Распростране-

ние возбудителей происходит воздушно-капельным путем с аэрозольным механизмом передачи и при контакте с поверхностями, загрязненными респираторными секретами больных с последующим переносом возбудителя руками на слизистую оболочку носа, рта или глаз.

Поскольку клинические проявления инфекций, вызванных разными респираторными вирусами, не являются строго специфичными, этиологию заболевания можно установить только с помощью методов лабораторной диагностики. В респираторных мазках здоровых детей и взрослых (без признаков ОРВИ и хронической патологии органов дыхания) респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус, бокавирус, вирусы парагриппа, аденовирусы и эпидемические коронавирусы обнаруживаются крайне редко (1-2%).

Показания к обследованию

- Наличие у пациента остро возникшего заболевания с симптомами поражения верхних или нижних дыхательных путей, а также их сочетанного поражения при наличии общеинтоксикационного синдрома. Дифференциальная диагностика ОРВИ.

Этиологическая лабораторная диагностика ОРВИ включает выделение вирусов в культуре клеток, выявление РНК/ДНК возбудителей и их АГ, обнаружение специфических АТ.

Материал для исследований

- Мазки из носоглотки – культуральное исследование, обнаружение АГ;
- мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки – выявление РНК/ДНК вирусов (поражение верхних дыхательных путей);
- мокрота, аспираты из зева или трахеи, БАЛ, плевральная жидкость – выявление РНК/ДНК вирусов (поражение нижних дыхательных путей);
- сыворотка крови – обнаружение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Не все респираторные вирусы удается культивировать в искусственных условиях. Возможно получить культуру респираторно-синцитиального вируса, вирусов парагриппа 1-3 типов, метапневмовируса человека и аденовирусов, однако для рутинной диагностики метод не используется в силу своей трудоемкости и продолжительности.

Для обнаружения АГ респираторно-синцитиального вируса, вирусов парагриппа 1-3 и аденовирусов используют ИХА и РИФ (МФА), последний метод отличается недостаточной специфичностью и субъективностью при интерпретации результатов анализа. Аналитические характеристики наборов для ИХА и реагентов для РИФ широко варьируют, характеризуются в целом недостаточно высокой диагностической чувствительностью в сравнении с культуральными методами и ПЦР. В связи с этим при их использовании в период эпидемий могут быть выявлены не все случаи заболевания, а в межэпидемический период возможно получить ложноположительные результа-

ты в связи с недостаточно высокой специфичностью РИФ. Для обеспечения лучших результатов исследования АГ биоматериал от больного должен быть получен в первые дни заболевания, когда вирус выделяется в относительно больших количествах и не находится в составе иммунных комплексов.

АГ респираторно-синцитиального вируса обнаруживают методами РПИФ и ИХА. Преимуществом метода ИХА является быстрота получения результата, однако он в сравнении с ПЦР обладает меньшей чувствительностью (79,8%) и специфичностью (89,5%).

АГ аденовирусов и вирусов парагриппа 1-3 выявляют с применением РПИФ и РНИФ (для вируса парагриппа 4 такие тесты отсутствуют). Исследование не лишено общих недостатков методов РИФ.

Специфические АТ в сыворотках крови выявляют методом ИФА, РСК и РТГА (для вирусов, обладающих способностью агглютинировать эритроциты). В России имеются готовые наборы реагентов на основе ИФА для определения специфических антител к РС-вирусу, вирусам парагриппа и аденовирусам и для диагностики у человека тяжелой инфекции, вызванной коронавирусами летучих мышей – SARS-Cov и MERS-Cov.

В научных исследованиях используются тесты для выявления специфических АТ к метапневмовирусу, эпидемическим коронавирусам, бокавирусу, риновирусам методом РСК и ИФА.

Сложности использования определения специфических АТ к респираторным вирусам заключаются в довольно позднем их появлении и не у всех больных. Максимальный титр АТ-IgM к РС-вирусу и аденовирусам наблюдается на 10-20 день от начала заболевания, и в большинстве случаев концентрация АТ-IgM к РС-вирусу увеличивается лишь незначительно. По данным ряда исследований АТ-IgM при РС-инфекции обнаруживаются в 73% случаев. Чаще выявляются АТ-IgG и IgA, но обнаружение АТ этих классов необходимо проводить в парных сыворотках крови, взятых в периоды острой фазы и в реконвалесценции (через 10-14 дней). Диагностически значимым считают изменение уровня специфических к РС-вирусу АТ-IgG и IgA в 4 и более раз. Существенные изменения титра АТ-IgG обнаруживаются в 92% случаев заболевания, АТ-IgA – в 65% случаев.

Для аденовирусной инфекции диагностически значимым считают изменение уровня антител IgG и IgA (при исследовании парных сывороток) в 2 и более раз. В случае заболевания, подтвержденного выделением аденовируса, существенные изменения титра IgG обнаруживались у 77-89% пациентов, IgA – в 37-77%, а у 3% больных АТ отсутствовали.

Для определения АТ к вирусам парагриппа 1-3 используют методы ИФА, РСК, РТГА. В РФ доступны наборы реагентов для выявления АТ к вирусу парагриппа 3. Определение АТ методом ИФА в парных сыворотках крови обладает чувствительностью близкой к 100% по сравнению с выделением вирусов в культуре, ниже чувствительность РТГА и РСК, особенно для вирусов парагриппа 1 и 2. Несмотря на высокую чувствительность,

методы имеют определенные недостатки для диагностики парагриппа: показана возможность кросс-реакции с АТ к близкородственному вирусу инфекционного паротита. Необходимость исследования парных сывороток в динамике ограничивает возможности определения АТ в клинике.

Наиболее широко для этиологической диагностики ОРВИ применяют МАНК, особенно – ПЦР-РВ. В настоящее время МАНК является единственной возможностью диагностики инфекций, вызванных метапневмовирусом, эпидемическими коронавирусами, вирусом парагриппа 4, бокавирусом человека и разнообразными риновирусами.

При сравнении различных методов диагностики РС-инфекции установлено, что наиболее чувствительными в сравнении с методами выделения вируса на культуре клеток, является выявление РНК вируса методом ПЦР-РВ (диагностическая чувствительность 88%) и определение титров специфических АТ IgA, M, G методом ELISA в парных сыворотках (85%), ниже чувствительность РНИФ (77%).

Наиболее чувствительным для диагностики парагриппа при сравнении с методом выделения вирусов в культуре клеток является ПЦР-РВ (диагностическая чувствительность 100%), далее следует ПИФ (диагностическая чувствительность 92%) и определение титра специфических АТ в парных сыворотках крови методом ИФА (диагностическая чувствительность 15%).

Самым чувствительным и специфичным для диагностики аденовирусной инфекции, в сравнении с посевом вируса на культуре клеток, является выявление ДНК вируса методом ПЦР-РВ (диагностическая чувствительность 100%), далее следуют определение титра АТ-IgM методом ИФА (диагностическая чувствительность 93%) и РПИФ (диагностическая чувствительность 86%).

Обнаружение РНК риновируса методом ПЦР-РВ в сравнении с методами выделения вируса на культуре клеток показывает диагностическую чувствительность 100%

Для идентификации РНК возбудителей ОРВИ (респираторно-синцициальный вирус, метапневмовирус человека, вирусы парагриппа 1-4, коронавирусы 229E, OC43, NL63, HKU1, риновирусы) и ДНК возбудителей ОРВИ (аденовирусы В, С, Е, бокавирус человека) в России производятся наборы реагентов на основе МАНК, в том числе мультиплексные, позволяющие выявлять НК нескольких вирусов одновременно. Максимальный уровень специфичности и чувствительности имеют наборы реагентов с использованием ПЦР-РВ.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Для быстрой этиологической диагностики ОРВИ используется выявление НК вирусов методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Обнаружение АГ целесообразно использовать при обращении пациента за медицинской помощью на ранних сроках – до 3-х суток болезни. Выявление АТ применяют для определения уровня коллективного гуморально-

го иммунитета, ретроспективной диагностики и ретроспективного анализа за природы эпидемических вспышек ОРВИ.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Возможность сочетанного инфицирования несколькими возбудителями ОРВИ может осложнять течение болезни, поэтому необходимо проведение исследований полного спектра вирусных и бактериальных возбудителей (при заболевании нижних дыхательных путей). Несоблюдение правил и методики сбора биологического материала для исследования может снизить информативность вплоть до получения отрицательного результата. При выявлении АГ в парных сыворотках пробы крови для исследования берут в начале заболевания и повторно через 10-14 дней, диагностически значимым считается нарастание титра АГ не менее чем в 4 раза в повторно взятой пробе в сравнении с первой. В связи с недостаточной чувствительностью тестов для выявления АГ методами ИХА и РИФ получение отрицательных результатов при их использовании не исключает возможного инфицирования искомым возбудителем ОРВИ.

Коклюш

Коклюш – острая антропонозная инфекционная болезнь с аэрозольным механизмом передачи возбудителя, характеризующаяся длительным приступообразным спастическим кашлем, сопровождающаяся поражением дыхательной, сердечно-сосудистой и нервной систем. Помимо типичной, выделяют атипичные формы коклюша, при которых отсутствует спастический кашель. В течении типичных форм коклюша различают 4 периода: инкубационный (продолжительность до 14 дней), катаральный (1-2 недели), период спастического кашля (4-6 недель) и период разрешения. Выраженность клинических проявлений (длительность катарального периода, частота и продолжительность приступов кашля, наличие цианоза лица при кашле, гипоксия вне приступов кашля, степень нарушения работы сердечно-сосудистой системы, наличие и степень выраженности энцефалических расстройств) зависит от возраста и прививочного анамнеза больного. Температура тела больного, как правило, не превышает субфебрильных значений. У детей младшего возраста коклюшная инфекция может протекать с поражением легких, что может приводить к неблагоприятному исходу.

Основным возбудителем коклюша является *Bordetella pertussis* – грамотрицательная коккобацилла, относящаяся к роду *Bordetella*. Препараты, применяемые в настоящее время для вакцинации против коклюша включают антигены *Bordetella pertussis*. Близкородственная *B. pertussis* бактерия – *Bordetella parapertussis* вызывает паракоклюш – заболевание, подобное коклюшу, характеризующееся более легким течением. Перекрестный иммунитет в отношении коклюша и паракоклюша отсутствует.

Диагноз коклюша считается подтвержденным, если имеется соответствие клинических симптомов стандартному определению случая коклюша и лабораторное подтверждение этиологии инфекции и/или эпидемиологическая связь с лабораторно подтвержденным случаем. Возможно сочетанное инфицирование с другими возбудителями ОРЗ, что отягощает течение болезни.

Помимо *B. pertussis* и *B. parapertussis*, респираторные инфекции, имеющие коклюшеподобную симптоматику, могут вызывать *B. bronchiseptica* и *B. holmesii*. *B. bronchiseptica* вызывает бронхисептикоз (бордетеллез) – заболевание, протекающее с симптомами ОРВИ, у лиц с ослабленной иммунной системой может развиваться пневмония. Инфицирование людей происходит при контакте с больным животным, у которого также имеются симптомы респираторной инфекции.

Показания к обследованию

- Больные с подозрением на коклюш и паракоклюш (в соответствии со *стандартным определением случая*)*;
- лица, длительно кашляющие (7 дней и более), независимо от указаний на контакт с больными коклюшем;
- дети и взрослые в детских учреждениях, родильных домах и детских больницах, в которых были выявлены больные коклюшем.

Дифференциальная диагностика

- Острые бронхиты, вызванные *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydoiphila pneumoniae*, вирусными возбудителями респираторных инфекций; аспирация инородного тела; муковисцидоз; лимфогранулематоз.

Материал для исследований

- Мазок со слизистой оболочки задней стенки ротоглотки (заднеглоточный мазок) – культуральное исследование;
- мазки со слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки – выявление ДНК бактерий;
- сыворотка крови – обнаружение АТ.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение чистой культуры бордетелл и определение их видовой принадлежности; выявление ДНК возбудителей коклюша, обнаружение специфических АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

При бактериологическом исследовании выполняют посев на плотные питательные среды, выделение чистой культуры микроорганизмов и определение их видовой принадлежности по культуральным, биохимическим и серологическим свойствам (РА со специфическими монорецепторными сыворотками). Культуральный метод характеризуется большой продол-

* *Стандартное определение случая заболевания коклюшем*: острое заболевание, характеризующееся: сухим кашлем с постепенным его усилением и приобретением характера приступообразного спазматического на 2-3 неделе заболевания, особенно в ночное время суток или после физической и эмоциональной нагрузки; явлениями апноэ, гиперемией лица, цианозом, слезотечением, рвотой, развитием «коклюшного легкого», жестким дыханием, отделением вязкой мокроты; и незначительным повышением температуры.

жительностью исследования (5-8 дней), его диагностическая чувствительность не превышает 10-20%; аналитические характеристики во многом зависят от качества используемых сред и реагентов для иммунологической и биохимической идентификации.

Обнаружение ДНК методом ПЦР наиболее эффективно и востребовано для ранней диагностики, наибольшими диагностическими возможностями обладают методики с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, позволяющие обнаруживать и дифференцировать значимые для человека виды *Bordetella*; чувствительность такого метода составляет $5 \times 10^2 - 1 \times 10^3$ ГЭ/мл исследуемого материала, специфичность (при использовании видо-специфичных генов-мишеней) – 100%.

Другие методики, направленные на выявление инсерционных элементов (IS481), не являются видоспецифичными, поскольку данная нуклеотидная последовательность присутствует в геномах *B. pertussis*, *B. holmesii* у некоторых изолятов *B. bronchiseptica*.

Обнаружение специфических АТ (IgM, А, G) к различным антигенам *B. pertussis* проводят с использованием ИФА. Данный метод позволяет диагностировать коклюш при обращении пациента на поздних сроках (начиная с 3-й по 8-ю недели) болезни.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Культуральное исследование с диагностической целью следует проводить в ранние сроки заболевания (1-2 недели болезни); в более поздние сроки возможность выделить культуру возбудителя резко снижается. Оптимальное время для обнаружения ДНК методом ПЦР – до 4-х недель от начала заболевания. Определение АТ целесообразно с 3-й по 6-ю недели от начала заболевания, далее титры АТ начинают снижаться. У детей до 6 лет, вакцинированных против коклюша, можно использовать только пробы сыворотки крови, взятые в динамике (парные сыворотки), причем, первый раз кровь берется не ранее чем через 3 недели от начала заболевания, повторно – спустя 2 недели после первого забора.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Диагноз коклюша считается лабораторно подтвержденным в случае выделения культуры *B. pertussis*; обнаружения специфического фрагмента генома *B. pertussis* методом ПЦР; выраженной сероконверсии (увеличении в 4 и более раз уровня специфических IgG и/или IgA в парных сыворотках, или обнаружении у не привитого пациента специфических IgM). Необходимо учитывать, что у детей в возрасте до 3 месяцев могут присутствовать материнские АТ, но, как правило, в низких титрах.

Диагноз коклюш, вызванный *B. parapertussis*, ставится в случае выделения культуры *B. parapertussis*; или обнаружения специфического фрагмента генома *B. parapertussis* методом ПЦР. Заболевание, вызванное *B. bronchiseptica*, диагностируется при выделении культуры или обнаружении специфического фрагмента генома методом ПЦР.

Инфекции, вызываемые *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*

Mycoplasma pneumoniae и *Chlamydophila pneumoniae* благодаря особенностям строения, метаболизма и жизненного цикла называют «атипичными» бактериями. Источником респираторной микоплазменной и хламидийной инфекций служат больные и носители *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* в респираторном тракте, передача возбудителя осуществляется преимущественно воздушно-капельным путем, не исключен и контактно-бытовой, специфическая профилактика отсутствует. Инкубационный период длится 1-4 недели.

Mycoplasma pneumoniae относится к классу *Mollicutes*, порядку *Mycoplasmatales*, семейству *Mycoplasmataceae*, роду *Mycoplasma*. В процессе эволюции микоплазмы потеряли многие гены, отвечающие за процессы биосинтеза клеточной стенки, аминокислот, кофакторов, метаболизма липидов и другие функции, в связи с чем они находятся в сильной зависимости от системы метаболизма хозяина, являясь мембранно-ассоциированными патогенами, способными длительно персистировать на цилиндрических клетках мерцательного эпителия верхних дыхательных путей.

Mycoplasma pneumoniae поражает верхние и нижние дыхательные пути, взрослых и детей разного возраста, вызывая заболевания спорадического характера, семейные случаи, групповые заболевания и глобальные эпидемические вспышки, происходящие циклично с интервалом 3-7 лет.

Респираторный микоплазмоз может проявляться в виде назофарингита, трахеита, острого стенозирующего ларинготрахеита, острого бронхита, обструктивного бронхита и пневмонии. Заболевание начинается остро, сопровождается у большинства больных подъемом температуры тела до фебрильной при отсутствии выраженной интоксикации. Возможно першение в горле.

Клиническая картина острых респираторных заболеваний микоплазменной этиологии, как правило, характеризуется острым началом с повышением температуры тела до 37,1-38 °С, общим недомоганием с чувством разбитости, головной болью, сухостью и першением в горле, заложенностью носа, может появляться сухой навязчивый коклюшеподобный кашель. По вечерам температура тела может повышаться до 39-40 °С и сохраняться 1-5 дней. Впоследствии развивается катаральное воспаление верхних дыхательных путей с кашлем, который может быть постоянным или приступообразным, сухим или влажным и продуктивным. В некоторых случаях при микоплазменной инфекции наблюдаются: миалгия, артриты, поражения центральной нервной системы, при которых микоплазмы можно выделить из ликвора. Инфицирование *M. pneumoniae* не всегда сопровождается развитием заболевания, около четверти инфицированных в очаге не обращаются за медицинской помощью, что приводит

к формированию транзитного носительства (до семи недель) микроорганизма в слизистой оболочке и лимфоузловом кольце.

Пневмония диагностируется в 3-10% случаев микоплазменной инфекции у детей, из них до 5% требуют госпитализации. Как правило, микоплазменная пневмония имеет нетяжелое течение и лечится амбулаторно. У пожилых людей ВП, вызванная *M. pneumoniae*, может сопровождаться развитием осложнений и иметь неблагоприятный прогноз. Обследование при использовании молекулярно-генетических биологических методов практически здоровых лиц, не связанных с очагами инфекции, показывает, что носительство *M. pneumoniae* в респираторном тракте не превышает 1%.

Chlamydia/Chlamydophila pneumoniae является облигатным внутриклеточным патогеном слизистой оболочки человека и животных, относится к классу *Chlamydiales* семейства *Chlamydiaceae*. Вопрос родовой принадлежности бактерии до сих пор дискутируется, поэтому в научной и медицинской литературе используются два названия микроорганизма: *Chlamydia pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*.

Chlamydia pneumoniae – отрицательная при окрашивании по Граму бактерия, облигатно паразитирующая внутри клеток слизистых оболочек человека. Цикл развития *C. pneumoniae*, продолжительностью 30-50 часов, состоит из чередования двух форм – элементарных и ретикулярных тел, различающихся по морфологии, своим метаболическим свойствам и вирулентности. *C. pneumoniae*, после инфицирования могут длительно персистировать в клетках респираторного эпителия верхних дыхательных путей и лимфоузловом кольце.

C. pneumoniae вызывает фарингиты, синуситы, бронхиты и пневмонию (описаны семейные кластеры и вспышки преимущественно в изолированных коллективах). Заболевание характеризуется постепенным началом, синдром интоксикации слабо выражен, иногда температура не превышает субфебрильных значений. Катаральный синдром проявляется затяжным назофарингитом и сухим коклюшеподобным кашлем. В случае развития пневмонии появляются признаки дыхательной недостаточности (одышка, цианоз) при относительно удовлетворительном общем состоянии с минимальными симптомами интоксикации. Реже заболевание протекает остро с выраженной интоксикацией и ранним развитием осложнений в форме плеврита, пневмоторакса. Нередко отмечаются гепатоспленомегалия и шейный лимфаденит. При рентгенологическом исследовании чаще выявляется двухсторонний очаговый или интерстициальный процесс, изменения в легких фиксируются до нескольких месяцев. При неадекватной терапии высока вероятность развития хронической патологии респираторного тракта.

Сероэпидемиологические исследования демонстрируют рост распространенности специфических АТ (IgG) к *C. pneumoniae* по мере увеличения возраста: от 10% у детей до 60% у взрослых и 80% у пожилых людей что свидетельствует о достаточно широкой распространенности возбудителя.

После перенесенной респираторной инфекции, вызванной *S. pneumoniae*, развиваются васкулиты и реактивные артриты. Носительство *S. pneumoniae* в эпителии верхних дыхательных путей отмечают у 4-6% детей без симптомов ОРИ и у 1-2% здоровых взрослых.

Показания к обследованию

- Острое или постепенно развивающееся заболевание с симптомами поражения верхних или нижних дыхательных путей: назофарингит, фарингит, гриппоподобные заболевания, синусит, бронхит, пневмония.

Дифференциальная диагностика

- ОРВИ, коклюшная инфекция.

Этиологическая лабораторная диагностика заболеваний включает обнаружение АГ и ДНК *M. pneumoniae* и *S. pneumoniae*, выявление специфических АТ к возбудителю, выделение микроорганизма на искусственных питательных средах, в культурах клеток и на развивающихся куриных эмбрионах (*S. pneumoniae*).

Материал для исследований

- Мазки из носоглотки – обнаружение АГ;
- мазки из носоглотки и ротоглотки – выявления ДНК микроорганизмов (поражение верхних дыхательных путей);
- мокрота, плевральная жидкость, аспираты из зева и трахеи – выявления ДНК микроорганизмов (поражение нижних дыхательных путей);
- сыворотка крови – обнаружение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

M. pneumoniae и *S. pneumoniae* относится к трудно культивируемым микроорганизмам, кроме того культуральное исследование занимает 3-5 недель, в связи с чем для рутинной диагностики не используется.

Для обнаружения АГ *M. pneumoniae* и *S. pneumoniae* применяют методы РИФ, однако диагностическая ценность этих исследований невелика. Чувствительность обнаружения АГ методом РИФ в сравнении с выделением культуры составляет от 20 до 60%, специфичность составляет 95%, но интерпретация результатов очень субъективна, в связи с чем диагностические характеристики сильно варьируют. Этот вид исследований преимущественно используется в качестве подтверждения вида микроорганизма, выделенного в культуре.

Наиболее чувствительным и специфичным методом прямой диагностики названных патогенов является выявление их ДНК методом ПЦР-РВ. ПЦР-РВ позволяет избежать перекрестных реакций, возможных при других методах исследования, с непатогенными для человека микоплазмами (*M. salivarium*, *M. orale*, *M. buccae*), в норме колонизирующими ротовую полость человека.

Обнаружение специфических АТ классов IgM и IgG к *M. pneumoniae* и *S. pneumoniae* в крови целесообразно проводить начиная со второй недели

заболевания с использованием ИФА (качественные, полуколичественные и количественные тесты), РСК или РИФ. При определении специфических АТ критерием инфекции, вызванной *S. pneumoniae* являются: 4-х кратное нарастание титров АТ IgG в парных сыворотках или однократное выявление АТ IgM в титре $\geq 1:16$.

Первичный иммунный ответ к *M. pneumoniae* характеризуется появлением АТ-IgM через 1-3 недели с момента заражения, их обнаружение свидетельствует об острой фазе инфекции, однако у 20% пациентов уровень специфических АТ-IgM не поднимается выше диагностического. Факт обнаружения специфических АТ к *M. pneumoniae* тестами различных производителей у здоровых доноров (IgM – от 4 до 51%; IgA – от 23 до 69%; IgG – 46%) позволяет предположить кросс-реактивность АТ, используемых в наборах реагентов, с микоплазмами других видов, что может привести к гипердиагностике микоплазменной инфекции

При использовании РСК отмечена перекрестная реакция с сыворотками лиц, недавно переболевших мононуклеозом. Исследование в образцах крови, взятых в динамике с интервалом 3-4 недели (парные сыворотки) в сравнении с однократным повышает диагностическую чувствительность с 32-52% до 88-89% при определении АТ-IgM к *M. pneumoniae*, и с 50% до 82% при определении АТ-IgG к *M. pneumoniae*.

Диагностическая специфичность и позитивное предсказательное значение (PPV) выявления ДНК методом ПЦР с использованием мазков из ротоглотки по сравнению с культуральной диагностикой *M. pneumoniae* составляет 100% и при сопоставлении с выявлением АТ (ИФА) – 97,6 и 92,3% соответственно. Диагностическая чувствительность и PPV при обнаружении IgM в одиночной сыворотке при сопоставлении с ПЦР намного ниже и составляет 62,2 и 52,3% соответственно.

Показания к применению различных лабораторных исследований

С целью быстрой этиологической диагностики используется выявление ДНК микроорганизмов методом ПЦР.

Выявление АТ применяют для ретроспективной диагностики (начиная со второй недели болезни) и ретроспективного анализа природы эпидемических вспышек.

В тех случаях, когда продолжительность болезни на момент обращения пациента за медицинской помощью превышает три недели и у пациента с пневмонией невозможно взять для исследования материал из нижних дыхательных путей, с целью обеспечения надежности диагностики необходимо сочетать ПЦР-исследования с обнаружением специфических АТ.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

При заболевании нижних дыхательных путей (бронхиты, пневмонии) для выявления ДНК возбудителей не рекомендуется использовать мазки из носоглотки и ротоглотки в связи с низкой информативностью иссле-

дования данного материала. Тем не менее, при пневмониях, вызванных *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae*, кашель часто бывает непродуктивным (мокрота отсутствует), в таких случаях для проведения ПЦР допускается использование мазков из верхних дыхательных путей (объединенный мазок из носоглотки и задней стенки глотки), однако отрицательный результат не может исключить инфекции. При определении титра АТ к *M. pneumoniae* или *C. pneumoniae* в образцах крови, взятых в динамике (парные сыворотки), диагностически значимым считается его изменение не менее чем в 4 раза во второй сыворотке по сравнению с первой.

При диагностике заболеваний, вызванных *M. pneumoniae*, следует учитывать, что у 20% пациентов уровень специфических АТ не поднимается выше диагностического, т. е. отрицательный результат исследования АТ-IgM не исключает наличия инфекции. При определении АТ-IgM к *Chlamydia pneumoniae* возможны ложноположительные результаты в случаях наличия у пациентов ревматоидного фактора в крови.

Легионеллез

Возбудители легионеллеза относятся к семейству *Legionellaceae*, роду *Legionella*, в котором выделяют 61 вид и 3 подвида, из них около 30 видов связывают с заболеваниями людей. Выделяют две клинические формы легионеллеза – лихорадка Понтиак, протекающая как острая респираторная вирусная инфекция, и пневмония (болезнь легионеров), возникающая при вдыхании мелкодисперсного аэрозоля воды, инфицированного возбудителем в концентрации 10^4 и выше микробных клеток в 1 литре.

Среди спорадических случаев внебольничной пневмонии болезнь легионеров встречается редко (в 2-6%). В 90% групповых и спорадических случаев болезни легионеров выделяют вид *Legionella pneumophila*, который включает в себя 16 серогрупп, но большинство случаев болезни легионеров (84% в мире, 80% в Европе) связаны с *L. pneumophila* серогруппы 1, остальные случаи заболевания могут быть вызваны *L. pneumophila* других серогрупп. Возбудителями нозокомиального легионеллеза нередко становятся *L. pneumophila* серогруппы 6.

У пациентов со сниженным иммунным статусом болезнь легионеров может быть вызвана также *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumophii*, *L. longbeachae*, более того за последние десять лет, было зафиксировано увеличение доли легионеллеза, вызванного *L. longbeachae*.

Возбудитель болезни легионеров распространен в пресноводных водоемах повсеместно в РФ и странах Европы, а также колонизирует внутренние поверхности водопроводного, промышленного и медицинского оборудования с образованием биопленок, устойчивых к действию дезинфицирующих средств. Легионеллы активно колонизируют системы горячего и холодного водоснабжения, централизованные системы кондиционирования воздуха с

водным охлаждением, градирни, вихревые бассейны и джакузи массового пользования, увлажнители воздуха, фонтаны. В начале заболевания характерны лихорадка, жалобы на сухой непродуктивный кашель, сильные головные боли, миалгии, колющие боли в груди, одышку. Период лихорадки обычно продолжается 10-15 дней. У 25% больных в начальном периоде наблюдается поражение желудочно-кишечного тракта – тошнота, рвота, боли в животе, диарея. Практически у всех пациентов наблюдается гепатомегалия. У 20-30% больных быстро развивается острая дыхательная недостаточность, требующая респираторной поддержки. В тяжелых случаях определяется симптоматика энцефалопатии: нарушение сознания, дезориентация, дизартрия, мозжечковые нарушения. Почки поражаются вторично. Летальность колеблется от 8 до 40% и зависит от своевременности диагностики, сроков и эффективности этиотропной терапии. Являясь внутриклеточным патогеном, легионеллы чувствительны только к антибиотикам, проникающим через биологические мембраны – современным макролидам и фторхинолонам.

Факторами риска инфицирования являются: заболевание в теплое время года; путешествие, совпадающее со сроком инкубационного периода (от 2 до 10 дней до начала заболевания); возраст старше 40 лет; мужской пол; курение; интенсивная системная гормональная или иммуносупрессивная терапия, внутрибольничная пневмония после проведения искусственной вентиляции легких.

Болезнь легионеров крайне редко встречается у детей, чаще регистрируется лихорадка Понтиак. Большинство случаев болезни легионеров выявляется у людей пожилого возраста (74-91% пациентов ≥ 50 лет) и преимущественно мужского пола.

Показания к обследованию

- Пневмония тяжелого течения при наличии факторов риска инфицирования *L. pneumophila*.

Этиологическая лабораторная диагностика включает обнаружение АГ *L. pneumophila* серогруппы 1, выделение возбудителя в чистой культуре и его идентификацию с определением вида, серогруппы и серовара, обнаружение ДНК *L. pneumophila*, выявление специфических АТ.

Материал для исследований:

- Моча – обнаружение АГ;
- БАЛ, мокрота – культуральное исследование, выявление ДНК микроорганизмов;
- мазки из носоглотки и ротоглотки (при подозрении на лихорадку Понтиак) – выявление ДНК микроорганизмов;
- сыворотка крови – обнаружение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

«Золотым стандартом» диагностики легионеллеза является культуральный метод. Однако существенными его недостатками являются низ-

кая чувствительность (варьирует от 10% до 80%) и время, необходимое для получения результата (около 4-5 суток).

Исследования по обнаружению АГ вследствие необходимости использования проб, взятых в динамике (парные сыворотки), носит ретроспективный характер.

ПЦР позволяет обнаруживать ДНК *L. pneumophila* всех серогрупп с чувствительностью 97-100% и специфичностью 95-100% (в сравнении с бактериологическим), однако высокая чувствительность достигается только при исследовании БАЛ или мокроты пациентов.

Благодаря быстрому получению результатов (3-4 ч), довольно высокой чувствительности (70-100%) и специфичности (99-100%) в сравнении с бактериологическим, на сегодняшний момент наиболее распространенным методом диагностики является определение в моче растворимого АГ *L. pneumophila* 1-й серогруппы методом ИФА или ИХА. Данные сравнения диагностической чувствительности определения АГ методами ИФА и ИХА противоречивы: ряд исследователей сообщает, что чувствительность ИХА ниже на ~30% чувствительности ИФА, однако, при исследовании предварительно концентрированных с помощью ультрафильтрации образцов мочи, значения чувствительности были практически одинаковыми. АГ, как правило, начинает выделяться с мочой с 3-го дня заболевания и может обнаруживаться в течение нескольких месяцев после перенесенной инфекции. Но чувствительность данного теста может снижаться при легионеллезе, вызванном другой серогруппой *L. pneumophila*, и в случае инфицирования другим видом *Legionella*.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Для ранней диагностики используется обнаружение в моче растворимого АГ *L. pneumophila* 1-й серогруппы. Выделение культуры возбудителя возможно при наличии материала из нижних дыхательных путей (желательно БАЛ). Обнаружение ДНК методом ПЦР применяется в диагностических целях при наличии материала из нижних дыхательных путей (желательно БАЛ); при подозрении на заболевание, вызванное *L. pneumophila*, отличных от 1-й серогруппы; при расследовании случаев летального исхода от пневмонии неясной этиологии.

Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований

Согласно нормативным документам (МУ 3.1.2.2412-08), диагноз «легионеллез» в случае острой инфекции нижних дыхательных путей (клинически и рентгенологически подтвержденной) считается установленным при выделении культуры легионелл; при определении растворимого АГ *L. pneumophila* серогруппы 1 в моче методом ИФА или ИХА; при 4-х или более кратном нарастании титра специфических АГ к *L. pneumophila* серогруппы 1, определяемых в образцах сыворотки крови, полученных последовательно в острый период заболевания и в период реконвалесценции

(спустя 10 дней – 1 месяц). При отсутствии пробы крови, взятой в ранние сроки болезни, выявление достоверно высокого уровня АТ (более 1:128) к *L. pneumophila* серогруппы 1 только в образце крови, взятом в период реконвалесценции, позволяет считать диагноз «легионеллез» предположительно установленным из-за возможности ложноположительных результатов. Обнаружение ДНК возбудителя методом ПЦР свидетельствует о наличии инфекции, однако согласно МУ 3.1.2.2412-08, диагноз следует считать предположительно установленным. Отрицательный результат выявления ДНК не исключает наличия инфекции, вызванной *L. pneumophila*.

Крайне важно проводить сбор материала для культурального исследования и ПЦР до назначения специфической противомикробной терапии. Несоблюдение данного условия может привести к ложноотрицательным результатам.

Дифтерия

Дифтерия – острое антропонозное инфекционное заболевание, протекающее с фибринозным воспалением миндалин и слизистых оболочек дыхательных путей (носоглотка, гортань, трахея) и тяжелой интоксикацией организма с преимущественным поражением сердца, почек и нервной системы. При дифтерии гортани на слизистых оболочках образуется пленка из фибрина и некротизированных тканей, при попытке удаления которой возникает кровотечение. Больной ощущает боль при глотании и болезненность лимфоузлов, наблюдается отек подкожно-жировой клетчатки, лихорадка. Описаны случаи дифтерии с поражением кожи, раневых поверхностей, глаз, половых органов. Классическая кожная форма дифтерии, часто регистрируемая в тропических странах, проявляется образованием язв, покрытым струпом серого цвета. Поскольку дифтерийные поражения кожи часто приобретают полимикробный характер (ассоциация с *S. aureus*, гемолитическим стрептококком и др.), могут наблюдаться и другие клинические проявления.

Дифтерию вызывают токсигенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae* или палочки Леффлера. Дифтерийный токсин относится к сильнодействующим ядам, под его воздействием нарушается синтез белков, приводя к структурным и функциональным нарушениям всех органов и систем, параличам и парезам. Способность к образованию токсина проявляют лишь штаммы *C. diphtheriae*, инфицированные бактериофагом, несущим кодирующую структуру токсина дифтерии ген *tox*. Передача гена *tox* нетоксигенным штаммам *C. diphtheriae*, обитающим в носоглотке, и их накопление в сочетании с низким уровнем популяционного иммунитета, может привести к развитию вспышки дифтерии.

Микроорганизмы рода *Corynebacterium* – грамположительные полиморфные булабовидные палочки, не образующие спор. При окраске ме-

тиленовым синим в клетках *C. diphtheriae* отмечается неоднородная окрасенность, обусловленная наличием зерен волютина.

На основании различий особенностей морфологии колоний, ферментативной активности и биохимических свойств вид *C. diphtheriae* подразделяется на 4 биотипа: *gravis*, *mitis*, *belfanti* и *intermedius*, все они способны вырабатывать дифтерийный токсин (при наличии гена *tox*). Тяжесть течения заболевания не связана с биохимическим вариантом *C. diphtheriae*. Нетоксигенные штаммы *C. diphtheriae* могут выделяться у больных при фарингитах, артритях, эндокардитах и других гнойно-септических заболеваниях.

Близкими к виду *C. diphtheriae* являются *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*, выделяемые от крупного и мелкого рогатого скота (м.р.с.), лошадей. *C. ulcerans* вызывает маститы коров, *C. pseudotuberculosis* – некротизирующий лимфаденит м.р.с. и лошадей. Основным фактором патогенности *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis* считается экзотоксин PLD, обладающий сфингомиелиназной активностью.

C. ulcerans, синтезирующие дополнительно к PLD токсин, родственный *C. diphtheriae* (сходство генов *tox* 40%), вызывают у человека ангины и фарингиты, которые сопровождаются язвенными и некротическими поражениями слизистой оболочки, сходными с дифтерией.

В европейских странах растет число случаев инфекции, вызванной токсигенными *C. ulcerans*, риску инфицирования подвергаются люди, употребляющие в пищу сырое молоко и имеющие домашних животных.

C. ulcerans, лишенный гена *tox*, иногда выделяют из носоглотки и ротоглотки здоровых людей. Описан один случай раневой инфекции у человека, вызванный нетоксигенным (несущий ген *tox*, но не экспрессирующий активный дифтерийный токсин) штаммом *C. ulcerans* с высокой вероятностью его передачи от здоровой собаки, из носа которой также был выделен *C. ulcerans*.

При инфицировании человека *C. pseudotuberculosis* в результате контакта с больным животным наблюдаются сходные с болезнью животных, проявления в виде казеозного лимфаденита. Считается, что фосфолипаза D (Pld) играет ключевую роль в распространении бактерий от места инфекции к лимфатическим узлам. Кроме того, описан случай пневмонии у студента-ветеринара, вызванной *C. pseudotuberculosis*. У штамма был обнаружен основной фактор патогенности – фосфолипаза D, ген дифтерийного токсина обнаружен не был.

Некоторые штаммы *C. pseudotuberculosis* могут приобретать ген *tox* *C. diphtheriae* вследствие инфицирования бактериофагом (p-фаг). Сообщается о выделении таких штаммов от животных. Сведений об инфицировании человека токсигенными *C. pseudotuberculosis* крайне мало. Известен, например, случай выделения токсигенной *C. pseudotuberculosis* из аорты пациента с эндокардитом. При этом в истории болезни пациента контакт с животными отрицался, и источник инфекции выявлен не был.

Со слизистой оболочки ротоглотки и носоглотки людей нередко выделяют *C. pseudodiphtheriticum*, которые у ослабленных лиц могут вызывать эндокардит, лимфаденит, инфекционные поражения кожи и мочевыводящих путей. Другие коринебактерии – *C. xerosis*, *C. striatum*, *C. minutissimum*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. matruchoti*, обитают на коже здоровых людей, но также могут быть выделены со слизистых оболочек ротоглотки.

Согласно Санитарно-эпидемиологическим правилам СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии», окончательный диагноз дифтерии может устанавливаться на основе клинической картины и результатов лабораторных исследований, а также с учетом клинической картины, развития симптомов болезни и оценки эффекта специфической терапии.

В этой связи основной задачей лабораторной диагностики дифтерии является раннее выявление возбудителя дифтерии – *C. diphtheriae* (его дифференциация от близкородственных видов и других коринеморфных бактерий) с определением его токсигенности, а также выявление несущих гены *tox* и экспрессирующих токсины *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*.

Показания к обследованию

- Больные с симптомами дифтерии, при подозрении на данное заболевание и лица, контактировавшие с ними;
- больные с диагнозами: ангина с патологическим выпотом на миндалинах, ларинготрахеит, ларингит, круп, заглоточный (паратонзиллярный) абсцесс, инфекционный мононуклеоз;
- лица, поступающие на работу в детские дома, дома ребенка, интернаты психоневрологического профиля для детей и взрослых, противотуберкулезные детские санатории, а также дети и взрослые, направляемые в эти учреждения.

Дифференциальная диагностика

- Заболевания, сопровождающиеся тонзиллитом (инфекционный мононуклеоз, ангины стрептококковой, стафилококковой этиологии и др.).

Этиологическая лабораторная диагностика включает бактериологическое исследование, идентификацию вида коринебактерий биохимическими тестами и исследования на наличие продукции ДТ, выявление специфических АТ.

При посеве *C. diphtheriae* дифференцируется от других коринебактерий, в первую очередь *C. pseudodiphtheriticum*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*

Материал для исследований

- Мазок со слизистой носоглотки и ротоглотки (при подозрении на дифтерию гортани) – культуральные исследования, выявление ДНК возбудителя дифтерии, обнаружение специфического фрагмента гена *tox*;
- отделяемое очагов дифтерийного поражения (при подозрении на дифтерию других локализаций) – культуральные исследования, выявление ДНК возбудителя дифтерии, обнаружение специфического фрагмента гена *tox*;

- сыворотка крови – выявление АТ к токсину.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики и особенности интерпретации их результатов

Для культурального исследования используют материал соответствующих локализаций. Изучение токсигенных свойств на среде для определения токсигенности выполняют при использовании метода встречной иммунодиффузии токсина и антитоксических АТ в плотной питательной среде (Elek-тест). Для биохимической идентификации используется тест с цистиназой (среда Пизу), определение уреазной и сахаролитической (сахароза, глюкоза, крахмал) активности.

Для выявления дифтерийного токсина используют методы РНГА или ИФА. Это исследование не является обязательным в практических бактериологических лабораториях, однако может использоваться как дополнительное для выдачи предварительного ответа.

Молекулярно-биологические методы могут быть использованы для быстрой постановки предварительного диагноза «Дифтерия», а также при проведении эпидемиологических расследований и профилактических исследований с целью выявления носителей *C. diphtheriae*, имеющих ген *tox*, а также для выявления несущих гены *tox* *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*.

Для выявления специфических АТ используют методы РПГА и РНГА. Исследование используется преимущественно для ретроспективной диагностики дифтерии и при проведении эпидемиологических исследований. В некоторых случаях диагноз «Дифтерия» может быть подтвержден четырехкратным и более увеличением уровня антитоксина в парных сыворотках крови, если больному не вводили антитоксин с лечебной целью, а его исходный уровень был низким.

С целью видовой идентификации коринебактерий может быть использована MALDI-TOF MS.

Одними из наиболее чувствительных, быстрых и надежных методов идентификации возбудителя является выявление ДНК *C. diphtheriae* и гена *tox* при использовании МАНК, в частности ПЦР.

Однако определение гена *tox* не является достаточным для доказательства токсигенности, поскольку его результаты не свидетельствуют о способности бактериальной клетки экспрессировать активный дифтерийный токсин. Поэтому при обнаружении гена *tox* токсигенность необходимо подтверждать стандартными тестами (например, Elek-тестом).

Определение специфических АТ методом РПГА используется для изучения напряженности противодифтерийного иммунитета. Условно-защитным титром АТ принят титр 1:20. С диагностической целью проводят определение титра АТ к АГ дифтерийной палочки методом РНГА в двух пробах сыворотки крови больного, собранных в начале заболевания и через 7-10 дней. Нарастание титра АТ в 3-4 раза во второй сыворотке относительно первой свидетельствует о перенесенной инфекции.

Менингококковая инфекция

Менингококковая инфекция (МИ) – антропонозная острая инфекционная болезнь с аспирационным механизмом передачи возбудителя. Возбудитель МИ – бактерии вида *Neisseria meningitidis*. Путь передачи – воздушно-капельный (при кашле, чихании, разговоре). Передача возбудителя происходит при тесном контакте с источником возбудителя. Возбудитель не способен циркулировать или длительно сохраняться во внешней среде.

Клинически МИ проявляется в виде бессимптомного носительства, локализованных форм (назофарингит) и генерализованных форм (ГФМИ). ГФМИ проявляются как менингококкцемия (менингококковый сепсис), менингит, менингоэнцефалит и как смешенная форма (менингококкцемия и менингит).

Заболеваемость ГФМИ на территории России снижается с середины 1980-х годов и, начиная с 2010 года, не превышает 1 на 100 тысяч населения. Для ГФМИ характерно чередование подъемов и спадов заболеваемости, а также не одинаковая интенсивность эпидемического процесса в различных регионах.

Показания к обследованию

- Подозрение на гнойный бактериальный менингит (ГБМ) или ГФМИ;
- исследования по эпидемиологическим показаниям в очаге ГФМИ среди контактных лиц.

Дифференциальная диагностика

- Возбудители ГБМ другой этиологии: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* и другие.

Этиологическая лабораторная диагностика включает микроскопию биологического материала; посев биологического материала с дальнейшей культуральной и биохимической идентификацией возбудителя, определение антибиотикочувствительности; обнаружение АГ или ДНК возбудителя, определение специфических АТ.

Материал для исследования

- СМЖ – микроскопическое исследование, культуральное исследование, выявление ДНК, выявление АГ;
- кровь – микроскопическое исследование, культуральное исследование;
- сыворотка крови – выявление АГ, определение специфических АТ
- мазки из ротоглотки и носа – культуральное исследование.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики и показания к применению различных лабораторных исследований

Наиболее достоверным методом, подтверждающим диагноз МИ, является получение и идентификация культуры возбудителя. В то же время на практике частота получения культуры менингококка при посеве образцов СМЖ не превышает 30-40% вследствие раннего назначения антибиотиков и

биологических особенностей возбудителя. Высокий процент ложноотрицательных результатов, длительность культивирования и последующей идентификации возбудителя не позволяют говорить о бактериологическом исследовании как надёжном методе диагностики МИ в клинической практике.

Микроскопическое исследование обладает низкой специфичностью, но занимает существенно меньше времени, чем культуральное. Микроскопическое исследование может быть выполнено непосредственно при поступлении больного в стационар для назначения стартовой эмпирической терапии.

Для обнаружения специфических АГ и АТ в сыворотке крови при диагностике ГФМИ могут быть использованы встречный иммуноэлектрофорез (ВИЭФ) и РНГА. При обнаружении АТ рекомендуется использовать парные сыворотки, взятые в активной фазе заболевания (первые два дня после поступления в стационар) и на 12-14 день заболевания. Диагноз считается подтвержденным при нарастании титров АТ в четыре и более раза в пределах указанного периода. Применение РНГА позволяет выявить динамику нарастания титра АТ в крови. Преимущественными возможностями РНГА является лабораторное подтверждение менингококцемии, при которой использование других методов лабораторной диагностики, за исключением ПЦР, как правило, мало эффективно.

Наибольшее клиническое значение имеет выявление АГ менингококка в СМЖ с помощью латекс-агглютинации. Исследование СМЖ проводится при наличии в образце признаков гнойного воспаления и/или при микроскопическом обнаружении возбудителей. Использование реакции позволяет в кратчайшие сроки (15-20 минут) поставить этиологический диагноз ГБМ в 40-70% случаев, в то же время визуальная оценка результата латекс-агглютинации не позволяет исключить ошибок при интерпретации итога реакции. Данное исследование рекомендуется проводить в течение первых двух дней после поступления в стационар.

Выявление ДНК менингококка методом ПЦР позволяет диагностировать до 100% случаев ГФМИ и проводить этиологическую расшифровку ГБМ в 80-90%. В отличие от определения АГ, на результат ПЦР-исследования не влияет прием антибиотиков. Определение ДНК менингококка методом ПЦР отличают высокая чувствительность и специфичность, вместе с тем длительность проведения анализа (до 3 часов) не позволяют говорить о преимуществах теста по сравнению с использованием латекс-агглютинации для определения АГ при постановке этиологического диагноза в рутинной клинической практике. Сочетание ПЦР и латекс-агглютинации для определения ДНК и АГ патогена позволяет увеличить расшифровку ГБМ до 90-100%. Ограниченное применение ПЦР-исследования в клинической практике связано как с необходимостью как можно более быстрой постановки этиологического диагноза при ГБМ для начала терапии, так и с относительно невысокой частотой ГФМИ. Показаниями к проведению

ПЦР при диагностике ГБМ являются:

- отрицательные результаты диагностики иными методами, особенно в случае исследования образцов СМЖ после применения антибиотиков или на поздних сроках болезни;
- необходимость получения срочного ответа об этиологии возбудителя;
- исследование образцов материала, доставленных в замороженном состоянии или фиксированных этанолом.

Литература

1. Агеева М.Р., Яцышина С.Б. Недооцененная инфекция – к вопросу о факторах патогенности аденовирусов человека // Вопросы вирусологии. – 2019. – №2. – С. 53-62.
2. Амосова И.В., Тимошичева Т.А., Егорова А.А. и др. Генетическое разнообразие аденовирусов, циркулирующих среди военнослужащих Северо-Западного региона // Вопросы вирусологии. – 2017. – № 6. – С. 283-287.
3. Белолицкий Г.В. Дифтерия // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: Бином. – 2013. – С. 131-134.
4. Беляева Н.М., Турьянов М.Х., Трякина И.П. и др. Дифтерия // М,СПб.: Нестор-история, 2012. – 272 с.
5. Вартамян Р.В., Швецова Ю.В., Бунин С.В., Яцышина С.Б., Малышев Н.А. Бокавирусная инфекция у детей раннего возраста // Детские инфекции. – 2010. – №3. – С. 10-14.
6. Дмитриев Г.А., Бехало В.А. Хламидии. – Методики клинических лабораторных исследований // М.: Лабора. – 2009. – Т.3. С. 346-355.
7. Горелов А.В., Швец Е.Ю., Кондратьева Т.Ю. и др. Клинические особенности бокавирусной инфекции у детей // Инфекционные болезни. – 2008. – №4. – С. 11-15.
8. Евсеева Е.Л., Горелов А.В., Кондратьева Т.Ю., Яцышина С.Б., Шипулин Г.А. Клинико-эпидемиологические особенности метапневмовирусной инфекции у детей // Инфекционные болезни. – 2008. – №3. – С. 27-32.
9. Залеских Н.В., Кокорева М.Н., Сивилева Т.В. Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе // Нижний Новгород: НПО «Диагностические системы», 2003. – С. 930-962.
10. Кондратьева Т.Ю., Швец Е.Ю., Евсеева Е.Л. и др. Эпидемиологические аспекты бокавирусной инфекции у детей // Инфекционные болезни. – 2008. – №2. – С. 1-16.
11. Курова Н.Н., Ценева Г.Я., Лобзин Ю.В. и др. Коклюш (клиническая и лабораторная диагностика) // Методические рекомендации для врачей-педиатров, инфекционистов, врачей общей практики, семейных врачей, специалистов по лабораторной диагностике. Спб.:ВМА им. Кирова., 2009. – 29с.
12. Мазурова И.К., Столярова Л.Г., Комбарова С.Ю. и др. Дифтерия (биологические свойства, выделение и идентификация возбудителя дифтерийной инфекции): учебное пособие // М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2016. – 72 с.
13. Николаева С.В., Зверева З.А., Каннер Е.В., Яцышина С.Б., Усенко Д.В., Горелов А.В.. Клинико-лабораторная характеристика коронавирусной инфекции у детей // Инфекционные болезни. – 2018. – №1. – С. 35-39.
14. Самороднова Е.А., Пикуза О.И. Хламидиозы у детей: неизвестное об известном // Педиатрия. – 2014. – № 9. – С. 60-66.
15. Синопальников А.И., Зайцев А.А. «Трудная» пневмония/ Пособие для врачей. Москва,

2010 – 56 с.

16. Спичак Т.В., Катосова Л.К., Яцышина С.Б. и др. Критический взгляд на результаты лабораторной диагностики внебольничной пневмонии микоплазменной этиологии у детей // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского. – 2014г. – №3. – С. 46-55.
17. Тартаковский И.С., Гинцбург А.Л., Лазикова Г.Ф. и др. Стандарты лабораторной диагностики легионеллеза и их применение во время эпидемической вспышки пневмоний в г. Верхняя Пышма // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. – №2. – С. 16-19.
18. Яцышина С.Б. Пневмовирусы в инфекционной патологии человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – № 6. – С. 95-105.
19. Яцышина С.Б., Агеева М.Р., Воробьева Н.С. и др. Аденовирусы в этиологической структуре ОРВИ за 2004-2014гг. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2015. – №5. – С. 50-57.
20. Яцышина С.Б., Коновалов А.В., Магкоева З.Г. и др. Лабораторная диагностика в оценке заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями в эпидемическом сезоне 2010-2011гг. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – №1. – С. 33-38.
21. Яцышина С.Б., Куличенко Т.В., Артемова И.В. и др. Использование иммунохроматографических тестов в алгоритме лабораторной диагностики гриппа // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2018. – №1. – С. 42-48.
22. Яцышина С.Б., Миненко А.Н., Прадед М.Н. и др. Диагностика гриппа: новый вариант H1N1 в России // Эпидемиология и инфекционные болезни. -2009. – №6. – С. 56-62.
23. Яцышина С.Б., Самчук В.В., Васильев В.В. и др. Аденовирусная пневмония с летальным исходом у взрослых // Терапевтический архив. – 2014. – №11. – С. 55-59.
24. Яцышина С.Б., Спичак Т.В., Ким С.С. и др. Выявление респираторных вирусов и атипичных бактерий у больных пневмонией и здоровых детей за десятилетний период наблюдения // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2016. – № 2. – С. 43-50.
25. Методические рекомендации МР 3.1.2.0072-13 «Диагностика коклюша и паракоклюша» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 24 мая 2013 г.).
26. Методические указания МУ 3.1.2.2412-08 «Эпидемиологический надзор за легионеллезной инфекцией» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 29.07.2008).
27. Методические указания МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 14.07.2013).
28. Методические указания МУ 3.1.3018-12 «Эпидемиологический надзор за дифтерией» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 7 июня 2012 г.).
29. Методические указания МУ 3.1.2.2160-07 «Эпидемиологический надзор за коклюшной инфекцией» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 12 февраля 2007 г.).
30. Alimia Y., Limb W., Lansbury L. et al. Systematic review of respiratory viral pathogens identified in adults with community-acquired pneumonia in Europe // Journal of Clinical Virology. – 2017. – Vol. 95. – P. 26-35.
31. Amodeo M., Murdoch D. Pithie A. Legionnaires' disease caused by Legionella longbeachae and Legionella pneumophila: comparison of clinical features, host-related risk factors, and outcomes // Clinical Microbiology and Infection. – 2010. – Vol. 16. – P. 1405-1407.
32. Apandi M., Rashid T., Hayan R et al. Human adenovirus type 7 outbreak in police training center, Malaysia, 2011 // Emerging Infectious Diseases. – 2012. – Vol. 18. – P. 852-854.
33. Avni T., Bieber A., Green H. et al. Diagnostic accuracy of PCR alone and compared to urinary antigen testing for detection of Legionella spp.: a systematic review // Journal of Clinical

- Microbiology. – 2016. – Vol. 54. – P. 401-411.
34. Beauté, J. Legionnaires' disease in Europe, 2011 to 2015. *Eurosurveillance*, 2017.22(27) doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.27.30566.
 35. Berger A., Hogardt M., Konrad R., Sing A. Detection methods for laboratory diagnosis of diphtheria // *Corynebacterium diphtheriae* and related toxigenic species. – Springer Netherlands, 2014. – P. 171-205.
 36. Blasi F., Tarsia P., Aliberti S. Chlamydophila pneumonia // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2009. – Vol. 15. – P. 29-35.
 37. Bouvet D., Gaudy-Graffin C., Garot D. et al. Diagnosis of community-acquired acute respiratory illness: From conventional microbiological methods to molecular detection (multiplex) // *Pathol Biol (Paris)*. – 2015. – Vol.63. – P. 69-73.
 38. Burillo A., Pedro-Botet M., Bouza, E. Microbiology and epidemiology of legionnaire's disease // *Infectious Disease Clinics*. – 2017. – Vol. 31. – P. 7-27.
 39. Chan J., Kok K., Zhu Z. et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan // *Emerg Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9. – P. 221-236.
 40. Chen K., Rothman R., Ramachandran P. et al. Rapid identification viruses from nasal pharyngeal aspirates in acute viral respiratory infections by RT-PCR and electrospray ionization mass spectrometry // *Journal of Virological Methods*. – 2011. – Vol. 173, p. 60-66.
 41. Corman V.M., Landt O., Kaiser M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR // *Euro Surveill*. 2020 Jan 23; 25(3): 2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.200004.
 42. De Zoysa A., Efstratiou A., Mann G. et al. Development, validation and implementation of a quadruplex real-time PCR assay for identification of potentially toxigenic corynebacteria // *Journal of Medical Microbiology*. – 2016. – Vol. 65. – P. 1521-1527.
 43. Diphtheria: NICD recommendations for diagnosis, management and public health response. http://www.nicd.ac.za/wp-content/uploads/2017/03/NICD-guidelines_diphtheria_v3_28-May-2018.pdf (дата обращения 11.04.2020).
 44. Dominguez J., Gali N., Matas L. et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic assay for the detection of Legionella antigen in urine samples // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 1999. – Vol. 18. – P. 896-898.
 45. Esposito S., Daleno C., Prunotto G. et al. Impact of viral infections in children with community-acquired pneumoniae: results of a study of 17 respiratory viruses // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2013. – Vol. 7. – P. 18-26.
 46. Fedová D., Novotný J., Kubínová I. Serological diagnosis of parainfluenza virus infections: verification of the sensitivity and specificity of the haemagglutination-inhibition (HI), complement-fixation (CF), immunofluorescence (IFA) tests and enzyme immunoassay (ELISA) // *Acta Virologica*. – 1992. – Vol. 36. – P. 304-312.
 47. Fendukly F., Bernander S., Hanson H. Nosocomial Legionnaires' disease caused by Legionella pneumophila serogroup 6: implication of the sequence-based typing method (SBT) // *Scandinavian journal of infectious diseases*. – 2007. – Vol. 39. – P. 213-216.
 48. Funke G., von Graevenitz A., Clarridge J., Bernard K. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria // *Clinical Microbiology Reviews*. – 1997. – Vol. 10. – P. 125-159.
 49. Fuursted K., Søres L., Crewe B. Non-toxigenic tox gene-bearing Corynebacterium ulcerans in a traumatic ulcer from a human case and his asymptomatic dog // *Microbes and Infection*. – 2015. – Vol. 17. – P. 717-719.
 50. Gaydos C., Roblin P., Hammerschlag M. et al. Diagnostic utility of PCR-enzyme immuno-

- assay, culture, and serology for detection of *Chlamydia pneumoniae* in symptomatic and asymptomatic patients // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1994. – Vol. 32. – P. 903-905.
51. Graham F., White P., Harte D., Kingham S. Changing epidemiological trends of legionellosis in New Zealand, 1979–2009 // *Epidemiology and Infection*. – 2012. – Vol. 140. – P. 1481-1496.
52. Greub G. International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: minutes of the inaugural closed meeting, 21 March 2009, Little Rock, AR, USA // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2010. – Vol. 60. – P. 691-2694.
53. Gorbalenya A., Baker S., Baric R. et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*. 2020; DOI: 2020.02.07.937862.
54. Guerrero C., Toldos C., Yagüe G. et al. Comparison of diagnostic sensitivities of three assays (Bartels enzyme immunoassay [EIA], Biotest EIA, and Binax NOW immunochromatographic test) for detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen in urine // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2004. – Vol. 42. – P. 467-468.
55. Hall C. The burgeoning burden of respiratory syncytial virus among children // *Infectious Disorders – Drug Targets*. – 2012. – Vol. 12. – P. 92-97.
56. Hammerschlag M. Community-acquired pneumonia due to atypical organisms in adults: diagnosis and treatment // *Infectious Disease in Clinical Practice*. – 1999. – Vol. 8. – P. 232-240.
57. Harris M., Clark J., Coote N. et al. Guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011 British Thoracic Society Community Acquired Pneumonia in Children Guideline Group // *Thorax*. – 2011. – Vol. 66. Suppl. 2. – P. 1-24.
58. Hasvold J., Sjoding M., Pohl K. et al. The role of human metapneumovirus in the critically ill adult patient // *Journal of Critical Care*. – 2016. – Vol. 31. – P. 233-237.
59. Heggelund L., Gaustad P., Havelsrud O. *Corynebacterium pseudotuberculosis* Pneumonia in a Veterinary Student Infected During Laboratory Work // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2015. 2(2):ofv053. doi: 10.1093/ofid/ofv053.
60. Helbig J., Uldum S., Lück P., Harrison T. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine samples by the Binax NOW immunochromatographic assay and comparison with both Binax *Legionella* Urinary Enzyme Immunoassay (EIA) and Biotest *Legionella* Urin Antigen EIA // *Journal of Medical Microbiology*. – 2001. – Vol. 50. – P. 509-516.
61. Jacobs E. *Mycoplasma pneumoniae*: now in the focus of clinicians and epidemiologists // *Eurosurveillance*. – 2012. – Vol. 17. – P. 1-3.
62. Julkunen I., Lehtomäki K., Hovi T. Immunoglobulin class-specific serological responses to adenovirus in respiratory infections of young adult men // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1986. – Vol. 24. – P. 112-115.
63. Kim E., Youn Y., Rhim J. et al. Epidemiological comparison of three *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia Epidemics in a single hospital over 10 years // *Korean Journal of Pediatrics*. – 2015. – Vol. 58. – P. 172-177.
64. Kim H., Oh S., Yun K. et al. Comparison of Anyplex II RV16 with the xTAG respiratory viral panel and Seeplex RV15 for detection of respiratory viruses // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2013. – Vol. 51. – P. 1137-1141.
65. Kraaij-Dirkzwager M., Timen A., Dirksen K. et al. East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infections in two returning travellers in the Netherlands, May 2014 // *Eurosurveillance*. – 2014. – Vol. 19. – pii: 20817.
66. Lin B., Wang Z., Vora G. et al. Broad spectrum respiratory tract pathogen identification using resequencing DNA microarrays // *Genome Res*. – 2006. – Vol. 16. – P. 527-535.
67. Mattoo S., Cherry J. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of

- respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* Subspecies // *Clinical Microbiology Reviews*. – Vol. 18. – P. 326-382.
68. Meurman O., Ruuskanen O., Sarkkinen H. Immunoassay diagnosis of adenovirus infections in children // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1983. – Vol. 18. – P. 1190-1195.
69. Meurman O., Ruuskanen O., Sarkkinen H. et al. Immunoglobulin class-specific antibody response in respiratory syncytial virus infection measured by enzyme immunoassay // *Journal of Medical Virology*. – 1984. – Vol.14. – P. 67-72.
70. Miyashita N., Ouchi K., Shoji H. et al. Outbreak of *Chlamydia pneumoniae* infection in long-term care facilities and an affiliated hospital // *Journal of Medical Microbiology*. – 2005. – Vol. 54. – P. 1243-1247.
71. Miyashita N., Ouchi K., Kawasaki K. et al. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in the elderly // *Medical Science Monitor*. – 2008. – Vol. 14. – P. 387-391.
72. Oliveira A., Oliveira L., Flavia Aburjaile F. et al. Insight of genus *Corynebacterium*: ascertaining the role of pathogenic and non-pathogenic species // *Frontiers in Microbiology*. – 2017; 8: 1937. doi: 10.3389/fmicb.2017.01937.
73. Parrott G., Kinjo T., Fujita J. A compendium for *Mycoplasma pneumoniae* // *Front. Microbiol*. 2016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00513>.
74. Peiris J., Chu C., Cheng V. et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study // *Lancet*. – 2003. – Vol. 361. – P. 1767-1772.
75. Puthavathana P., Habanananda S., Toncharoensook R. et al. Serological response to respiratory syncytial virus infection in pediatric patients with a comparison to immunofluorescence and virus isolation // *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. – 1995. – Vol.13.– P.37-41.
76. Public health control and management of diphtheria (in England and Wales): 2015 guidelines. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/416108/Diphtheria_Guidelines_Final.pdf (дата обращения 11.04.2020).
77. Reijans M., Dingemans G., Klaassen C. et al. RespiFinder: a new multiparameter test to differently identify fifteen respiratory viruses // *Journal of Medical Microbiology*. – 2008. – Vol. 46. – P. 1232-1240.
78. Rhedin S., Lindstrand A., Rotzen-Oslund M. et al. Clinical utility of PCR for common viruses in acute respiratory illness // *Pediatrics*. – 2014. – Vol. 133. – P. e538-545.
79. Shimada T., Noguchi Y., Jackson J. et al. Systematic review and metaanalysis: urinary antigen tests for Legionellosis // *Chest*. – 2009. – Vol. 136. – P. 1576-1585.
80. Steininger C., Aberle S., Popow-Kraupp T. Early detection of acute rhinovirus infections by a rapid reverse transcription-PCR assay // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2000. – Vol. 39. – P. 129-133.
81. Taylor S., Lopez P., Weckx L. et al. Respiratory viruses and influenza-like illness: Epidemiology and outcomes in children aged 6 months to 10 years in a multi-country population sample // *Journal of Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 74. – P.29-41.
82. Torres L., Ribeiro D., Raphael H. Multiplex polymerase chain reaction to identify and determine the toxigenicity of *Corynebacterium* spp with zoonotic potential and an overview of human and animal infections // *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. – 2013. – Vol. 108. – P. 272-279.
83. Troy C., Peeling R., Ellis A. et al. *Chlamydia pneumoniae* as a new source of infectious outbreaks in nursing homes // *JAMA*. – 1997. – Vol. 277. – P. 1214-1218.
84. Uršič T., Jevšnik M., Zigon N. et al. Human bocavirus and other respiratory viral infections in a 2-year cohort of hospitalized children // *Journal of Medical Virology*. – 2012. – Vol. 84. – P. 99-108.
85. Valero-Rello A., Henares D., Acosta L. et al. Validation and implementation of a diagnostic algorithm for DNA detection of *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis*, and *B. holmesii* in a pediatric re-

- ferral hospital in Barcelona, Spain // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2019. – Vol. 57. P. e01231-18.
86. Wagner K., White J., Crowcroft N. et al. Diphtheria in the United Kingdom, 1986-2008: the increasing role of *Corynebacterium ulcerans* // *Epidemiology and Infection*. – 2010. – Vol. 138. – P.1519-1530.
87. Waites K., Talkington D. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2004. – Vol. 17. – P. 697-728.
88. Yamazaki T., Nakada H., Sakurai N. et al. Transmission of *Chlamydia pneumoniae* in young children in a Japanese family // *Journal of Infectious Diseases*. – 1990. – Vol. 162. – P. 1390-1392.
89. Yu V., Plouffe J., Pastoris M. et al. Distribution of *Legionella* species and serogroups isolated by culture in patients with sporadic community-acquired legionellosis: an international collaborative survey // *J Infect Dis*. – 2002. – Vol. 186. – P. 127-128.
90. Xiao F., Tang M., Zheng X. et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2 // *Gastroenterology*. 2020 DOI:10.1053/j.gastro.2020.02.055.
91. Zakikhany K., Efstratiou A. Diphtheria in Europe: current problems and new challenges // *Future Microbiology*. – 2012 – Vol. 7. – P. 595-607.
92. Zar H. et al. Induced sputum versus gastric lavage for microbiological confirmation of pulmonary tuberculosis in infants and young children: a prospective study // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365. – P. 130-134.

■ ToRCH-инфекции

Перинатальная инфекционная патология – одна из сложных проблем акушерства и педиатрии, которая обусловлена как существенными пери- и постнатальными потерями, влиянием на показатели младенческой заболеваемости и смертности, так и ранней инвалидизацией, а также снижением качества жизни детей, перенесших тяжелые формы врожденной инфекции. Основная роль в развитии перинатальных инфекций отводится возбудителям обобщенной группы ToRCH-инфекций.

Впервые термин ToRCH предложен Andre J. Nahmias в 1971 г. В основе аббревиатуры лежат начальные буквы латинских названий основных врожденных инфекций: **T** – *Toxoplasmosis* – токсоплазмоз; **o** – other (первоначально к группе был отнесен сифилис, в последующие годы разными группами исследователей в список добавлены и другие заболевания, такие как: вирусные гепатиты B, C, D и G; ВИЧ, ветряная оспа, инфекционный мононуклеоз, листериоз и др.); **R** – *Rubella* – краснуха; **C** – *Cytomegalia* – цитомегаловирусная инфекция; **H** – *Herpes simplex virus* – инфекции, вызванные вирусом простого герпеса.

ToRCH-инфекции отличаются широкой распространенностью потенциальных возбудителей среди различных групп населения в популяции, бессимптомное течение заболевания или отсутствие патогномичных клинических симптомов, высокий риск развития патологии у плода или новорожденного при первичном инфицировании женщины во время беременности, возможность реактивации при латентной инфекции у имму-

нокомпрометированных женщин во время беременности с потенциальным риском внутриутробного заражения плода, занятие существенного места в структуре причин неблагоприятных исходов беременности (выкидыши, мертворождение, преждевременные роды).

Лабораторная верификация этиологии перинатальной инфекционной патологии является ключевым звеном диагностики и определяет возможность своевременного назначения специфической терапии. При этом однотипность клинических проявлений ToRCH-инфекций обосновывает необходимость безотлагательного проведения лабораторной расшифровки этиологии заболевания.

На современном этапе лабораторная диагностика ToRCH-инфекций включает обнаружение возбудителя, выявление его АГ, ДНК или РНК и определение специфических АТ к АГ соответствующего микроорганизма. Цель лабораторных исследований, их перечень и интерпретация отличаются для разных групп обследуемых.

Выявление инфекции у беременной включает скрининговое обследование и исследования, направленные на верификацию диагноза, установление формы и активности инфекционного процесса. Скрининговое обследование заключается в выявлении специфических АТ-IgM и АТ-IgG в сыворотке/плазме крови. Верификацию диагноза, установление формы и активности инфекционного процесса в большинстве случаев проводят на основании оценки результатов косвенных (выявление специфических АТ-IgM, АТ-IgG с определением авидности) и/или прямых (обнаружение возбудителя, его ДНК/РНК или АГ) методов лабораторных исследований.

Пренатальная диагностика направлена на установление факта инфицирования плода, при этом решающее значение имеют именно результаты прямых методов лабораторной диагностики (в первую очередь – МАНК). Выбор типа биологического материала для исследования определяется с учетом срока беременности, обуславливающего возможность использования того или иного метода при выполнении инвазивной пренатальной диагностики. Косвенным подтверждением факта инфицирования плода является обнаружение специфических АТ-IgM к АГ возбудителя в пуповинной крови (проведение исследования возможно только с 22 недели гестации). Однако данное тестирование имеет более низкую диагностическую ценность и отрицательные результаты проведенного исследования не исключают внутриутробного инфицирования плода.

Постнатальная диагностика проводится у детей в ранний неонатальный период и период грудного возраста для верификации диагноза, установления формы и активности инфекционного процесса. Она включает выявление специфических АТ-IgM и/или обнаружение возбудителя, его ДНК/РНК или АГ. Определение АТ-IgG целесообразно проводить в период, когда пассивно полученные материнские АТ-IgG уже исчезают. При

трактовке результатов обследования необходимо учитывать, что отрицательный результат определения специфических АТ-IgM к АГ возбудителя у детей первого года жизни может быть обусловлен особенностями естественного развития их иммунной системы.

В целом при проведении лабораторной диагностики важно учитывать, что диагностическая (клиническая) значимость выявления возбудителей или маркеров развития инфекции и корректная интерпретация результатов тестирования в значительной степени зависят от типа исследуемого биологического образца и сроков его взятия.

В нашей книге уделено прицельное внимание лабораторной диагностике пяти заболеваний, входящих в состав ToRCH-инфекций, а именно краснухе, токсоплазмозу, парвовирусной инфекции, ЦМВИ и инфекции, вызванной вирусом простого герпеса и вирусом Варицелла-Зостер (см. главу «Герпес-вирусные инфекции»).

Токсоплазмоз

Токсоплазмоз – убиквитарное антропозоонозное природноочаговое заболевание, характеризующееся полиморфизмом клинических проявлений и значительной вариабельностью течения инвазионного процесса: от здорового бессимптомного носительства, до тяжелых, летальных форм. В зависимости от механизма инвазирования различают приобретенный и врожденный токсоплазмоз.

Возбудителем токсоплазмоза является *Toxoplasma gondii* (*toxon* (греч.) – дуга, арка; *plasma* (греч.) – форма) – облигатное внутриклеточное паразитическое простейшее размером 4-7 мкм со сложным факультативно-гетероксенным циклом развития. *T. gondii* относится к типу *Apicomplexa*, классу *Coccidia*, отряду *Eucoccidiorida*, семейству *Sarcocystidae*. Впервые это паразитическое простейшее описано в 1908 г. Ch. Nicolle и L. Manseaux у грызуна *Stenodactylus gundi* в Тунисе (Северная Африка) и одновременно, и независимо А. Splendore у домашнего кролика в Бразилии (Южная Америка). Тем не менее, весь цикл его развития был окончательно расшифрован лишь в конце 60-х гг. XX в.

Дефинитивными (окончательными) хозяевами *T. gondii* являются представители семейства *Felidae* (кошачьи), промежуточными – более 400 видов теплокровных, в том числе: человек, представители семейства *Felidae*, многие виды птиц. Различают несколько морфологических форм возбудителя: тахизоиты, цисты с брадизоитами, ооцисты со спорозоитами. Тахизоиты и цисты с брадизоитами, характерные для острой и хронической (латентной) стадии заболевания, соответственно, образуются в результате бесполого размножения в организме промежуточных и дефинитивных хозяев. Цисты локализуются преимущественно в головном мозге, практически во всех структурах глаз (в том числе в сетчатке), мышцах.

Это обуславливает длительное персистирование *T.gondii* с потенциальной возможностью реактивации. Ооцисты образуются в результате полового размножения в эпителиальных клетках кишечника дефинитивных хозяев, затем с фекалиями выделяются во внешнюю среду, где после спорулирования (1-5 дней) становятся устойчивыми к различным неблагоприятным факторам и сохраняют инвазионность в течение 1,5-2 лет.

У *T. gondii* гаплоидный геном длиной 64.1641 Мб (медиана), включает около 6000 генов. Различают 3 основных генотипа *T. gondii*: I, II, III. Однако в последнее время большинство филогенетических исследований указывают на то, что структура популяции *T. gondii* является гораздо более сложной, чем первоначально рассматривалось, и помимо трех типичных генотипов существует множество атипичных. При анализе 30 локусов, распределенных по всем 14 хромосомам и апикопласту, выявлено по крайней мере 15 гаплогрупп, составляющих в совокупности 6 основных групп.

Токсоплазмоз имеет широкое, практически повсеместное распространение. Распространенность в популяции, по данным выявления специфических АТ-IgG в разных странах, варьирует в широких пределах и в большей степени зависит от санитарно-гигиенических условий, особенностей питания. В Европе самые высокие показатели распространенности зарегистрированы во Франции – до 60%. При этом, по данным разных авторов, в целом в Центральной Европе распространенность выше, чем в Скандинавии (14%) или Великобритании (25%). В Австралии инвазировано 25% населения, Индии – 55%, Канаде – 10-20%, США – 22,5%, Японии – 10%, РФ 28-37%.

В 1972 г. эксперты ВОЗ включили токсоплазмоз в число зоонозов, наиболее опасных для здоровья человека, а в 1980 г. он признан одной из немногих оппортунистических инфекций протозойной этиологии. В настоящее время токсоплазмоз продолжает занимать 3-5 место в структуре оппортунистических заболеваний у пациентов с ВИЧ-инфекцией во всем мире и 1-2 место среди инфекционных заболеваний ЦНС.

Основной источник инвазии – дикие и домашние кошки. Пути заражения человека: алиментарный (тахизоиты, цисты с брадизоитами, спорулированные ооцисты), трансплацентарный (тахизоиты), парентеральный: гемотрансфузии (тахизоиты), трансплантации солидных органов (цисты с брадизоитами); контактный (тахизоиты). Средняя продолжительность инкубационного периода составляет 7-14 дней.

Приобретенный токсоплазмоз в 95-99% случаев протекает бессимптомно. Клинически выраженные формы приобретенного токсоплазмоза, развивающиеся при заражении человека штаммом с высокой вирулентностью и/или большой заражающей дозой возбудителя, встречаются крайне редко. Клиническая картина, в зависимости от органного или системного поражения, характеризуется лихорадкой, лимфоаденопатией, энцефалитом, хориоретинитом, миозитом, миокардитом, пневмонией, гепатоспленомегалией и макулопапулезной сыпью. У пациентов с глубоким иммунодефи-

цитом при первичном инвазировании (5%) или реактивации латентной инвазии (95%) токсоплазмоз вследствие диссеминации *T. gondii* на фоне иммуносупрессии может развиваться манифестно по типу «токсоплазменного сепсиса» или энцефалита. У больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции главной причиной неврологической патологии является церебральный токсоплазмоз: 34,7% случаев поражения головного мозга и 11% – в виде генерализованного процесса с вовлечением головного мозга, печени, легких и глаз. Заболеваемость токсоплазмозом пациентов после ортотопической трансплантации сердца в Европейский странах не превышает 0,6% и чаще связана со случаями развития первичной инвазии при передаче *T. gondii* с трансплантатом. Среди клинических проявлений наиболее часто регистрируется пневмония (31,8%), миокардит (22,7%), энцефалит (22,7%) и диссеминированные формы (22,7%). Несмотря на тяжесть заболевания, своевременная диагностика и лечение позволяют снизить летальность от токсоплазмоза до 13,6%. Летальные исходы чаще регистрируют у пациентов с диссеминированными формами токсоплазмоза, протекающими под маской септического шока и полиорганной недостаточности.

Риск инвазирования плода с последующим развитием врожденного (пренатального) токсоплазмоза при первичной инвазии у матери в первом триместре беременности составляет 4-17%, втором – 24-29%, третьем – 60-62%. Частота и тяжесть инвазирования плода зависит от продолжительности гестации, длительности и интенсивности паразитемии, вирулентности возбудителя. Инвазирование плода в первом триместре беременности приводит к спонтанным выкидышам; во втором – к мертворождению, рождению детей с аномалиями развития (энцефалит, менингоэнцефалит, микроцефалия, гидроцефалия, миокардиты, гепатоспленомегалия, микрофтальмия, хориоретинит), третьем – рождению детей с аномалиями развития, проявляющимися отсрочено (через месяцы и годы) нарушениями зрения и слуха, задержкой психомоторного развития. В период новорожденности заболевание может протекать в манифестной (10-15%) или субклинической форме (85-90%), формируя в дальнейшем латентное или хроническое течение, в последнем случае – с более высокой частотой рецидивов и обострений, особенно – в пубертатном возрасте. Трансплацентарная передача *T. gondii* от матери плоду в случае заражения токсоплазмозом женщины до зачатия крайне редка и свойственна, в основном, пациентам с иммунодефицитом. Тем не менее, описаны единичные случаи реинвазии беременных *T. gondii* другого генотипа с последующей вертикальной передачей возбудителя и развитием врожденного токсоплазмоза.

Значительный полиморфизм клинических проявлений, отсутствие патогномичных симптомов при токсоплазмозе и разнообразный характер течения болезни практически исключают возможность постановки диагноза только на основании клинической картины, в связи с чем возрастает роль проведения своевременных функциональных исследований, как

лабораторных, так и инструментальных.

Показания к обследованию

- Планирование беременности (предгравидарная подготовка);
- беременные женщины при наличии патологии текущей беременности (в первую очередь с УЗИ-признаками ВУИ, аномалиями развития плода);
- новорожденные при подозрении на ВУИ, с врожденными пороками развития;
- дети, рожденные от матерей, перенесших острый токсоплазмоз во время беременности;
- наличие инфекционного синдрома (длительный субфебрилитет; лимфадениты, особенно шейный и затылочный; гепатоспленомегалия; гепатит и миокардит неясного генеза; подострый или хронический энцефалит; хориоретинит, увеит, прогрессирующая близорукость; острое лихорадочное заболевание с сыпью неясного генеза);
- больные на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, а также пациенты с вторичными иммунодефицитами другого генеза (в первую очередь реципиенты солидных органов) с признаками поражения ЦНС, сетчатки, легких, септического состояния.

Дифференциальная диагностика

- При патологии беременности, гибели плода, мертворождении – ЦМВИ, парвовирусная инфекция, краснуха и др.;
- новорожденные и дети первого года жизни – герпес-вирусные инфекции;
- при наличии инфекционного синдрома (лихорадки, лимфаденопатии, гепато- и/или спленомегалии), гепатита неясной этиологии, хориоретинита, заднего увеита, поражения головного мозга (энцефалит) – герпес-вирусные инфекции, ВИЧ-инфекция с вторичными поражениями другого генеза (ЦМВИ, микозы, прогрессирующая лейкоэнцефалопатия, опухоли ЦНС и пр.).

Этиологическая лабораторная диагностика включает визуальное обнаружение возбудителя с использованием микроскопии, выделение возбудителя в культуре клеток, биопробу на лабораторных животных, выявление АГ или ДНК *T. gondii*, определение специфических АТ классов IgA, IgG, IgM и авидности АТ-IgG.

Материал для исследования

- СМЖ, АЖ, БАЛ, плевральная жидкость, биоптаты лимфатических узлов, костного мозга, внутренних органов; плацента, периферическая кровь – визуальное обнаружение возбудителя с использованием микроскопии, выделение в культуре клеток, биопроба на лабораторных животных, выявление АГ или ДНК *T. gondii*;
- пуповинная кровь, субретинальная жидкость, микробиоптаты (пунктаты) лимфатических узлов, стекловидного тела; ворсинки хориона – выявление ДНК *T. gondii*.

- сыворотка/плазма периферической и пуповинной крови, СМЖ – определение специфических АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Микроскопия мазков, мазков-отпечатков, гистологических срезов, биопроба на лабораторных животных, выделение возбудителя в культуре клеток позволяют провести идентификацию *T. gondii* в тканях или биологических жидкостях пациента. Данные методы выявления *T. gondii* для рутинной диагностики токсоплазмоза применяются крайне редко ввиду трудоемкости, длительности исполнения, а при постановке биопроб – необходимости лабораторных животных и соблюдения специальных условий их содержания.

Для определения АТ к *T. gondii* разных классов IgA, IgG, IgM в сыворотке/плазме периферической крови преимущественно применяют метод ИФА. Специфические АТ-IgM возникают через 2-3 недели после первичного инвазирования и могут обнаруживаться в течение 18 месяцев; незначительное возрастание уровня специфических АТ-IgM возможно при реактивации латентного токсоплазмоза. АТ-IgA к АГ *T. gondii* появляются через 2 недели с момента инвазирования, достигают максимальной концентрации через месяц и в 90% случаев исчезают через 6 месяцев, вновь появляясь при реактивации. АТ-IgG к АГ *T. gondii* появляются в более поздние сроки (с 6-8 недели) и сохраняются пожизненно.

Выявление АТ-IgM может свидетельствовать о первичной инвазии, реинвазии, суперинвазии или реактивации; АТ-IgA – как о первичной инвазии, так и о реактивации; АТ-IgG – о существующей инвазии. Определение avidности специфических АТ-IgG к *T. gondii* в сыворотке/плазме периферической крови методом ИФА позволяет уточнить срок давности инвазии, дифференцировать острый и хронический токсоплазмоз. К достоинствам данного метода выявления специфических АТ разных классов относятся простота, высокая специфичность и чувствительность, а также невысокая стоимость исследования; недостаткам – возможность получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Исследование может быть выполнено в качественном, полуколичественном и количественном форматах.

Для выявления АГ *T. gondii* возможно применение методов РИФ, РНИФ с использованием моноклональных или высокоочищенных поликлональных АТ. Прогностическая ценность применения названных исследований в сочетании с другими лабораторными и инструментальными процедурами повышается. К недостаткам РИФ, РНИФ относят субъективность при интерпретации полученных данных и зависимость результатов от квалификации специалиста, выполняющего анализ.

Для выявления ДНК *T. gondii* в биологическом материале используют молекулярно-биологические методы, преимущественно МАНК. За прошедшие годы апробировано несколько технологий МАНК: конвенционная и гнездовая (nested) ПЦР, а также ПЦР с разными вариантами

детекции продуктов амплификации (ЭФ, FEP, ПЦР-РВ). Основными преимуществами использования ПЦР-анализа являются: быстрота исполнения в сочетании с высокими показателями диагностической чувствительности и специфичности, возможность исследования практически любого типа биологического материала, воспроизводимость полученных результатов. Результаты исследования не зависят от иммунологического статуса обследуемого пациента и являются решающими при диагностике врожденного токсоплазмоза, токсоплазмоза с поражением глаз, а также при проведении обследования пациентов с иммуносупрессивными состояниями различного генеза. Использование количественного формата ПЦР-исследования позволяет оценить динамику развития инвазионного процесса и эффективность этиотропной терапии токсоплазмоза у разных групп пациентов. В настоящее время в РФ зарегистрированы и производятся наборы реагентов, позволяющие выявлять ДНК *T. gondii* в различном биологическом материале (СМЖ, АЖ, пуповинная кровь, периферическая кровь, биопсийный и аутопсийный тканевой материал, в том числе микробиоптаты (пунктаты) лимфатических узлов и др.) методом ПЦР как в качественном (преимущественно), так и количественном форматах.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Этиологическая лабораторная диагностика приобретенного токсоплазмоза

Определение специфических АТ к АГ *T. gondii* (АТ-IgA, АТ-IgG, АТ-IgM) в сыворотке/плазме крови используют для первичного скрининга и исследований, направленных на верификацию диагноза, установление формы и активности инвазионного процесса, а так же в рамках эпидемиологического надзора за токсоплазмозом. Необходимо подчеркнуть, что установить форму и активность инвазионного процесса возможно лишь при сопоставлении результатов исследований, направленных на выявление специфических АТ классов IgA, IgG, IgM к АГ *T. gondii* в динамике: тестирование парных образцов сыворотки/плазмы крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец получен не менее чем через 14 дней после первого). Однократное тестирование, направленное на выявление специфических АТ какого-либо класса (IgA, IgG, IgM) демонстрирует низкую диагностическую (клиническую) специфичность, не позволяет достоверно дифференцировать острый и хронический токсоплазмоз. Для уточнения срока давности инвазии, дифференциации острого и хронического токсоплазмоза проводится определение авидности АТ-IgG к АГ *T. gondii*. Обнаружение низкоавидных специфических АТ-IgG свидетельствует об острой инвазии, высокоавидных – о хронической. Низкоавидные АТ-IgG к АГ *T. gondii* могут выявляться до 3-6 месяцев с момента инвазии, в редких случаях – до 6 лет.

Дополнительным исследованием при диагностике поражений головного мозга, обусловленных *T. gondii*, является параллельное тестирование сыворотки/плазмы крови и СМЖ, направленное на выявление специфических АТ-IgG методом ИФА с расчетом величины интратекальной продукции.

У лиц с выраженным иммунодефицитом повышение уровня специфических АТ-IgG, выявление АТ-IgM в крови пациентов наблюдается крайне редко. Определение авидности специфических АТ-IgG у пациентов с ВИЧ-инфекцией неоправданно, так как более чем в 90% случаев наблюдается реактивация латентного токсоплазмоза, и, следовательно, определяются высокоавидные АТ. Лабораторное подтверждение диагноза у пациентов с глубоким иммунодефицитом основано на использовании прямых методов исследования.

Обнаружение ДНК *T. gondii* используют для выявления и подтверждения развития органной патологии паразитарной этиологии, «токсоплазменного сепсиса». В настоящее время определение ДНК *T. gondii* в СМЖ признано наиболее информативным лабораторным маркером при диагностике церебрального токсоплазмоза (диагностическая чувствительность – 50% (30-100%), диагностическая специфичность – более 96%). Количественное определение ДНК *T. gondii* имеет высокое диагностическое значение при мониторинге заболевания у пациентов с выраженным иммунодефицитом, среди которых больные ВИЧ-инфекцией и реципиенты гемопоэтических стволовых клеток и солидных органов.

Применение методов РИФ, РНИФ для выявления АГ *T. gondii* показано преимущественно для диагностики ранней фазы острого токсоплазмоза.

Этиологическая лабораторная диагностика врожденного токсоплазмоза

Динамическое лабораторное обследование беременных женщин при подозрении на острый токсоплазмоз является обязательным. По результатам единичного исследования невозможно установить продолжительность инвазионного процесса и точное соответствие той или иной его стадии, тогда как для оценки риска внутриутробного заражения плода этот вопрос является основополагающим. Выявление и подтверждение наличия специфических АТ-IgM не является однозначным показателем к прерыванию беременности. Постановка диагноза на основе однократного выявления АТ-IgM к АГ *T. gondii* в сыворотке/плазме периферической крови недопустима. Необходимо использовать дополнительные методы, позволяющие снизить риск неточного диагноза.

В настоящее время отсутствует официально утвержденная схема пренатальной диагностики врожденного токсоплазмоза. Однако большинство исследователей склоняются к мнению, что обнаружение ДНК *T. gondii* с помощью прямых методов лабораторной диагностики является важным критерием при постановке диагноза. Выбор типа биологического материала при установлении факта инвазирования плода методом ПЦР определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: ворсинки хориона – 10-12 недель, образцы плаценты – 13-18 недель, амниотическая жидкость – 16-23 недель; пуповинная кровь – 20-24 недель.

Обнаружение ДНК *T. gondii* в АЖ с помощью ПЦР является в настоящее время наиболее надежным тестом пренатальной диагностики врожденно-

го токсоплазмоза. Прогностическая ценность отрицательного результата составляет около 100% при развитии инвазии у матери в первый или второй триместр беременности, прогностическая ценность положительного результата – 100%. Косвенным подтверждением факта инвазирования плода является выявление АТ-IgM к АГ *T. gondii* в пуповинной крови (проведение исследования возможно только с 22 недели гестации).

Лабораторная диагностика врожденного токсоплазмоза у новорожденных основана на обнаружении ДНК *T. gondii* методом ПЦР в пуповинной крови, образцах плаценты; выявлении специфических АТ-IgA, АТ-IgM в сыворотке/плазме пуповинной крови. У детей первого года жизни – на выявлении специфических АТ-IgA, АТ-IgM и АТ-IgG в тот период, когда пассивно полученные материнские АТ уже исчезают (в пределах 5-8 месяцев после рождения), в динамике, а также обнаружении ДНК *T. gondii* методом ПЦР. При подозрении на врожденный токсоплазмоз обследование ребенка в течение первого года жизни, включающее определение специфических АТ, следует проводить не менее 4-6 раз. В более старшем возрасте исследования проводятся не менее трех раз в течение года.

Особенности интерпретации результатов

При проведении этиологической диагностики как приобретенного, так и врожденного токсоплазмоза результаты молекулярно-биологического исследования непременно должны интерпретироваться в совокупности с другими лабораторными и инструментальными методами. Выявление специфического фрагмента ДНК *T. gondii* в различном биологическом материале методом ПЦР позволяет при однократном тестировании установить факт внутриутробного инвазирования плода, лабораторно подтвердить диагноз «токсоплазмоз». Однако достоверность полученных результатов в значительной мере зависит от типа исследуемых биологических образцов, формы и активности инвазионного процесса. При выборе типа биологического материала для проведения молекулярно-биологических исследований необходимо учитывать органную или системную патологию, обусловленную *T. gondii*. Отрицательные результаты выявления ДНК *T. gondii* в крови не исключают наличия инвазии ввиду кратковременности паразитемии при токсоплазмозе. Ложноотрицательные результаты определения ДНК *T. gondii* в СМЖ, АЖ могут быть обусловлены низкой концентрацией возбудителя в данных типах биологического материала.

При анализе результатов клинико-лабораторного обследования важно принимать во внимание, что в отдельных случаях у больных ВИЧ-инфекцией даже при использовании совокупности разных методов лабораторной диагностики не удастся подтвердить диагноз «церебральный токсоплазмоз». Сложность постановки диагноза «церебральный токсоплазмоз» у больных ВИЧ-инфекцией диктует необходимость оптимизации алгоритма лабораторных исследований. Увеличение диагностической чувствительности метода возможно при одновременном исследовании об-

разцов СМЖ и крови у данной категории пациентов.

При интерпретации результатов обследования в неонатальный период следует учитывать возможность получения ложноположительных результатов определения АТ-IgM к АГ *T. gondii* в сыворотке/плазме крови, обусловленных наличием перекрестных реакций при выявлении АТ-IgM, связанных с содержанием АТ-IgM к другим АГ, а также ложноотрицательных результатов продиктованных иммунологической толерантностью новорожденных. У пациентов более старшего возраста ложноположительные результаты определения АТ-IgM к АГ *T. gondii* так же могут быть связаны с наличием ревматоидного фактора.

Краснуха

Краснуха – острая антропонозная вирусная инфекция, характеризующаяся умеренно выраженной лихорадкой, мелкопятнистой экзантемой, генерализованной лимфаденопатией и поражениями плода у беременных. Возбудителем краснухи является РНК-содержащий *Rubella virus*, относящийся к роду *Rubivirus* семейства *Matonaviridae* (до внесения изменений в номенклатуре Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) в 2018 г. – *Togaviridae*). В зависимости от механизма инфицирования различают приобретенную (постнатальную) и врожденную краснуху. В настоящее время краснуха относится к разряду управляемых инфекций с помощью средств специфической вакцинопрофилактики.

Впервые краснуха была описана в 1834 г., а в 1881 г. на Международном конгрессе в Великобритании утверждена в виде отдельной нозологической формы. В 1941 г. австралийский офтальмолог N. Gregg описал связь врожденной катаракты и врожденных пороков сердца у новорожденных с краснушной инфекцией у матери во время беременности.

Вирион *R. virus* имеет экосаэдрический тип симметрии. Геном вируса краснухи длиной 9762 нуклеотида, включает 5 генов, кодирующих 3 структурных (Е1, Е2, С) и 2 неструктурных белка (Р150, Р90). Филогенетический анализ, выполненный для Е1 кодирующего региона, свидетельствует о существовании 13 различных генотипов вируса краснухи, объединенных в две группы. Генетическая дистанция между группами (кладами) составляет 0,08-0,1. Группа 1 включает генотипы: 1А, 1В, 1С, 1D, 1Е, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, а группа 2 – 2А, 2В, 2С. Данные о глобальном распространении генотипов *R. virus* достаточно ограничены. На территории РФ выявлены 5 генотипов вируса, относящиеся как к группе 1, так и группе 2, а именно: 1Е, 1G, 1H, 2С, 2В. В настоящее время известен только один серотип *R. virus*.

Вирус краснухи малоустойчив во внешней среде, легко разрушается детергентами (эфир, формалин и др.), нагреванием или предельными значениями рН (ниже 6,8 и выше 8,0).

Источником и резервуаром инфекции является человек. Пути передачи:

воздушно-капельный, контактно-бытовой, трансплацентарный. Факторы передачи: носоглоточный секрет, слюна, кровь, моча. Продолжительность инкубационного периода составляет 9-23 дня (в среднем 21 день). Возможны случаи реинфекции, протекающие бессимптомно или со слабо выраженной симптоматикой. Вероятность реинфекции выше у ранее вакцинированных, по сравнению с лицами, имеющими постинфекционный иммунитет.

При приобретенной краснухе наиболее характерными клиническими проявлениями являются: макулопапулезная сыпь, генерализованная лимфаденопатия, артропатия. Заболевание в большинстве случаев имеет благоприятный прогноз. К осложнениям относят тромбоцитопеническую пурпуру, поражение нервной системы (энцефалит, менингоэнцефалит, синдром Гийома-Барре и др.), в редких случаях – прогрессирующий краснушный панэнцефалит. Показано, что до 50% случаев краснухи протекают интранатально или в стертой форме. У беременных вирус, обладая тератогенными свойствами, проникает через плаценту и вызывает эмбрио- и фетопатии, приводящие к патологии развития, смерти плода; самопроизвольному выкидышу или мертворождению. Риск развития ВУИ с проявлениями тератогенного действия вируса очень высок при первичной инфекции. При инфицировании в первые 12 недель беременности риск развития СВК достигает 80-90%, затем существенно снижается в период до 20 недели беременности. Классическая триада дефектов синдрома врожденной краснухи (СВК) включает катаракту, пороки сердца и нейросенсорную глухоту (синдром Грега). К числу отдаленных последствий, ассоциированных с СВК, относят различные неврологические проявления, а также инсулинозависимый сахарный диабет. При заражении матери после 20 недели беременности у новорожденных, как правило, выявляется врожденная краснушная инфекция (ВКИ), характеризующаяся отсутствием врожденных пороков развития. Установлено, что в условиях эндемичного распространения краснухи ожидаемый показатель СВК составляет 0,1 случаев на 1000 живорожденных детей, а при эпидемиях этот показатель находится в диапазоне 0,5-3,5 случаев на 1000 живорожденных детей. Самым надежным способом предупреждения СВК является специфическая вакцинация женщин детородного возраста.

В настоящее время в мире в глобальном масштабе проблема элиминации краснухи до сих пор остается нерешенной, несмотря на существующие эффективные методы специфической профилактики и приверженность ВОЗ проведению политики массовой вакцинации. Самые высокие показатели СВК наблюдаются в Африканском регионе и странах Юго-Восточной Азии, где отмечается самый низкий уровень охвата населения вакцинацией против краснухи. В последние годы в РФ эпидемическая ситуация в отношении краснухи является благополучной. Европейская региональная комиссия по верификации элиминации кори и краснухи (15.06.2018) подтвердила статус элиминации краснухи в РФ за период 2015-2017 гг. В 2018 г. в РФ зарегистрировано 5 лабораторно подтвержденных случаев краснухи (0,00 на

100 тыс. населения): в г. Москве, Ленинградской и Оренбургской областях. Один случай импортирован с территории Китая на территорию г. Москвы, два случая в Оренбургской области связаны с завозным случаем из Индии. Случаев СВК в стране не зарегистрировано. Полученные в 2018 г. эпидемиологические и генетические данные свидетельствуют о поддержании фазы элиминации краснухи на территории РФ. Поддержание данного статуса обеспечено высокими уровнями охвата населения страны профилактическими прививками против краснухи. За 6 мес. 2019 г. зарегистрировано 29 случаев краснухи (Орловская область, г. Москва, г. Санкт-Петербург, Республика Башкортостан, Оренбургская область, Ульяновская область, Тюменская область). 11 случаев из которых зарегистрированы у иностранных студентов в Санкт-Петербурге и Оренбургской области.

Диагностика краснухи на текущий момент основана на анализе клинико-эпидемиологических данных и проведении своевременных лабораторных исследований, обеспечивающих высокий уровень достоверности полученных результатов и их прогностической ценности.

Показания к обследованию

- Планирование беременности (предгравидарная подготовка);
- беременные женщины при наличии патологии текущей беременности (в первую очередь с УЗИ-признаками ВУИ, аномалиями развития плода);
- новорожденные при подозрении на ВУИ, с врожденными пороками развития;
- дети, рожденные от матерей, в период беременности имеющих подтвержденную краснуху или подозрение на нее;
- дети при наличии симптоматики врожденной инфекции, врожденных пороков развития (особенно заболевание сердца и/или подозрение на наличие глухоты, и/или один или несколько симптомов поражения глаз (катаракта, снижение остроты зрения, нистагм, косоглазие, микрофтальмия или врожденная глаукома);
- лица любого возраста при наличии лихорадки, экзантемы или пятнисто-папулезной сыпи, увеличения шейных, затылочных и/или заушных лимфатических желез или артралгии (артриты);
- установленный или предполагаемый контакт с больным краснухой или с подозрением на данную нозологию;
- тромбоцитопения.

Дифференциальная диагностика

Аденовирусная и энтеровирусная инфекция, внезапная экзантема, инфекционная эритема, инфекционный мононуклеоз, розовый лишай, корь, лекарственная экзантема, токсикодермия и др.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выделение вируса в культуре клеток, выявление РНК *R. virus*, определение вирусоспецифических АТ классов IgG, IgM и avidности АТ-IgG.

Материал для исследования

- Назофарингеальные мазки и соскобы, слюна, периферическая и пуповинная кровь, плазма периферической и пуповинной крови, АЖ, ворсинки хориона, плацента – выявление РНК *R. virus*,
- моча, носоглоточные смывы – выделение вируса в культуре клеток, выявление РНК *R. virus*;
- СМЖ – выделение вируса в культуре клеток, выявление РНК *R. virus*, определение вирусоспецифических АТ;
- сыворотка/плазма периферической и пуповинной крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Выделение вируса в культуре клеток не используется для рутинной диагностики краснухи ввиду низкой эффективности, трудоемкости и длительности исполнения.

Для определения специфических АТ к АГ *R. virus* классов IgG, IgM в сыворотке/плазме крови преимущественно применяют метод ИФА. При приобретенной краснухе АТ-IgM к АГ *R. virus* появляются одновременно с экзантемой на 14-18 день после заражения. Уровень вирусоспецифических АТ-IgM быстро снижается и через 2 месяца они, как правило, не выявляются. Вирусоспецифические АТ-IgG начинают продуцироваться в те же сроки, что и АТ-IgM, достигают максимальной концентрации через 3-4 недели и сохраняются пожизненно. Для уточнения срока давности развития инфекционного процесса проводят определение авидности вирусоспецифических АТ-IgG. Низкоавидные АТ-IgG к АГ возбудителя выявляются до 25-го дня с момента появления сыпи при первичной краснухе и отсутствуют при реинфекции. При ВКИ, СВК следует учитывать, что вирусоспецифические АТ-IgM продуцируются через 10-13 недель гестации и сохраняются до 8-12 месяцев после рождения. Одновременно выявляются специфические АТ-IgG к АГ *R. virus*, полученные от матери, постепенно замещающиеся собственными АТ-IgG ребенка через несколько месяцев после рождения.

К достоинствам данного метода определения специфических АТ разных классов относятся: простота, высокая специфичность и чувствительность, невысокая стоимость исследования; недостаткам – возможность получения ложноположительных, ложноотрицательных результатов. Исследование может быть выполнено в разных форматах: качественном, полуколичественном, количественном.

Для выявления РНК вируса краснухи преимущественно используют метод ОТ-ПЦР. При приобретенной краснухе вирус начинает появляться на 5-7 день после инфицирования. Наибольших значений концентрация вируса в крови достигает примерно через 10-14 дней с момента заражения и до появления первых клинических симптомов. В этот период *R. virus* также обнаруживается в слюне, назофарингеальных мазках, смывах и соскобах инфицированного. При развитии ВУИ у плода вирус краснухи обнаруживается в ворсинках хориона, плаценте, амниотической жидкости, пу-

повинной крови. В настоящее время молекулярно-биологические методы при диагностике краснухи успешно используются в различных клинико-диагностических и научно-исследовательских центрах разных стран мира. Исследования, направленные на выявление РНК *R. virus* методом ПЦР, проводят преимущественно в качественном формате.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Показания к применению различных лабораторных исследований и интерпретация их результатов имеют свои особенности как при приобретенной, так и врожденной инфекции.

Этиологическая лабораторная диагностика приобретенной краснухи

Определение специфических АТ (АТ-IgM, АТ-IgG) традиционно играет одну из главных ролей не только в лабораторной диагностике приобретенной краснухи, но и при скрининговом обследовании с целью определения и оценки постинфекционного, поствакцинального иммунитета к вирусу краснухи (в том числе у женщин при предгравидарной подготовке и беременных). Обнаружение АТ-IgM к АГ *R. virus* свидетельствует о первичном инфицировании или реинфекции. Определение АТ-IgG к АГ *R. virus* целесообразно проводить в количественном формате в динамике: тестирование парных образцов сыворотки/плазмы крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец получен не менее чем через 10 дней после первого, собранного в острой фазе заболевания). При этом лабораторным подтверждением первичного инфицирования служит определение перехода отрицательного результата в положительный или четырехкратного и более увеличения концентрации вирусоспецифических АТ-IgG во втором образце. Повышение уровня АТ-IgG к АГ *R. virus* при отсутствии выраженной клинической картины заболевания может являться доказательством развития реинфекции (особенно у ранее вакцинированных). Для уточнения срока давности развития инфекционного процесса, дифференциации первичной и вторичной краснухи проводится определение авидности вирусоспецифических АТ-IgG. В начале формирования иммунного ответа АТ-IgG являются низкоавидными и характеризуются низкой константой связывания с АГ. В дальнейшем образуются специфические АТ, сохраняющие прочную связь с АГ, и авидность возрастает. При обнаружении высокоавидных АТ-IgG к АГ *R. virus* можно предполагать, что инфекционный процесс вышел за пределы ранней стадии.

При применении только косвенных методов лабораторной диагностики приобретенной краснухи (определение вирусоспецифических АТ-IgM, АТ-IgG и авидности АТ-IgG) нередко возникает затруднение в интерпретации результатов, которое может быть обусловлено персистенцией в крови АТ-IgM к АГ *R. virus* в течение нескольких месяцев как после первичного инфицирования или реинфекции, так и вакцинации; наличием перекрестных реакций при выявлении вирусоспецифических АТ-IgM,

связанных с содержанием ревматоидного фактора или АТ-IgМ к АГ *Primate erythroparvovirus 1*, ВЭБ и др.; а также возможностью парадоксально раннего появления вирусоспецифических АТ-IgG.

Обнаружение РНК *R.virus* методом ОТ-ПЦР успешно применяется для ранней диагностики краснухи в короткие сроки, а также в качестве подтверждающего теста. При необходимости идентификации генотипов *R.virus* в рамках генетического мониторинга циркуляции вируса на региональном и глобальном уровнях, при расследовании вспышек заболевания, дифференциации местных и завозных случаев инфекции отбор образцов биологического материала (моча, носоглоточные смывы, СМЖ) пациентов для исследования проводят на 1-3 день с момента появления сыпи.

Этиологическая лабораторная диагностика ВКИ, СВК

Динамическое обследование беременных женщин, больных краснухой или контактировавших с больными данной инфекцией, является обязательным. Постановка диагноза на основе однократного выявления АТ-IgМ к АГ *R.virus* недопустима. У беременных больных краснухой подтверждение или опровержение трансплацентарной передачи *R.virus* от матери к плоду и инфицирования плода осуществляется на основании идентификации РНК возбудителя методом ОТ-ПЦР. При этом выбор типа биологического материала для исследования определяется с учетом срока гестации, обуславливающей возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: ворсинки хориона – 10-12 недели, образцы плаценты – 13-18 недели, амниотическая жидкость – 16-23, пуповинная кровь – 20-24 недели. Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgМ в пуповинной крови (проведение исследования возможно с 22 недели беременности) является только косвенным подтверждением факта инфицирования плода.

Лабораторная диагностика ВКИ или СВК у новорожденных и детей до года основана на выявлении вирусоспецифических АТ-IgМ в крови и/или обнаружении РНК вируса краснухи в любом биологическом материале (кровь, слюна; назофарингеальные мазки, смывы, соскобы; СМЖ, моча). У детей с ВКИ, СВК АТ-IgМ к АГ *R.virus* могут обнаруживаться на протяжении одного года, достигая максимальных значений в первые 6 месяцев жизни ребенка. Отсутствие вирусоспецифических АТ-IgМ в неонатальный период с большей долей вероятности свидетельствует об исключении ВКИ или СВК, однако в случае наличия иммунологической толерантности результат может быть ложноотрицательным. Обнаружение РНК *R.virus* в ткани плаценты подтверждает диагноз, но отсутствие не исключает его и предопределяет динамическое (ежеквартальное) обследование ребенка. Определение вирусоспецифических АТ-IgG при проведении динамического обследования детей до года, когда пассивно полученные материнские АТ-IgG исчезают, указывает на высокую вероятность ВКИ или СВК. Все дети с ВКИ, и особенно с СВК, могут выделять вирус в постепенно снижающейся концентрации, по крайней мере, на протяжении всего первого года жизни.

Особенности интерпретации результатов

В целом, при диагностике как приобретенной, так и врожденной краснухи диагностическая (клиническая) значимость маркеров инфекции и корректная интерпретация результатов лабораторных исследований в значительной степени зависят от типа и сроков сбора исследуемых образцов. При диагностике приобретенной краснухи решающее значение при выборе метода исследования играет день появления сыпи. До 5-го дня с момента появления сыпи наибольшей диагностической эффективностью обладают прямые методы диагностики (определение РНК вируса методом ОТ-ПЦР), а далее (с 5-го дня) возрастает ценность применения косвенных (определение специфических АТ методом ИФА). У новорожденных и детей грудного возраста при лабораторном подтверждении ВКИ, СВК решающее значение имеют прямые методы диагностики (ОТ-ПЦР). Выявление РНК *R. virus* методом ОТ-ПЦР позволяет при однократном тестировании установить факт внутриутробного инфицирования плода; лабораторно подтвердить диагноз «ВКИ», «СВК», если исследование выполнено ребенку в течение года после рождения. При интерпретации данных ПЦР-исследования следует учитывать, что при приобретенной краснухе ложноотрицательные результаты могут быть получены при тестировании биологических образцов, взятых ранее 7 дней после предполагаемого контакта с больным краснухой и позднее 5-го дня с момента появления сыпи, а при ВКИ или СВК – позднее трех месяцев после рождения, ввиду низкой концентрации РНК *R. virus*.

Парвовирусная инфекция

Парвовирусная инфекция (парвовирусная В19 инфекция, В19-парвовирусная инфекция, инфекционная эритема) – повсеместно распространенное антропонозное инфекционное заболевание, характеризующееся широким спектром клинических проявлений, зависящих от иммунного и гематологического статуса человека. В зависимости от механизма инфицирования различают приобретенную (постнатальную) и врожденную инфекцию.

Возбудителем парвовирусной инфекции является *Primate erythroparvovirus 1* (В19V). Вирус впервые выявлен Y. Cossart с соавт. в 1975 г. при исследовании образцов сыворотки крови доноров. Первоначально видовое название вируса – *Human parvovirus B19* – дано с учетом размера микроорганизма (parvum – маленький) и номера образца сыворотки крови на панели, где он впервые обнаружен – В19. В 1985 г. В19V отнесен к семейству *Parvoviridae*, в 1993 г. – к подсемейству *Parvovirinae*. В 2013 г. Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) внесены изменения в номенклатуре семейства *Parvoviridae*: изменены название рода на *Erythroparvovirus*, а также видовое название вируса на *Primate erythroparvovirus 1*. Впервые связь парвовирусной инфекции беременных с развитием не-

мунной водянки плода установлена в 1984 г.

Вирион В19V образован безоболочечным капсидом, состоящим из 60 капсомеров икосаэдрической формы, 22-25 нм в диаметре. Геном вируса представлен единственной линейной одноцепочечной ДНК, длиной 5596 нуклеотидов. В настоящее время выделяют три генотипа В19V (1, 2, 3), отличающиеся друг от друга по нуклеотидному составу на 10-15%. В мире доминирующим является генотип 1. В США и Европе чаще встречаются генотипы 1 и 2; в странах Африки и Южной Америки – в основном генотип 3, в РФ выявлен генотип 1. Показана возможность одновременной циркуляции всех трех генотипов В19V на территории одной страны. Несмотря на генетические различия, известен только один серотип вируса.

В19V чувствителен к УФ-излучению, однако высокоустойчив к действию физических и химических факторов: обладает высокой устойчивостью к воздействию органических растворителей, изменению рН среды, сохраняет инфекционность при температуре до 60 °С в течение 60 минут. Вирус обладает тропизмом к клеткам-предшественникам эритроцитов в красном костном мозге, селезенке, гепатоцитам плода и др. и способностью нарушать эритропоэз. Согласно современным представлениям, главным клеточным рецептором для В19V является Р-антиген (Р-антиген эритроцитов, В19-рецептор, Р-АГ), корецепторами – $\alpha 5\beta 1$ -интегрин и KU80. Индивидуумы (примерно 1 из 200 тыс. человек) являются устойчивыми к заражению данным вирусом при отсутствии у них экспрессии Р-АГ. С момента заражения клетки и до обнаружения В19V в ядре и начала транскрипции проходит от 2 до 6 часов. Высвобождение вирионов приводит к лизису клетки.

В19V распространен повсеместно во всех странах мира. У более чем 80% взрослого населения обнаруживаются вирусоспецифические АТ-IgG. При этом частота выявления специфических АТ-IgG к АГ В19V у детей первых десяти лет жизни составляет от 2 до 21%, а 30-60% лиц детородного возраста все еще остаются восприимчивыми к В19V. Источником и резервуаром инфекции является человек. Пути передачи: воздушно-капельный, трансплацентарный и парентеральный. Факторы передачи: слюна, кровь, донорские органы и ткани. Восприимчивость населения к В19V высокая. Индекс контагиозности составляет от 15 до 30%. Инкубационный период в среднем длится от 4 до 14 дней (максимальный до 21 дня). Заболевание наблюдается во всех возрастных группах, преимущественно у детей в возрасте от 6 до 15 лет (по некоторым данным, от 4 до 10 лет). Для заболеваемости парвовирусной инфекцией характерна зимне-весенняя сезонность с максимальным подъемом в весенние месяцы. Эпидемические подъемы наблюдаются каждые 3-4 года. Описаны случаи повторного заражения В19V.

Приобретенная парвовирусная инфекция в 50-60% случаев протекает бессимптомно или сопровождается комплексом неспецифических клинических симптомов. Для типичного течения заболевания при первичном инфицировании характерно формирование общеинфекционного синдро-

ма на фоне развития вирусемии с последующим появлением экзантемы, артралгии. Артралгии, которые в 2 раза чаще встречаются у женщин, чем у мужчин, обычно исчезают через 2-4 недели, однако могут отмечаться и в течение нескольких лет. При этом у 75% взрослых, чаще женщин средних лет, наблюдается синдром полиартропатии с поражением кожи и без.

B19V может вызывать острый гепатит, фульминантную печеночную недостаточность, хронический гепатит, гепатит-ассоциированную апластическую анемию, гепатит с гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом. Неврологическая манифестация сопровождается развитием энцефалита, менингоэнцефалита, судорожного синдрома, периферических невропатий, синдрома запястного канала.

Инфицирование B19V пациентов в состоянии иммуносупрессии приводит к развитию хронической гемолитической анемии вплоть до парциальной красноклеточной аплазии костного мозга. У пациентов с гематологическими заболеваниями (серповидно-клеточная анемия, талассемия, дефицит пируваткиназы, сфероцитоз, аутоиммунная гемолитическая анемия) угнетение эритропоэза (продолжительность 1-4 недели), обусловленное вирусом, может привести к транзиторным апластическим кризам.

Во время беременности к B19V восприимчивы 1-5% женщин. Согласно представленным данным, в межэпидемический период уровень сероконверсии среди беременных составляет 1-3%, а во время подъема заболеваемости он может возрасти до 17-18%. Трансплацентарная передача B19V возможна в 30-40% случаев при первичном инфицировании беременных. Наибольший риск для развития плода представляет инфицирование матери между 10 и 22 неделями гестации. Максимальный уровень P-АГ на поверхности трофобласта, ворсинках хориона, регистрируемый в первом и втором триместре беременности, обуславливает трансплацентарную передачу вируса с развитием спонтанных аборт, преждевременных родов, внутриутробной гибели плода. Интервал до появления фетальных осложнений составляет 2-4 недели в 80% случаев, 5-8 недель – в 15%, 9-12 недель – 5%. B19V может вызывать у плода тяжелую апластическую анемию, застойную сердечную недостаточность, кардиомиопатию, неиммунную водянку, приводящих к внутриутробной гибели (преимущественно после 20 недели беременности). Неиммунная водянка плода сопровождается фетальной анемией, гипоксией, гепатитом, миокардитом. Согласно опубликованным данным, частота выявления неиммунной водянки плода B19V-этиологии составляет в США 2 на 100 тыс. новорожденных, Франции – 3, Республике Беларусь – 1,5. Практически все описанные случаи приходятся на период между 16-ой и 32-ой неделями гестации. При этом риск развития неиммунной водянки плода B19V-этиологии считается наибольшим при инфицировании беременной с 9 по 20 недели гестации, с последующим снижением до минимального в последние два месяца беременности. Уровень фетальной гибели составляет 1-9%. Однако более 80% беременностей протекают без осложнений. Описаны случаи

спонтанного самовыздоровления плода при неиммунной водянке, обусловленной В19V, по причине самоэлиминации вируса.

К неонатальным последствиям врожденной инфекции, вызванной В19V, относятся печеночная недостаточность, миокардит, посттрансфузионная анемия (если применялась внутриутробная гемотрансфузия). Тяжелая длительная В19V-ассоциированная анемия может являться причиной неврологических нарушений (до 16% случаев) различной степени тяжести у новорожденных и детей в возрасте до двух лет.

В настоящее время парвовирусная инфекция не относится к разряду инфекций, управляемых с помощью средств специфической вакцинопрофилактики, из-за отсутствия безопасных и эффективных препаратов. В РФ и ряде других стран не проводится регистрация и учет заболеваемости парвовирусной инфекцией, в полной мере не изучены истинные масштабы распространенности В19V среди населения. Обследование беременных с целью оценки риска врожденной инфекции, вызванной В19V, федеральными документами в РФ не предусмотрено, но может реализовываться на региональном уровне. На текущий момент не решена проблема вирусной безопасности донорской крови и ее компонентов относительно В19V. В противоположность этому в ряде зарубежных стран разработаны нормативные акты и определены группы риска пациентов, которым допускается введение только безопасных в отношении В19V препаратов.

Диагностика парвовирусной инфекции основана на анализе клинико-эпидемиологических данных и проведении своевременных лабораторных исследований.

Показания к обследованию

- Беременные из группы высокого риска (лихорадка, пятнисто-папулезная экзантема, тромбоцитопения, анемия неясного генеза, апластический криз, артропатии) или с установленным или предполагаемым контактом с больным парвовирусной инфекцией или с подозрением на данную нозологию;
- беременные женщины при наличии патологии текущей беременности (в первую очередь, УЗИ-признаки много- или маловодия, водянки плода, фетальная кардиомегалия, задержка развития плода, фетоплацентарная недостаточность, плацентит);
- наличие отягощенного акушерского анамнеза (перинатальные потери);
- наличие в анамнезе переливания крови или тромбоцитарной массы;
- новорожденные при подозрении на ВУИ, с врожденными пороками развития;
- дети, рожденные от матерей, в период беременности имеющих подтвержденную парвовирусную инфекцию или подозрение на нее;
- дети первого года жизни с сердечной недостаточностью, энцефалитом, менингоэнцефалитом, судорожным синдромом, гепатитом неясной этиологии;

- лица любого возраста (особенно пациенты с первичными и вторичными иммунодефицитами, гематологическими заболеваниями) при выявлении пятнисто-папулезной сыпи и лихорадки, экзантемы с суставным синдромом, гепатита неясной этиологии, гепатоспленомегалии, тромбоцитопении и др.

Дифференциальная диагностика

- Краснуха, корь, энтеровирусная инфекция, иерсиниоз, псевдотуберкулез, внезапная экзантема, ЦМВИ, ВИЧ-инфекция, железодефицитная анемия, аллергические состояния.

Этиологическая лабораторная диагностика включает выявление ДНК возбудителя и определение вирусоспецифических АТ классов IgG, IgM к АГ В19V.

Материал для исследования

- Периферическая и пуповинная кровь, плазма или сыворотка периферической и пуповинной крови, смывы и мазки из ротоглотки, слюна, СМЖ, биоптаты костного мозга, АЖ, ворсинки хориона, биоптаты плаценты; транссудаты (асцитическая жидкость) при неиммунной водянке плода – выявление ДНК В19V;
- сыворотка/плазма периферической и пуповинной крови – определение АТ.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики

Для определения вирусоспецифических АТ при диагностике инфекции, вызванной В19V, традиционно используют различные иммунохимические методы. Специфические АТ-IgM к АГ В19V являются маркерами первичной инфекции и выявляются одновременно с появлением клинических симптомов заболевания (обычно через 10 дней после заражения), их концентрация достигает максимального уровня через 30 дней, затем снижается в течение 2-3 месяцев. Через 2-3 недели с момента инфицирования появляются вирусоспецифические АТ-IgG, которые сохраняются пожизненно и являются маркерами перенесенной инфекции. Одновременное выявление вирусоспецифических АТ-IgM и АТ-IgG без значительного увеличения их концентрации в динамике может свидетельствовать о реактивации. Современные наборы реагентов позволяют выявлять специфические АТ к АГ В19V ко всем трем генотипам вируса. Определение вирусоспецифических АТ может быть выполнено в качественном, полуколичественном и количественном формате.

Для выявления ДНК В19V в биологическом материале используют молекулярно-биологические методы, преимущественно МАНК. Вирусемия при приобретенной парвовирусной инфекции развивается приблизительно через 7 дней после инокуляции вируса и продолжается в течение 4-7 суток. После инфицирования В19V персистирует в тканях на протяжении всей жизни человека и может быть обнаружен в синовиальной жидкости, коже, миндалинах, костном мозге, печени, сердце, почках, головном мозге, мышечной ткани, щитовидной железе, семенниках. ДНК В19V может выявляться

в слюне до 1,5 мес., в периферической крови – до года (в некоторых случаях до 3 лет). Основными преимуществами МАНК, в частности метода ПЦР-РВ с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, являются быстрота исполнения, высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности. На данный момент в РФ зарегистрированы и производятся наборы реагентов для выявления и количественного определения ДНК В19V в различном биологическом материале методом ПЦР. Аналитическая чувствительность современных наборов реагентов для определения ДНК В19V методом ПЦР составляет от 1 МЕ/мл исследуемого образца.

Показания к применению различных лабораторных исследований

Этиологическая лабораторная диагностика приобретенной инфекции, вызываемой В19V

Определение специфических АТ к АГ В19V (АТ-IgG, АТ-IgM) в сыворотке/плазме крови целесообразно использовать для первичного скрининга и исследований, направленных на верификацию диагноза, установление формы и активности инфекционного процесса. Лабораторным подтверждением первичной инфекции служит выявление вирусоспецифических АТ-IgM и/или переход отрицательного результата в положительный или четырехкратное и более увеличение концентрации вирусоспецифических АТ-IgG во втором образце при тестировании парных образцов сыворотки/плазмы крови. Тестирование парных образцов сыворотки/плазмы крови пациента, при условии, что второй анализируемый образец получен не ранее чем через 14 дней после первого, проводится одновременно в одном опыте. Результаты определения специфических АТ-IgG к АГ В19V в количественном формате позволяют провести динамическое наблюдение, оценить состояние постинфекционного иммунитета. В целом, результаты определения специфических АТ должны интерпретироваться в совокупности с клинической картиной, эпидемиологической ситуацией и другими результатами клинико-лабораторных исследований. При этом следует учитывать, что интерпретация полученных данных для иммунокомпromетированных пациентов может быть затруднена.

Обнаружение ДНК В19V в плазме крови, СМЖ свидетельствует о репликации вируса и подтверждает период активного развития инфекционного процесса. В настоящее время определение концентрации ДНК (ПЦР в количественном формате) является предпочтительным при диагностике инфекции, вызываемой В19V, поскольку позволяет получить достоверные данные не только об активности инфекционного процесса, но и эффективности проводимой терапии.

Проведенные многочисленные исследования продемонстрировали необходимость введения скрининга донорской крови, переливаемой пациентам, находящимся в состоянии иммуносупрессии, на наличие В19V. Показано, что при виремии обнаружить доноров крови, инфицированных

V19V, возможно только исключительно при помощи выявления ДНК вируса (ПЦР-исследование), выявление вирусоспецифических АТ в данный период неинформативно. Это обусловлено тем, что от момента инфицирования до развития гуморального ответа может проходить значительный временной период, в течение которого происходит активная репликация вируса с последующим выходом вирионов в кровь. Так, в течение первых 7 дней от момента инфицирования V19V, когда вирусоспецифические АТ еще отсутствуют, концентрация ДНК вируса достигает максимальных значений ($\geq 10^{13}$ МЕ/мл). С другой стороны, установлена длительная персистенция ДНК V19V в крови на уровне 100-1000 МЕ/мл в отсутствие каких-либо клинических симптомов. Это необходимо учитывать при оценке вирусной безопасности гемотрансфузий относительно V19P при пулировании плазм различных доноров крови в рамках промышленного изготовления факторов коагуляции и других продуктов. Производственные пулы плазмы доноров для фракционирования не должны содержать ДНК V19V в концентрации превышающей установленный уровень инфекционности, равный 10^4 МЕ/мл.

Этиологическая лабораторная диагностика врожденной инфекции, вызываемой V19V

Определение специфических АТ-IgM к АГ V19V, появление которых чаще указывает на первичное заражение, представляющее наибольшую угрозу для плода, целесообразно проводить каждый триместр у беременных, не имеющих постинфекционного иммунитета к вирусу. Однако с учетом кратковременности выявления вирусоспецифических АТ-IgM в крови для оценки риска инфицирования плода и новорожденного основополагающим является определение ДНК V19V методом ПЦР. Лабораторное обследование беременных с первичной парвовирусной инфекцией направлено главным образом на подтверждение или опровержение факта трансплацентарной передачи вируса от матери к плоду. Установление факта инфицирования плода осуществляется на основании идентификации ДНК V19V методом ПЦР в ворсинках хориона, АЖ, пуповинной крови и транссудатах (асцитическая жидкость) при выявлении неиммунной водянки плода. Выбор типа биологического материала определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: ворсинки хориона – 10-12 недели, амниотическая жидкость – 16-23 недели; пуповинная кровь – 20-24 недели. Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM в пуповинной крови (проведение исследования возможно только с 22 недели гестации) является косвенным подтверждением факта инфицирования плода.

Лабораторная диагностика врожденной парвовирусной инфекции проводится у новорожденных в ранний неонатальный период. Обследование основано на выявлении вирусоспецифических АТ-IgM в сыворотке/плазме периферической крови и определении ДНК V19V в различных типах биологического материала (образцы периферической крови, смывы

и мазки из ротоглотки, слюна, СМЖ (по показаниям)) при использовании МАНК. При интерпретации результатов следует учитывать, что если внутриутробное инфицирование произошло в первые 14 недель гестации, вирусоспецифические АТ-IgM у новорожденных обнаруживаются только в 22% случаев. Ложноотрицательные результаты исследования могут быть обусловлены и иммунологической толерантностью новорожденных.

Особенности интерпретации результатов

При диагностике острой и врожденной инфекции (непосредственно со дня появления клинических признаков), а также при тестировании донорской крови и продуктов ее переработки методом выбора являются исследования, направленные на выявление и количественное определение ДНК В19V (МАНК, в частности ПЦР). Обнаружение специфического фрагмента ДНК вируса в различном биологическом материале методом ПЦР позволяет при однократном тестировании лабораторно подтвердить диагноз «инфекционная эритема» в первые дни заболевания; установить факт внутриутробного инфицирования плода, провести верификацию врожденной парвовирусной инфекции. При интерпретации данных определения вирусоспецифических АТ-IgM следует учитывать возможность получения ложноположительных результатов, обусловленных наличием перекрестных реакций с АТ-IgM к другим АГ, а также ревматоидного фактора в сыворотке/плазме крови.

Литература

1. Аббазова Е.В., Гончаров Д.Б., Иевлева Е.С. Диагностика и профилактика токсоплазмоза у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Методические рекомендации для врачей-инфекционистов, паразитологов, эпидемиологов и специалистов клинической лабораторной диагностики (утв. «Советом по внедрению научных достижений в практику» ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Протокол № 28 от 13.03.2014г.).
2. ВОЗ. Руководство по лабораторной диагностике кори и краснухи. Вторая редакция/ Женева, 2007. – 115 с.
3. Гончаров Д.Б. Значение персистенции *Toxoplasma gondii* в клинической патологии человека // Журн. микробиол. – 2006. – №4. – С.92-96.
4. Гончаров Д.Б., Губарева Е.В., Кобец Н.В. и др. Токсоплазмоз при ВИЧ-инфекции: критерии реактивации инвазии // Журнал микробиол. – 2012. – №4. – С.88-92.
5. Гончаров Д.Б., Иевлева Е.С., Крупенио Т.В. и др. К проблеме токсоплазмоза при трансплантации органов // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2015. – №4. – С.34-38.
6. Григорьева Т.Д., Белопольская М.А., Вашукова С.С., Маркова Н.Г., Андреева Н.В. Особенности лабораторных исследований при диагностике краснухи у беременных // Журнал инфектологии. – 2014. – т.6. – №3. – С.44-50.
7. Губарева Е.В., Гончаров Д.Б., Домонова Э.А. и др. Использование иммунологических и молекулярно-биологических методов для диагностики церебрального токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2013. – №1. – С.7-12.

8. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Ермак Т.Н., Шипулина О.Ю. Токсоплазмоз // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. – М.: БИНОМ, 2013. – С.238-245.
9. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Краснуха // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. – М.: БИНОМ, 2013. – С.168-175.
10. Долгих Т.И., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Парвовирусная инфекция // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: БИНОМ, 2013. – С.212-214.
11. Домонова Э.А. Токсоплазмоз // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. М.: Рипол Классик, 2018. – С.626-635.
12. Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Клиническая лабораторная диагностика краснухи // Справочник заведующего КДЛ. – 2011. – №10. – С.63-78.
13. Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Вирус краснухи // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. М.: Рипол Классик, 2018. – С.477-485.
14. Домонова Э.А., Дарвина О.В., Шипулина О.Ю. и др. Значение серологических и молекулярно-биологических методов диагностики краснухи // Инфекционные болезни. – 2010. – №3. – С.29-33.
15. Домонова Э.А., Сафонова А.П., Пиксасова О.В., Шипулина О.Ю. Разработка и оценка аналитических характеристик ПЦР тест-систем для выявления ДНК *Toxoplasma gondii* // Сборник трудов VI Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней – 2007» («Молекулярная диагностика – 2007»). Под редакцией академика РАМН В.И. Покровского. – М.: Университетская книга, Паис, 2007. – Т.1. – С.141-144.
16. Домонова Э.А., Сильвейстрова О.Ю., Шипулина О.Ю. Лабораторная диагностика церебрального токсоплазмоза у пациентов с ВИЧ-инфекцией // Молекулярная диагностика – 2014. VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Москва, 18–20 марта 2014. – Т.1. – С.77-78.
17. Домонова Э.А., Шипулина О.Ю., Кувейда Д.А. и др. Выявление РНК вируса краснухи в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // ЖМЭИ. – 2012. – №1. – С.60-67.
18. Домонова Э.А., Шипулина О.Ю., Сильвейстрова О.Ю., Лаптева Е.Б. Диагностические возможности выявления маркеров краснухи на разных стадиях развития инфекционного процесса // Справочник заведующего КДЛ. – 2017. – №5. – С.23-37.
19. Екимова Е.В., Муллабаева С.М., Алексеева М.Л. и др. Некоторые инфекции TORCH-комплекса // Проблемы репродукции. – 2007. – №4. – С.12-20.
20. Ермолович М.А., Артюшевская М.В., Леонова Е.Ю., Самойлович Е.О., Белуга М.В., Козлякова О.В. Клинико-лабораторная диагностика и исходы неиммунной водянки плода парвовирусной этиологии // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2019. – №3. – С.57-64.
21. Заболеваемость корью и краснухой в России за 6 месяцев 2019 года (по региональным центрам). Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Информационный бюллетень № 31. – Москва, 2019. – 29 с.
22. Кузнецова Э.А., Гнетецкая В.А., Шипулина О.Ю. и др. Иммунологические и молекулярно-биологические методы диагностики краснухи у беременных женщин, плодов

- и новорожденных // Акушерство и гинекология. – 2007. – №4. – С.37-41.
23. Кузьмин В.Н., Адамян Л.В. Вирусные инфекции и беременность // М.: Дипак, 2005. – С.105-117.
 24. Курцер М.А., Гнетецкая В.А., Мальмберг О.Л. и др. Неиммунная водянка плода: диагностика и тактика // Акушерство и гинекология. – 2009. – №2. – С.37-40.
 25. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю. Парвовирус В19 человека: характеристика возбудителя, распространение и диагностика обусловленной им инфекции // Инфекция и иммунитет. – 2013. – т.3. – №4. – С.311-322.
 26. Лаврентьева И.Н. Антипова А.Ю., Семенов А.В., Бичурина М.А. Генотипирование изолятов парвовируса В19, циркулирующих в Северо-Западном федеральном округе России // Журн. микробиол. – 2013. – №6. – С.36-43.
 27. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Никишов О.Н., Железнова Н.В., Кузин А.А. Выявление случаев парвовирусной инфекции в системе эпидемиологического надзора за экзантемными заболеваниями // Инфекция и иммунитет. – 2016. – №4. – С.219-224.
 28. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Хамитова И.В., Никишов О.Н., Кузин А.А. Маркеры парвовирусной инфекции у лиц с экзантемными заболеваниями и в группах риска // Журнал инфектологии. – 2019. – №3. – С.110-117.
 29. Молочкова О.В., Егорова Н.Ю., Гусева Н.А., Шамшева О.В. К вопросу дифференциальной диагностики инфекционных экзантем у детей: клинический случай инфекционной эритемы парвовирусной этиологии // Педиатрия. – 2019. – №1. – С.159-164.
 30. Никишов О.Н., Кузин А.А., Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н. Парвовирусная инфекция – современная проблема в эпидемиологии и клинической медицине // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – №83. – С.29-35.
 31. Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., Цветкова О.О. и др. Структура поражения центральной нервной системы у больных ВИЧ-инфекцией специализированного отделения инфекционной больницы // Терапевтический архив. – 2010. – №11. – С.22-27.
 32. Пиксасова О.В., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю., Шипулин Г.А. Разработка набора реагентов на основе ПЦР в режиме реального времени для выявления ДНК парвовируса В19 и его апробация на контрольной панели QCMD и клиническом материале // Генодиагностика инфекционных болезней – 2007 (Молекулярная диагностика – 2007). VI Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, Т. 3. – М.: Университетская книга, ПАИС, 2007. – С.349-352.
 33. Руководство по эпидемиологическому надзору за корью, краснухой и синдромом врожденной краснухи в Европейском регионе ВОЗ/Обновленное издание 2012 г. – 59 с.
 34. Сафонова А.П., Домонова Э.А., Скачкова Т.С. и др. Использование молекулярно-биологических методов при этиологической диагностике оппортунистических инфекций центральной нервной системы у пациентов с ВИЧ-инфекцией // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2012. – №3. – С.21-25.
 35. Сильвестрова О.Ю., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю. Парвовирус В19 // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А. М.: Рипол Классик, 2018. – С.576-583.
 36. Техническое консультативное совещание ВОЗ по эпиднадзору за корью, краснухой и синдромом врожденной краснухи/Копенгаген, 2005. – 36 с.
 37. Тимченко В.Н., Гузева В.И., Скрипченко Е.Ю. Краснушная инфекция в системе «Мать–плод–ребенок» // Детские инфекции. – 2009. – №4. – С.58-63.
 38. Филатова Е.В., Зубкова Н.В., Новикова Н.А. и др. Выявление маркеров парвовируса В19 в образцах крови доноров // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммуно-

- биологии. – 2010. – №5. – С.67-70.
39. Фризе К., Кахель В. Инфекционные заболевания детей и новорожденных/Пер. с нем. М.: Медицина, 2003. – 424с.
 40. Чернова Т.М., Тимченко В.Н., Павлова Е.Б., Баракина Е.В. Врожденные краснуха и корь в периоде глобальной ликвидации // Педиатрия. – 2019. – № 3. – С.172-179.
 41. Чехляева Т.С., Шульга С.В., Ерохов Д.В. и др. Генетическое разнообразие вируса краснухи на современном этапе реализации программы элиминации краснухи и предупреждения врожденной краснухи // Журн. микробиол. – 2019. – №5. – С.95-102.
 42. Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А. и др. Значение молекулярно-биологических методов в диагностике вторичных заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией // Молекулярная диагностика – 2014. VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Москва, 18-20 марта 2014. – Т.1. – С.80-81.
 43. Элиджабаева М.А., Февралева И.С., Глинщикова О.А. и др. Выявление парвовируса В19 в крови российских доноров // Гематология и трансфузиология. 2011. – №2. – С.10-13.
 44. Юминова Н.В., Контарова Е.О., Балаев Н.В. Вакцинопрофилактика кори, эпидемического паротита и краснухи: задачи, проблемы и реалии // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011 – № 4. – С.40-44.
 45. Методические рекомендации N 7 «О выявлении и профилактике токсоплазмоза в Москве» (утв. Департаментом здравоохранения г. Москвы 18.02.2013).
 46. Методические указания. МУ 3.1.2.2356-08 «Эпидемиологический надзор за врожденной краснухой» (Утв. Главным санитарным врачом РФ 25 апреля 2008 года).
 47. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.2952-11 «Профилактика кори, краснухи и эпидемического паротита» (Утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 июля 2011 г. №108).
 48. Abernathy E., Hübschen J., Muller C. et al. Status of global virologic surveillance for Rubella viruses // J Infect Dis. – 2011 – Vol.204. – P.S524-S532.
 49. Ajzenberg D. 1995–2015: it is time to celebrate 20 years of (intensive) genotyping of *Toxoplasma gondii* strains // Future Microbiology. – 2015. – Vol.10. – P.689-691.
 50. Banatvala J. Clinical features: post-natally acquired rubella // Perspectives in medical virology. Vol. 15. Rubella viruses. Ed. Banatvala J., Peckham C. – Amsterdam: Elsevier, 2007. – P.19-37.
 51. Berns K., Parrish C. Parvoviridae // Fields-Virology. 6th Edition Ed by Knipe D., Howley P., Cohen J. et al. LIPPINCOTTWILLIAMS&WILKINS: Philadelphia, 2013. – P.1768-1791.
 52. Best J., Enders G. Laboratory diagnosis of rubella and congenital rubella // Perspectives in medical virology. Vol.15. Rubella viruses. Ed. Banatvala J., Peckham C. – Amsterdam: Elsevier, 2007. – P.39-78.
 53. Best J., O’Shea S., Tipples G. et al. Interpretation of rubella serology in pregnancy–pitfalls and problems // BMJ. – 2002. – Vol.325. – P.147-148.
 54. Best J., Tomson A., Nores J. et al. Rubella virus stains show no major antigenic differences // Intervirology.– 1992. – Vol.34. – P.164-168.
 55. Boothroyd J., Burg J., Kasper L. Diagnostic genes for toxoplasmosis.1997. Патент US 5629414 A.
 56. Candotti D., Etiz N., Parsyan A., Allain J.–P. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donors samples // J.Virol. – 2004. – Vol.78. – P.12169-12178.
 57. Chauvet A., Dewilde A., Thomas D., Joriot S., Vaast P., Houfflin-Debargе V., Sudtll D. Ultrasound diagnosis, management and prognosis in a consecutive series of 27 cases of fetal hydrops following maternal parvovirus B19 infection // Fetal. Diagn. Ther. – 2011. – Vol.30(1). – P.41-47.
 58. Colombo F., Vidal J., de Oliveira A. et al. Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: Importance of molecular and immunological methods using peripheral

- blood samples // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol.43. – P.5044-5047.
59. Corcoran C., Hardie D., Yeats J., Smuts H. Genetic variants of Human Parvovirus B19 in South Africa: cocirculation of three genotypes and identification of a novel subtype of genotype 1 // *J. Clin. Microbiol.* – 2010. – Vol.48. – P.137-142.
 60. Cossart Y., Field A., Cant B. et al. Parvovirus-like particles in human sera // *Lancet.* – 1975. – Vol.1. – P.72-73.
 61. Costa J., Ernault P., Gautier E., Bretagne S. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by duplex real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes // *Prenat Diagn.* – 2001. – Vol.21. – P.85-88.
 62. Cotmore S., Agbandje-McKenna M., Chiorini J. et al. The family Parvoviridae // *Arch Virol.* – 2014. – Vol.159. – P.1239-1247.
 63. Cristina N., Liaud M., Santoro F. et al. A family of repeated DNA sequences in *Toxoplasma gondii*: cloning, sequence analysis, and use in strain characterization // *Exp. Parasitol.* – 1991. – Vol.73. – P.73-81.
 64. Dard C., Fricker-Hidalgo H., Brenier-Pinchart M., Pelloux H. Relevance of and new developments in serology for toxoplasmosis // *Trends Parasitol.* – 2016 – Vol.32. – P.492-506.
 65. Derouin F, Pelloux H; ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients // *Clin Microbiol Infect.* – 2008. – Vol.190. – P.1089-1101.
 66. Dominguez G., Wang C.Y., Frey T.K. (July 1990). Sequence of the genome RNA of rubella virus: evidence for genetic rearrangement during togavirus evolution // *Virology.* – 1990. – Vol.177. – P.225-238.
 67. Douvouiannis M., Litman N., Goldman D.L. Neurologic manifestations associated with Parvovirus B19 Infection // *CID.* – 2009. – Vol.48. – P.1713-1723.
 68. Doyle S. The detection of parvoviruses // *Diagnostic Virology Protocols.* Ed. Stephenson J., Warnes A. – Springer: 2011. – P.213-231.
 69. Ekman A., Hokynar K., Kakkola L. et al. Biological and immunological relations among Human Parvovirus B19 genotypes 1 to 3 // *J. Virol.* – 2007. – Vol.81. – P.6927-6935.
 70. Enders M., Weidner A., Zoellner I., Searle K., Enders G. Fetal morbidity and mortality after acute human parvovirus B19 infection in pregnancy: prospective evaluation of 1018 cases // *Prenat Diagn.* – 2004. – Vol.24. – P.513-518.
 71. Enders M., Klingel K., Weidner A., Baisch C., Kandolf R., Schalasta G., Enders G. Risk of fetal hydrops and non-hydrops late intrauterine fetal death after gestational parvovirus B19 infectio // *J Clin Virol.* – 2010. – Vol.49. – P.163-168.
 72. Ergaz Z., Ornoy A. Parvovirus B19 in pregnancy // *Reprod Toxicol.* – 2006. – Vol.21. – P.421-435.
 73. Fernandez-Sabe N., Cervera C., Farinas C. et al. Risk factors, clinical features, and outcomes of toxoplasmosis in solid-organ transplant recipients: a matched case-control study // *Clin Infect Dis.* – 2012. – Vol.54. – P.355-361.
 74. Frenkel J. Toxoplasmosis: parasite life cycle, pathology, and immunology // *The Coccidia, Eimeria, Isospora, Toxoplasma, and related genera.* Ed. Hammond D., Longed P. – London: University Park Press, 1973. – P.343-410.
 75. Gajurel K, Dhakal R, Montoya J. Toxoplasma prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations // *Curr Opin Infect Dis.* – 2015. – Vol.28. – P.283-292.
 76. Gallinella G. Parvovirus B19 Achievements and Challenges // *Virology.* – Vol.2013 Article ID 898730. <http://dx.doi.org/10.5402/2013/898730> (дата обращения 02.05.2020).
 77. George S., Viswanathan R., Sapkal G. Molecular aspects of the teratogenesis of rubella virus // *Biol. Res.* – 2019. – Vol. 52. – P.47-54.
 78. Global measles and rubella laboratory network support for elimination goal, 2010–2015 //

- Wkly Epidemiol. Rec. – 2016. – Vol.91. – P.240-246.
79. Harger J.H., Adler S.P., Koch W.C., Harger G.F. Prospective evaluation of 618 pregnant women exposed to parvovirus B19: risks and symptoms // *Obstet Gynecol.* – 1998. – Vol.91. – P.413-420.
 80. Heegaard E., Brown K. Human parvovirus B19 // *Clin Microbiol Rev.* – 2002. – Vol.15. – P.485-505
 81. Howe D., Sibley L. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease // *J Infect Dis.* – 1995 – Vol.172. – P.1561-1566.
 82. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV): Taxonomy release 2018b. <https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/8266> (дата обращения 02.05.2020).
 83. Kieffer F., Wallon M. Congenital toxoplasmosis // *Pediatric Neurology Part II. Handbook of Clinical Neurology.* – 2013. – Vol.112. – P.1099-1101.
 84. Kleinman S., Glynn S., Lee T. et al. A linked donor–recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion // *Blood.* – 2009. – Vol.114. – P.3509-3511.
 85. Kumano K. Various clinical symptoms in human parvovirus B19 infection // *Jpn J Clin Immunol.* – 2008. – Vol.31. – P.448-453.
 86. Landry M.L. Parvovirus B19 // *Microbiol.Spectr.* – 2016. – Vol.4. – P.1-13.
 87. Lindsay D., Dubey J. *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis // *Parasitology.* – 2011. – Vol.138. – P.1829-1831.
 88. Marra C. Central nervous system infection with *Toxoplasma gondii* // *Handb Clin Neurol.* – 2018. – Vol.152. – P.117-122.
 89. Matsukura H., Matsukura H., Shibata S. et al. Persistent infection by human parvovirus B19 in qualified blood donors // *Transfusion.* – 2008. – Vol.48. – P.1036-1037.
 90. Miller E., Craddock–Watson J., Pollock T. Consequences of confirming maternal rubella at successive stages of pregnancy // *Lancet.* – 1982. – Vol.320. – P.781-784.
 91. Moncada P., Montoya J. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment // *Expert Rev Anti Infect Ther.* – 2012. – Vol.10. – P.815-828.
 92. Morel O., Chagnaud S., Laperrelle J. et al. Parvovirus B19 in pregnancy: literature review // *GynecolObstetFertil.* – 2007. – Vol.35. – P.1095-1104.
 93. Mossong J., Hens N., Friederichs V. et al. Parvovirus B19 infection in the European countries: seroepidemiology, force of infection, and maternal risk of infection // *Epidemiol. Infect.* – 2008. – Vol.136. – P.1059-1068.
 94. NCCLS. Clinical use and interpretation of serologic tests for *Toxoplasma gondii*; approved Guideline // NCCLS. – 2004. – Wayne, PA.
 95. Ornoy A., Ergaz Z. Parvovirus B19 infection during pregnancy and risks to the fetus // *Birth Defects Res.* – 2017. – Vol.109. – P. 311-323.
 96. Plentz A1, Würdinger M, Kudlich M, Modrow S. Low-level DNAemia of parvovirus B19 (genotypes 1–3) in adult transplant recipients is not associated with anaemia // *J Clin Virol.* – 2013. – Vol.58. – P.443-448.
 97. Reischl U., Bretagne S., Krüger D. et al. Comparison of two DNA targets for the diagnosis of Toxoplasmosis by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes // *BMC Infectious Diseases.* – 2003. – Vol.3. – P.7-15.
 98. Robert–Gangneux F., Dardé M. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis // *Clin Microbiol Rev.* – 2012. – Vol.25. – P.264-296.
 99. Rodis J.F., Borgida A.F., Wilson M., Egan J.F., Leo M.V., Odibo A.O., Campbell W.A. Management of parvovirus infection in pregnancy and outcomes of hydrops: a survey of members of the Society of Perinatal Obstetricians // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1998. – Vol.179. – P.985-988.
 100. Rogo L.D., Mokhtari–Azad T., Kabir M.H., Rezaei F. Human Parvovirus B19: a review // *Acta virologica.* – 2014. – Vol.58. – P.199-213.

101. Romand S., Chosson M., Franck J. et al. Usefulness of quantitative polymerase chain reaction in amniotic fluid as early prognostic marker of fetal infection with *Toxoplasma gondii* // *Am J Obstet Gynecol.* – 2004 – Vol.190 – P.797-802.
102. Rubella // *Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. Textbook. 13th edition. Ed. by Hamborsky J., Kroger A., Wolfe C. The Pink Book: Course Textbook/Atlanta, 2015.* – P.325-340.
103. Su C., Khan A., Zhou P. et al. Globally diverse *Toxoplasma gondii* isolates comprise six major clades originating from a small number of distinct ancestral lineages // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2012. – Vol.109. – P.5844-5849.
104. Toppinen M., Norja P., Aaltonen L. et al. A new quantitative PCR for human parvovirus B19 genotypes // *J Virol Methods.* – 2015. – Vol. 218. – P.40-45.
105. United States Centers for Disease Control and Prevention. Control and prevention of rubella: evaluation and management of suspected outbreaks, rubella in pregnant women, and surveillance for congenital rubella syndrome // *Morbidity and Mortality Weekly Report* – 2001. – Vol.50. – P.1-23.
106. Update of standard nomenclature for genetic characteristics of wild-type rubella viruses // *Wkly Epidemiol Rec.* – 2007. – Vol.82. – P.209-224.
107. Van Beers-Tas M., Heidema J. Pathogenesis of parvovirus infections in children // *Virology* – 2013. – Vol.2. – P.110. doi:10.4172/2161-0517.1000110
108. Wang Z-D., Wang C-H., Liu H-H. et al. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis // *Lancet HIV.* – 2017. – Vol.4. – P.e177-e188.
109. Watt A., Brown M., Pathiraja M. et al. The lack of routine surveillance of Parvovirus B19 infection in pregnancy prevents an accurate understanding of this regular cause of fetal loss and the risks posed by occupational exposure // *J Med Microbiol.* – 2013. – Vol.62. – P.86-92.
110. Wolyniec W., Sulima M., Renke M., Debska-Slizien A. Parasitic Infections Associated with Unfavourable Outcomes in Transplant Recipients // *Medicina.* – 2018. – Vol.54. – P.27-42.
111. <http://rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/> (дата обращения 27.04.20).

■ **Сбор и хранение материала для лабораторной диагностики инфекционных болезней**

Биологический материал со слизистых оболочек и кожи

Биологический материал со слизистых оболочек уrogenитального тракта

Взятие материала

При приготовлении мазка для микроскопического исследования рекомендуется прокатывать тампон по стеклу, а не «намазывать» материал. Для получения материала используют ватные/дакроновые тампоны, бактериологические петли.

Для приготовления нативного препарата на предметное стекло помещают каплю теплого стерильного физиологического раствора (37 °С), полученный материал смешивают с физиологическим раствором, накрывают покровным стеклом и исследуют непосредственно после получения. Для проведения микроскопии окрашенного препарата материал высушивают на воздухе при комнатной температуре.

При взятии материала для проведения культурального исследования пациент не должен принимать антибактериальные препараты в течение предшествующих двух недель. Тампон с материалом оставляют в пробирке с транспортной средой. Для получения материала используют ватные/дакроновые тампоны, бактериологические петли.

При взятии материала для выявления ДНК/РНК рабочую часть зонда обламывают и оставляют в пробирке с транспортной средой. В случае невозможности обломить рабочую часть зонда следует максимально полностью смыть биологический материал с рабочей части в пробирку с транспортной средой, прижав ее к внутренней стороне пробирки и вращая по 5-10 раз по и против часовой стрелки. Недопустимо использование многогранных ножниц для обрезания рабочей части зонда – это может привести к перекрестной контаминации биологического материала и, как следствие, получению ложноположительных результатов. При взятии образцов необходимо использовать только тот инструментарий, который рекомендован фирмой-производителем наборов реагентов (универсальные зонды, ватные/дакроновые тампоны, цитощетки).

Мазки (соскобы) со слизистой оболочки цервикального канала

Доступ к цервикальному каналу обеспечивают с помощью одноразового или многогрязового стерильного гинекологического зеркала. Удаляют слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки стерильным марлевым тампоном, вводят рабочую часть зонда (тампона) в цервикальный канал на 1-2 см и делают два-три полных оборота по часовой стрелке. Извлекают зонд (тампон) и помещают его рабочую часть, содержащую взятый материал, в пробирку с транспортной средой или прокатывают по предметному стеклу.

Мазки (соскобы) со слизистой оболочки уретры женщин

При наличии выделений из уретры их следует удалить ватным тампоном перед взятием материала. Зонд (тампон) вводят в уретру на 1-2 см, вращают в течение нескольких секунд, затем вынимают и помещают в пробирку с транспортной средой или прокатывают по предметному стеклу.

Мазки (соскобы) со слизистой оболочки влагалища

Во влагалище вводят одноразовое или многогрязовое стерильное гинекологическое зеркало. При наличии обильных выделений их предварительно удаляют ватным тампоном. Материал для исследования собирают зондом (тампоном) из заднего свода и боковых стенок влагалища. Затем зонд (тампон) помещают в пробирку с транспортной средой или прокаты-

вают по предметному стеклу. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи и крови.

У девственниц: зонд (тампон) вводят во влагалище через гименальное отверстие и собирают материал с задней стенки влагалища. Затем зонд (тампон) помещают в пробирку с транспортной средой или прокатывают по предметному стеклу. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи и крови.

Мазки (соскобы) со слизистой оболочки уретры мужчин

Перед взятием соскоба из уретры обрабатывают головку полового члена в области наружного отверстия уретры тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. Производят массаж уретры. При наличии свободно стекающих из уретры выделений удаляют их сухим тампоном. Вводят зонд (тампон) в уретру на глубину 1-2 см. Несколькими вращательными движениями производят соскоб эпителиальных клеток и переносят зонд в пробирку с транспортной средой или прокатывают по предметному стеклу.

Мазки (соскобы) со слизистой крайней плоти

Крайнюю плоть сдвигают по направлению к основанию полового члена. Зондом (тампоном) производят соскоб эпителиальных клеток со слизистой крайней плоти и переносят зонд в пробирку с транспортной средой или прокатывают по предметному стеклу.

Хранение образцов

Мазки (соскобы)

- Микроскопическое исследование:

При необходимости транспортировки нативный препарат помещают в чашку Петри, в которой находится влажная фильтровальная бумага или ватный шарик, при доставке в лабораторию следует не допускать охлаждения, исследовать сразу после доставки.

Окрашенный препарат, предварительно высушенный на воздухе, стабилен в течение 24 ч. При необходимости более длительного хранения препарат фиксируют 96% спиртом в течение 3 мин.

- Культуральное исследование:
 - для выявления *Herpes Simplex Virus* – при температуре 18-25 °С не более 24 ч.;
- Выявление ДНК/РНК

Транспортная среда, в которую помещают образцы биоматериала, и условия его хранения определяются инструкцией к используемому набору реагентов.

Биологический материал со слизистых оболочек верхних дыхательных путей

Для сбора мазков из носоглотки и ротоглотки используются стериль-

ные зонды, которые после сбора материала погружают в одноразовые стерильные пробирки или контейнеры с транспортной средой, обеспечивающей стабильность и сохранение ростовых свойств микроорганизмов. Тип зондов, состав транспортных сред, методику сбора, а также условия хранения и транспортирования биологического материала следует уточнить в инструкции к используемому набору реагентов. Материал берут натошак или через 3-4 ч после еды. Для более полного открытия глоточного отверстия рекомендуется по время забора материала надавливать шпателем на корень языка. Важно, чтобы при извлечении тампона он не касался зубов, щек, языка. Сбор материала для исследования для культуральных исследований и микроскопии необходимо проводить до назначения специфической противомикробной терапии. Несоблюдение данного условия может привести к ложноотрицательному результату исследования.

Хранение образцов

- Для культуральных исследований и микроскопии – при температуре 2-8 °С не более 24 ч.
- Для выявления РНК/ДНК:
 - при температуре 2-8 °С – в течение 72 ч.;
 - при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.;
 - длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Мазки со слизистой носоглотки и/или ротоглотки для выявления РНК/ДНК – возможно совмещение мазков со слизистой носоглотки и ротоглотки в одной пробирке. Для этого сначала берут мазки разными сухими стерильными зондами с тампонами: вначале со слизистой нижнего носового хода, а затем из ротоглотки, при этом рабочие концы зондов с тампонами после взятия мазков у пациента помещаются в одну пробирку с 500 мкл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков, и впоследствии исследуются как один образец. Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой рекомендуется провести высмаркивание. В течение 6 ч. перед процедурой нельзя использовать медикаменты, орошающие носоглотку или ротоглотку и препараты, предназначенные для рассасывания во рту.

Мазки со слизистой носоглотки берут сухим стерильным назофарингальным велюр-тампоном на пластиковом аппликаторе. Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину до носоглотки, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (3-4 см для детей и 5-6 см для взрослых). После забора материала рабочий конец зонда с тампоном опускают в стерильную одноразовую пробирку с 500 мкл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков до

места слома, при этом гибкая часть зонда сворачивается спиралью, далее, прикрывая сверху пробирку крышкой, рукоятку зонда опускают вниз, добиваясь полного отламывания верхней части стержня зонда. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда герметично закрывают.

Мазки из ротоглотки берут сухими стерильными зондами из полистирола с вязкими тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки, аккуратно прижимая язык пациента шпателем. После взятия биологического материала рабочую часть зонда с тампоном помещают в стерильную одноразовую пробирку с 500 мкл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков. Аккуратно обламывают верхнюю часть стержня зонда на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части и оставляют рабочую часть зонда с биологическим материалом в пробирке с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда герметично закрывают.

Мазки из ротоглотки и носа для диагностики дифтерии (культуральные исследования) – для взятия материала используется сухой стерильный ватный тампон, вмонтированный в пробку пробирки или готовые транспортные среды, отдельным тампоном из ротоглотки и из носа. Взятие мазков осуществляют натошак или не ранее двух часов после еды, не касаясь тампоном языка, внутренних поверхностей щек и зубов.

Мазки из ротоглотки и носа для диагностики менингококковой инфекции (культуральные исследования) – тампон вводят через ротовую полость ватным концом сверху за мягкое небо в носоглотку и проводят 2-3 раза по задней стенке. При извлечении из ротоглотки тампон не должен касаться окружающих тканей (зубы, слизистая щек, язык, небный язычок). После извлечения тампона содержащуюся на нем слизь засевают на чашки (сывороточный агар и сывороточный агар с линкомицином) или помещают в транспортную среду для немедленной доставки в лабораторию. Допускается применение коммерческих питательных транспортных сред разрешенных к применению в Российской Федерации в установленном порядке.

Мазки из носоглотки для диагностики гриппа (культуральные исследования) собирают стерильными зондами с вязкими тампонами из нижнего носового хода. Зонд с тампоном вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход глубоко, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (3-4 см для детей и 5-6 см для взрослых). После взятия материала тампон, не нарушая стерильности, помещают в пробирку с 2,0-5,0 мл вирусологической транспортной среды. Материал хранят в течение 24 ч при температуре 2-8 °С, более длительно – при температуре не выше минус 16 °С.

Мазки из носоглотки для диагностики коклюша (культуральные исследо-

вания) собирают стерильными зонд-тампонами с вязкозным наконечником на алюминиевой основе, вмонтированными в пробку и пробирку с транспортной средой AMIES с активированным углем. Зонд извлекают из упаковки, вводят через носовые ходы и удерживают в носоглотке в течение 10 сек, чтобы он пропитался отделяемым слизистой носоглотки. После этого тампон извлекают, делая упор на боковую стенку носа, и немедленно помещают в пробирку с транспортной средой AMIES с активированным углем. Собранный материал необходимо исследовать в день получения (в исключительных случаях – хранить в холодильнике при температуре 2-8 °С не более 12ч).

Заднеглоточные мазки для диагностики коклюша (культуральные исследования) собирают стерильным зонд-тампоном с вязкозным наконечником на алюминиевой основе, вмонтированным в пробку, вносят в пробирку с транспортной средой AMIES с активированным углем. Целесообразно использовать готовые комплекты. Зонд извлекают из упаковки, пробирку со средой вскрывают, конец зонда (на расстоянии 2 см от конца с тампоном) помещают в пробирку и изгибают под углом 135°, делая упор на внутренний край пробирки, и извлекают из пробирки. Аккуратно прижимая язык пациента шпателем, вводят изогнутый тампон в ротовую полость ниже язычка и собирают материал с задней стенки глотки, не задевая язык, слизистую оболочку щек и миндалин. Зонд с биоматериалом помещают в пробирку со средой AMIES, следя за тем, чтобы пробка, в которую вмонтирован тампон, плотно закрывала пробирку. Пробирки с транспортной средой AMIES до использования хранят при комнатной температуре. После взятия материала тампон, не нарушая стерильности, помещают в пробирку с 2,0-5,0 мл вирусологической транспортной среды. Собранный материал необходимо исследовать в день получения (в исключительных случаях – хранить в холодильнике при температуре 2-8 °С не более 12 ч).

Метод «кашлевых пластинок» для диагностики коклюша (культуральные исследования): чашку со средой (Борде-Жангу или КУА с антибиотиками и добавлением 20% или 10% крови животных соответственно), хранящуюся при температуре 2-8 °С, выдерживают при комнатной температуре, подносят на расстоянии 8-10 см ко рту кашляющего ребенка и удерживают ее в течение нескольких секунд (6-8 кашлевых толчков). Собранный материал необходимо исследовать в день получения (в исключительных случаях – хранить при температуре 2-8 °С не более 12 ч).

Мазки из носоглотки для обнаружения антигенов внутриклеточных патогенов собирают стерильными зондами с вязкозными тампонами из нижнего носового хода. Зонд с тампоном вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину глубоко (вплоть до слез у пациента), делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. После взятия материала тампон помещают в пробирку с 3 мл 0,1 моль/л фосфатно-солевого буфер-

ного раствора. Для получения суспензии клеток тампон в пробирке тщательно отжимают о стенки, тампон удаляют, пробирку закрывают. Проводят центрифугирование в течение 5 мин при 3000 об/мин для осаждения клеток. Надосадочную жидкость осторожно удаляют, а осадок клеток ресуспендируют в нескольких каплях фосфатно-солевого буферного раствора и наносят на предметные стекла (не менее 3 шт.) отдельными каплями. Препарат высушивают и фиксируют 10 мин в охлажденном до 2-8 °С химически чистом ацетоне. Фиксированные предметные стекла хранят при температуре 2-8 °С не более 6-7 дней.

Биологический материал со слизистых оболочек нижних дыхательных путей

Мокрота отбирается утром натощак, после предварительного полоскания рта и горла кипяченой водой, при сборе мокроты крайне нежелательно попадание слюны в пробу. Учитывая, что в момент откашливания мокроты создается высокий риск воздушно-капельного распространения инфекции, желательно, чтобы сбор мокроты проводился в отдалении от других людей – на открытом воздухе или в отдельной, хорошо вентилируемой комнате. Если больной выделяет мало мокроты, ее следует собирать в течение суток, при этом собранный материал следует хранить в холодильнике. В случаях, когда кашель оказывается непродуктивным, следует прибегать к индукции мокроты посредством ингаляции стерильного 5% раствора натрия хлорида через небулайзер.

Полученную мокроту помещают в одноразовые стерильные герметично закрывающиеся контейнеры.

Трахеальный смыв, материалы, полученные при проведении бронхоскопии (промывные воды бронхов, БАЛ, а также материалы катетерили щеточной биопсии). Материал, полученный с помощью эндоскопии, аспираты из трахеи, собранные стандартным образом, помещают в стерильные пластиковые контейнеры. Материал необходимо исследовать до начала антибактериальной терапии.

Хранение образцов

Для культуральных исследований и микроскопии при температуре 2-8 °С не более 24 ч.

Для выявления РНК/ДНК:

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Мазки (соскобы) с конъюнктивы глаз

Биологический материал получают под местной анестезией (2 капли раствора декаина). Оттянув нижнее веко, проводят тампон вращающими движениями по конъюнктиве 4-5 раз, захватывая внутренний и внешний углы глаза. Затем переносят тампон в пробирку с транспортной средой или прокатывают по предметному стеклу.

Хранение образцов

При температуре 16-24 °С не более 8 ч. При необходимости длительной транспортировки – замораживание материала.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Мазки (соскобы) с пузырьковых высыпаний, эрозивно-язвенных поражений, раневых поверхностей, редких локализаций дифтерии (глаз, рана, ухо и т.д.)

Биологический материал отбирают с пораженных участков. При наличии везикул покрышку удаляют стерильной иглой, содержимое везикулы собирают стерильным сухим зондом-тампоном вращательными движениями. При наличии язв собирают мазки со дна язвы тампоном. С пораженных участков кожи материал собирается после удаления корочки стерильным сухим зондом-тампоном вращательными движениями. После взятия биологического материала рабочую часть зонда с тампоном помещают в стерильную одноразовую пробирку с 500 мкл транспортной среды. Аккуратно обламывают верхнюю часть стержня зонда на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части и оставляют рабочую часть зонда с биологическим материалом в пробирке с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда герметично закрывают.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Биологический материал для пренатальной диагностики

Амниотическая жидкость

Получают во время проведения амниоцентеза методом аспирации в количестве не менее 1,0 мл в стерильные одноразовые герметично закрывающиеся пробирки или контейнеры.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-20 °С– до 1 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.;

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Ворсинки хориона

Биологический материал получают во время проведения хориоцентеза.

Ворсинки хориона помещают в стерильную одноразовую герметично закрывающуюся пробирку с транспортной средой, рекомендуемой производителем наборов реагентов.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С– до 1 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Биопсийный и операционный материал

Биологический материал следует забирать наиболее близко к месту поражения: из зоны предполагаемого местонахождения возбудителя инфекции, из поврежденной ткани или из пограничного с повреждением участка. Желательно забирать несколько (3-5) кусочков ткани диаметром не более 5,0 мм. Для гистологического исследования на сифилис клиновидный кусочек исследуемого материала берут из краевой зоны поражения (эктима, гумма, бугорок и др.)

Материал следует поместить в стерильную одноразовую герметично закрывающуюся пробирку с транспортной средой, рекомендуемой производителем наборов реагентов, пробирку плотно закрыть крышкой.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С– до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Кровь

Взятие крови для исследований рекомендуется проводить натощак или через 3 ч после приема пищи из локтевой вены в положении сидя. При взятии крови для диагностики сифилиса кровь набирают в стерильную пробирку с пластиковой пробкой. У детей младшего возраста возможно взятие крови для получения сыворотки из ногтевой фаланги среднего пальца в

объеме 0,5-1,0 мл. Пуповинную кровь получают во время проведения кордоцентеза. Менструальную кровь собирают с помощью колпачка Кафка.

Культуральные исследования

Кожу над пунктируемой веной обрабатывают 70° спиртом; наносят 2-5% йодную настойку, круговыми движениями, начиная от центра, в течение 30 сек.; после высыхания йодной настойки проводят венепункцию; протирают кожу 70° спиртом.

Сразу после взятия кровь засевают на питательные среды. Посевы крови немедленно доставляют в лабораторию, оберегая от охлаждения.

Выявление ДНК/РНК микроорганизмов, антигенов, специфических антител

Цельная кровь, пуповинная кровь

Взятие крови производится стерильной одноразовой иглой в стерильную одноразовую пробирку с антикоагулянтом. При взятии крови для ПЦР-исследований в качестве антикоагулянта нельзя использовать гепарин. Закрытую пробирку с кровью следует несколько раз плавно перевернуть вверх дном, чтобы кровь в пробирке с антикоагулянтом тщательно перемешалась. После плавного перемешивания пробирку поместить в штатив.

Хранение образцов

- при температуре 18-25 °С – в течение 2 ч;
 - при температуре 2-8 °С – в течение 72 ч с момента взятия материала.
- Недопустимо замораживание образцов цельной крови.

Плазма крови

Взятие крови проводят с антикоагулянтом (тип антикоагулянта следует уточнить в инструкции к набору реагентов). При взятии крови для ПЦР-исследований в качестве антикоагулянта нельзя использовать гепарин. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают и хранят при температуре 2-8 °С не более 6 ч. Пробирку с цельной кровью центрифугируют при 800-1600 g (3 тыс. об/мин) в течение 10 мин при комнатной температуре. Полученную плазму переносят в сухие чистые пробирки.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 5 сут.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

Сыворотка крови

Пробы крови, взятые без антикоагулянта, отстаивают при комнатной температуре в течение 30 мин. После центрифугирования при 800-1600 g (3 тыс. об/мин) в течение 10 мин, перенести сыворотку в сухие чистые пробирки. Образцы с выраженным гемолизом, гипербилирубинемией, липемией не

должны использоваться для выявления НК возбудителей инфекции.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 5 сут.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

Лейкоцитарная фракция крови (выявление ДНК/РНК, микроскопические исследования)

Взятие крови проводят с антикоагулянтом (тип антикоагулянта следует уточнить в инструкции к набору реагентов). При взятии крови для ПЦР-исследований в качестве антикоагулянта нельзя использовать гепарин. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают и хранят при температуре 2-8 °С не более 6 ч. Пробирку с цельной кровью центрифугируют при 800-1600 g (3 тыс. об/мин) в течение 10 мин при комнатной температуре. По окончании центрифугирования надосадочную жидкость удаляют, после чего аккуратно собирают с поверхности осадка клеток лейкоцитарную фракцию цельной крови (лейкоцитарную пленку) в объеме 0,2 мл и переносят в сухую чистую пробирку.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 72 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 1 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

Моча

Сбор мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов.

Женщинам желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала для предупреждения контаминации мочи отделяемым из влагалища. Не следует производить сбор мочи во время менструации.

Мужчинам при мочеиспускании необходимо освободить наружное отверстие мочеиспускательного канала, полностью оттянув кожную складку.

Для исследований обычно используют утреннюю мочу. Перед сбором образцов для лабораторных исследований следует уточнить в инструкции к используемому набору реагентов характер материала (первая порция утренней мочи, средняя и т.д.) и время хранения проб. Для получения достоверных результатов, исследования для выявления возбудителей бактериальных инфекций должны проводиться не менее чем через 2 нед. после последнего приема антибиотиков и/или антибактериальных препаратов.

Культуральные исследования, микроскопические исследования

Культуральное исследование нативного материала рекомендуется про-

водить в течение 2 ч от момента его получения.

Хранение образцов

При температуре 2-8 °С в течение 8 ч (максимально до 24 ч).

Обнаружение антигенов

Утреннюю порцию мочи собирают в стандартные пластиковые контейнеры.

Хранение образцов

- при температуре 18-25 °С не более 24 ч;
- при температуре 2-8 °С до 14 дн.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.

Выявление ДНК/РНК микроорганизмов

Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве не более 15 мл в специальный стерильный одноразовый сухой контейнер на 50-60 мл. Допускается отбор мочи в стерильную одноразовую вакуумную пробирку с помощью набора Вакутейнер.

Хранение образцов

- при температуре 18-25 °С – не более 8 ч.;
- при температуре 2-8 °С – не более 48 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С – до 3 мес.

для выявления возбудителей туберкулеза и микобактериоза

Среднюю порцию утренней мочи собирают в одноразовые градуированные завинчивающиеся емкости с широким горлом объемом не менее 50 мл.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 20 °С – в течение 1 нед.;
- при температуре минус 70 °С – длительно.

Спинномозговая жидкость

Спинномозговую жидкость (ликвор) следует получать путем прокола поясничной, субокципитальной области или мозговых желудочков стерильными одноразовыми пункционными иглами. Взятие спинномозговой жидкости в количестве не менее 0,5-1,0 мл для каждого из видов исследования проводят в стерильные одноразовые пластиковые пробирки или контейнеры.

Для проведения культуральных и микроскопических исследований образцы спинномозговой жидкости, как и других стерильных жидкостей организма, необходимо получать до начала антибиотикотерапии, в стерильные емкости и немедленно доставлять в лабораторию.

Спинномозговая жидкость для культуральных исследований доставляется в лабораторию в специальном контейнере, поддерживающем температуру не ниже 24 °С. В случае посева спинномозговой жидкости на

чашки и/или транспортную среду непосредственно после пункции, посе-
вы хранятся в условиях термостата при 37 °С.

*Спинальная жидкость для выявления РНК/ДНК и антигенов воз-
будителей инфекций, специфических антител*

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С– до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Синовиальная жидкость

Синовиальную жидкость следует забирать с помощью стерильных од-
норазовых игл в количестве не менее 1,0 мл в стерильные одноразовые
герметично закрывающиеся пробирки.

Хранение образцов

- при температуре 2-8 °С – в течение 24 ч.;
- при температуре минус 16-24 °С– до 3 мес.;
- длительно при температуре не выше минус 68 °С.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

Фекалии

Образцы фекалий для диагностики острых диарейных заболеваний,
следует собирать по возможности в первые три дня от начала заболева-
ния. Предпочтение следует отдавать нативным материалам. Крайне важно
проводить сбор материала для исследования прямыми методами диагно-
стики до назначения специфической противомикробной терапии. Несоб-
людение данного условия может привести к ложноотрицательному ре-
зультату исследования.

Взятие образцов

Забор материала производят из предварительно продезинфицирован-
ного и промытого от следов дезинфектанта горшка или подкладного суд-
на, на дно которого помещают одноразовый полиэтиленовый пакет или
лист чистой плотной бумаги. При дефекации нежелательно попадание в
судно мочи. Небольшое количество (4-6 порций общей массой не менее 2
гр) следует забирать из нескольких мест одноразовой лопаточкой, прикре-
пленной к крышке стерильного контейнера, в который забирают материал
(если отсутствуют рекомендации по использованию транспортных сред).
При наличии в испражнениях патологических примесей (слизь, хлопья,
эпителий, гной), за исключением крови, их включают в отбираемую пробу.
Жидкие фекалии собирают с помощью стерильного катетера со стериль-

ным наконечником с одной стороны и грушей, предварительно простерилизованной или обработанной 70° этиловым спиртом и тщательно ополоснутой стерильным физиологическим раствором.

Хранение образцов

Культуральные и микроскопические исследования, обнаружение антигенов бактериальных возбудителей

При температуре 18-25 °С не более 2 ч. Замораживание не допускается.

Диагностика кампилобактериоза

При температуре 18-25 °С не более 1 ч в контейнере без консерванта и транспортной среды. Сроки хранения материала в транспортных средах при температуре 2-8 °С определяют в зависимости от вида среды.

Обнаружение антигенов или РНК/ДНК вирусов:

- при температуре 18-25 °С – в течение 6 ч;
- при температуре 2-8 °С – в течение 3 сут;
- при температуре минус 16 °С – в течение 3 мес.

Ректальные мазки для бактериологических исследований

Выявление ДНК/РНК микроорганизмов

Зонд-тампон вводят в задний проход на глубину 4-5 см, аккуратно вращая его вокруг оси, собирают материал с крипт ануса, осторожно извлекают зонд-тампон и погружают его в транспортную среду. Транспортировка тампона без среды не допускается.

Хранение образцов

При температуре 2-8 °С в течение 24 ч.

ОСНОВНЫЕ ВИДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

■ Общеклинические исследования

Анализ мочи

Общий анализ мочи

Моча – продукт обмена веществ, образующийся при фильтрации крови в почках. Состоит на 96% из воды, остальные 4% приходятся на растворенные в ней конечные продукты обмена (мочевина, мочевая кислота), минеральные соли и др. вещества.

Общий анализ мочи включает оценку физико-химических характеристик мочи и микроскопию осадка. Данное исследование позволяет оценить функцию почек и других внутренних органов, а также выявить воспалительный процесс в мочевых путях (табл. 12).

Физико-химические исследования мочи включают оценку следующих показателей:

- цвет;
- прозрачность;
- удельный вес (относительная плотность);
- рН;
- концентрация белка;
- концентрация глюкозы;
- концентрация билирубина;
- концентрация уробилиногена;
- концентрация кетоновых тел;
- концентрация нитритов;
- концентрация гемоглобина.

Микроскопия мочевого осадка включает оценку следующих объектов:

- Организованный осадок мочи:
 - эритроциты;
 - лейкоциты;
 - эпителиальные клетки;
 - цилиндры;

- бактерии;
- дрожжевые грибы;
- слизь.
- Неорганизованный осадок мочи (кристаллы).

Физико-химические свойства

Оценка физических свойств мочи, таких как запах, цвет, мутность, проводится органолептическим методом. Удельный вес мочи измеряется при помощи урометра, рефрактометра или оценивается методами «сухой химии» (тест-полоски) – визуально или на автоматических анализаторах мочи.

Цвет мочи

У взрослого человека моча желтого цвета. Оттенок ее может колебаться от светлого (почти бесцветного) до янтарного. Насыщенность желтого цвета мочи зависит от концентрации растворенных в ней веществ. При полиурии моча имеет более светлую окраску, при уменьшении диуреза приобретает насыщенно-желтый оттенок. Окраска меняется при приеме лекарственных препаратов (салицилаты и др.) или употреблении некоторых пищевых продуктов (свекла, черника).

Патологически измененная окраска мочи бывает при:

- гематурии – вид «мясных помоев»;
- билирубинемии (цвет пива);
- гемоглобинурии или миоглобинурии (черный цвет);
- лейкоцитурии (молочно-белый цвет).

Прозрачность мочи

В норме свежесобранная моча совершенно прозрачна. Мутность мочи обусловлена наличием в ней большого количества клеточных образований, солей, слизи, бактерий, жира.

Запах мочи

В норме запах мочи нерезкий. При разложении мочи бактериями на воздухе или внутри мочевого пузыря, например в случае цистита, появляется аммиачный запах. В результате гниения мочи, содержащей белок, кровь или гной, например при раке мочевого пузыря, моча приобретает запах тухлого мяса. При наличии в моче кетоновых тел моча имеет фруктовый запах, напоминающий запах гниющих яблок.

Реакция мочи

Почки выделяют из организма «ненужные» и задерживают необходимые вещества для обеспечения обмена воды, электролитов, глюкозы, аминокислот и поддержания кислотно-основного баланса. Реакция мочи – рН – в значительной мере определяет эффективность и особенность этих механизмов. В норме

реакция мочи слабокислая (рН 5,0-7,0). Она зависит от многих факторов: возраста, диеты, температуры тела, физической нагрузки, состояния почек и др. Наиболее низкие значения рН – утром натощак, наиболее высокие – после еды. При употреблении преимущественно мясной пищи – реакция более кислая, при употреблении растительной – щелочная. При длительном стоянии моча разлагается, выделяется аммиак, и рН сдвигается в щелочную сторону.

Щелочная реакция мочи характерна для хронической инфекции мочевыводящих путей, также отмечается при поносе и рвоте.

Кислотность мочи увеличивается при лихорадочных состояниях, сахарном диабете, туберкулезе почек или мочевого пузыря, почечной недостаточности.

Удельный вес (относительная плотность) мочи

Относительная плотность отражает функциональную способность почек концентрировать и разводить мочу. Для нормально функционирующих почек характерны широкие колебания удельного веса мочи в течение суток, что связано с периодическим приемом пищи, воды и потерей жидкости организмом. Почки в различных условиях могут выделять мочу с относительной плотностью от 1,001 до 1,040 г/мл.

Различают:

- гипостенурию (колебания удельного веса мочи менее 1,010 г/мл);
- изостенурию (появление монотонного характера удельного веса мочи, соответствующее таковому первичной мочи (1,010 г/мл));
- гиперстенурию (высокие значения удельного веса).

Максимальная верхняя граница удельного веса мочи у здоровых людей – 1,028 г/мл, у детей – 1,025 г/мл. Минимальная нижняя граница удельного веса мочи составляет 1,003–1,004 г/мл.

Для оценки **химического состава** мочи в настоящее время, как правило, применяют диагностические тест-полоски (метод «сухой химии»), выпускаемые разными производителями. Химические методы, используемые в тест-полосках, основаны на цветных реакциях, дающих изменение цвета тестовой зоны полоски при разных концентрациях аналита. Изменение окраски определяется визуально или с помощью отражательной фотометрии с использованием полуавтоматических или полностью автоматизированных анализаторов мочи, результаты оцениваются качественно или полуколичественно. При обнаружении патологического результата исследование может быть выполнено повторно с использованием химических методов.

Белок

Белок в норме в моче отсутствует или присутствует в неопределяемой обычными методами концентрации (следы). Выявляют несколько видов протеинурии (появление белка в моче):

- физиологическая (ортостатическая, после повышенной физической на-

- грузки, переохлаждении);
- клубочковая (гломерулонефрит, действие инфекционных и аллергических факторов, гипертоническая болезнь, декомпенсация сердечной деятельности);
- канальцевая (амилоидоз, острый канальцевый некроз, интерстициальный нефрит, синдром Фанкони);
- преренальная (миеломная болезнь, некроз мышечной ткани, гемолиз эритроцитов);
- постренальная (при циститах, уретритах, кольпитах).

Глюкоза

В норме глюкоза в моче отсутствует. Появление глюкозы в моче может иметь несколько причин:

- физиологическая (стресс, прием повышенного количества углеводов);
- внепочечная (сахарный диабет, панкреатит, диффузные поражения печени, рак поджелудочной железы, гипертиреоз, болезнь Иценко-Кушинга, черепно-мозговые травмы, инсульты);
- ренальная (почечный диабет, хронические нефриты, острая почечная недостаточность, беременность, отравление фосфором, некоторыми лекарственными препаратами).

Билирубин

Билирубин в норме в моче отсутствует. Образуется при разрушении гемоглобина в клетках ретикулоэндотелиальной системы.

Билирубинурия выявляется при паренхиматозных поражениях печени (вирусные гепатиты), механической желтухе, циррозах, холестазах, в результате действия токсических веществ.

Уробилиноген

Нормальная моча содержит низкую концентрацию (следы) уробилиногена. Уровень его резко возрастает при гемолитической желтухе, а также при токсических и воспалительных поражениях печени, кишечных заболеваниях (энтериты, запоры).

Кетоновые тела

К кетоновым телам относятся ацетон, ацетоуксусная и бета-оксимасляная кислоты. Увеличение выделения кетонов с мочой (кетонурия) появляется при нарушении углеводного, липидного или белкового обмена.

Нитриты

Нитриты в нормальной моче отсутствуют. В моче они образуются из нитратов пищевого происхождения под влиянием бактерий, если моча не менее 4 часов находилась в мочевом пузыре. Обнаружение нитритов в правильно хранившихся образцах мочи свидетельствует об инфицировании мочевого тракта.

Гемоглобин

В норме в моче отсутствует. Гемоглобинурия – результат внутрисосудистого гемолиза эритроцитов с выходом гемоглобина – характеризуется выделением мочи красного или темно-бурого цвета, дизурией, нередко болями в пояснице. При гемоглобинурии эритроциты в осадке мочи отсутствуют.

Микроскопия осадка мочи

Осадок мочи делят на организованный (элементы органического происхождения – эритроциты, лейкоциты, эпителиальные клетки и цилиндры) и неорганизованный (элементы неорганического происхождения – кристаллические и аморфные соли).

Методы исследования

Исследование проводят визуально в нативном препарате с использованием микроскопа. Кроме визуального микроскопического исследования, применяется исследование с помощью автоматических и полуавтоматических анализаторов.

Эритроциты

За сутки с мочой выделяется 2 млн. эритроцитов, что при исследовании осадка мочи составляет в норме 0-3 эритроцита в поле зрения для женщин и 0-1 эритроцит в поле зрения у мужчин. Гематурией называют обнаружение эритроцитов в моче выше указанных значений. Выделяют макрогематурию (изменен цвет мочи) и микрогематурию (цвет мочи не изменен, эритроциты обнаруживаются только при микроскопии).

В мочевом осадке эритроциты могут быть неизмененные (содержащие гемоглобин) и измененные (лишенные гемоглобина, выщелоченные). Свежие, неизмененные эритроциты характерны для поражения мочевыводящих путей (цистит, уретрит, прохождение камня).

Появление в моче выщелоченных эритроцитов имеет большое диагностическое значение, т.к. они чаще всего имеют почечное происхождение и встречаются при гломерулонефритах, туберкулезе и других заболеваниях почек. Для определения источника гематурии применяют трехстаканную пробу. При кровотечении из уретры гематурия бывает наибольшей в первой порции (неизмененные эритроциты), из мочевого пузыря – в последней порции (неизмененные эритроциты). При других источниках кровотечения эритроциты распределяются равномерно во всех трех порциях (выщелоченные эритроциты).

Лейкоциты

Лейкоциты в моче здорового человека содержатся в небольшом количестве. Норма для мужчин – 0-3, для женщин и детей – 0-6 лейкоцитов в поле зрения.

Увеличения числа лейкоцитов в моче (лейкоцитурия, пиурия) в сочетании с бактериурией и наличием симптомов свидетельствует о воспалении инфекционной природы в почках или мочевыводящих путях.

Эпителиальные клетки

В мочевом осадке практически всегда встречаются клетки эпителия. В норме в анализе мочи не больше 10 эпителиальных клеток в поле зрения.

Эпителиальные клетки имеют различное происхождение:

- клетки плоского эпителия попадают в мочу из влагалища, уретры, их наличие особого диагностического значения не имеет;
- клетки переходного эпителия выстилают слизистую оболочку мочевого пузыря, мочеточников, лоханок, крупных протоков предстательной железы. Появление в моче большого количества клеток такого эпителия может наблюдаться при мочекаменной болезни, новообразованиях мочевыводящих путей и воспалении мочевого пузыря, мочеточников, лоханок, крупных протоков предстательной железы;
- клетки почечного эпителия выявляются при поражении паренхимы почек, интоксикациях, лихорадочных, инфекционных заболеваниях, расстройствах кровообращения.

Цилиндры

Цилиндр – белок, свернувшийся в просвете почечных канальцев и включающий в состав своего матрикса любое содержимое просвета канальцев. Цилиндры принимают форму самих канальцев (слепок цилиндрической формы). В норме в пробе мочи, взятой для общего анализа, цилиндры отсутствуют. Появление цилиндров (цилиндрурия) является симптомом поражения почек.

Различают цилиндры:

- гиалиновые (с наложением эритроцитов, лейкоцитов, клеток почечного эпителия, аморфных зернистых масс);
- зернистые;
- восковидные;
- пигментные;
- эпителиальные;
- эритроцитарные;
- лейкоцитарные;
- жировые.

Неорганизованный осадок

Неорганизованный осадок мочи состоит из солей, выпавших в осадок в виде кристаллов и аморфных масс. Характер солей зависит от рН мочи и других свойств. Например, при кислой реакции мочи обнаруживаются мочевиная кислота, ураты, оксалаты. При щелочной реакции мочи – кальций, фосфаты. Особого диагностического значения неорганизованный осадок не имеет.

Косвенно можно судить о склонности пациента к мочекаменной болезни.

Появление в моче лейцина и тирозина говорит о выраженном расстройстве обмена веществ, отравлении фосфором, деструктивном заболевании печени, пернициозной анемии, лейкозе.

Цистин – врожденное нарушение цистинового обмена – цистиноз, цирроз печени, вирусный гепатит, состояние печеночной комы, болезнь Вильсона-Коновалова.

Ксантин – ксантинурия обусловлена отсутствием ксантиноксидазы.

Бактерии, грибы, простейшие, гельминты

В норме моча в мочевом пузыре стерильна. При мочеиспускании в нее попадают микробы из нижнего отдела уретры.

Появление в общем анализе мочи бактерий и лейкоцитов на фоне каких-либо симптомов (например, дизурия или лихорадка) свидетельствует о клинически проявляющейся мочевой инфекции.

Наличие в моче бактерий (даже в сочетании с лейкоцитами) при отсутствии жалоб расценивается как бессимптомная бактериурия. Бессимптомная бактериурия повышает риск инфекции мочевых путей, особенно при беременности (до 40% случаев).

Обнаружение грибов рода *Candida* свидетельствует о кандидамикозе, возникающем чаще всего в результате нерациональной антибиотикотерапии, приеме иммуносупрессоров, цитостатиков.

Таблица 12

Физико-химические свойства и микроскопическая характеристика мочи здоровых лиц

Показатель	Свойства и характеристика образцов мочи
Цвет	Различные оттенки желтого цвета
Прозрачность	Прозрачная
Запах	Нерезкий, неспецифический
Реакция мочи или pH	pH 5,0–6,5
Удельный вес, г/мл	1,015 – 1,025 в утренней порции
Белок	Отсутствует
Кетоновые тела	Отсутствуют
Билирубин	Отсутствует
Уробилиноген, мг/л	10
Гемоглобин	Отсутствует
Эритроциты	Не обнаружены
Лейкоциты в моче в поле зрения	Женщины 0-6 Мужчины 0-3
Эпителиальные клетки	Незначительно в поле зрения
Цилиндры	Отсутствуют
Соли	Отсутствуют
Бактерии	Отсутствуют
Грибы	Отсутствуют
Паразиты	Отсутствуют

В осадке мочи могут быть обнаружены яйца кровяной шистосомы (*Schistosoma hematobium*), элементы эхинококкового пузыря (крючья, сколексы, выводковые капсулы, обрывки оболочки пузыря), мигрирующие личинки кишечной угрицы (стронгилиды), смываемые мочой с промеж-

ности онкосферы тениид, яйца острицы (*Enterobius vermicularis*) и патогенные простейшие: трихомонады (*Trichomonas urogenitalis*), амебы (*Entamoeba histolitika* – вегетативные формы).

Условия взятия и хранения образца

Для общего анализа собирают утреннюю порцию мочи. Сбор мочи проводят после тщательного туалета наружных половых органов без применения антисептиков. Для исследования используется свежесобранная моча, хранившаяся до анализа не более четырех часов. Образцы стабильны при температуре 2-8 °С не более 2 сут. Использование консервантов нежелательно. Перед исследованием мочу тщательно перемешивают.

Анализ мочи по Зимницкому

Проба Зимницкого позволяет оценить концентрационную функцию почек, т.е. способность почек к концентрированию и разведению мочи. Для выполнения исследования пациент в течение суток собирает мочу каждые 3 часа (всего 8 порций). В лаборатории оценивают количество и относительную плотность мочи в каждой из 3-часовых порций, суточный, дневной и ночной диурез.

В норме у взрослого человека колебания объема мочи в отдельных порциях составляют от 40 до 300 мл; колебания относительной плотности мочи между максимальными и минимальными показателями должны составлять не менее 0,012-0,016 г/мл. Значительные суточные колебания относительной плотности связаны с сохраненной способностью почек концентрировать или разводить мочу в зависимости от постоянно меняющихся потребностей организма.

Нормальная концентрационная функция почек характеризуется способностью увеличения в течение суток относительной плотности мочи до максимальных значений (свыше 1020 г/мл), а нормальная способность к разведению – возможностью снижения относительной плотности мочи ниже осмотической концентрации (осмолярности) безбелковой плазмы, равной 1010-1012 г/мл.

Показания к исследованию

- Признаки почечной недостаточности;
- хронический гломерулонефрит, пиелонефрит;
- гипертоническая болезнь;
- диагностика несахарного диабета.

Условия взятия и хранения образца

Суточная моча. Мочу для исследования собирают каждые 3 часа, в т. ч. и в ночное время, в течение суток.

В день исследования не допускается избыточное потребление жидкости, необходимо исключить прием мочегонных средств.

Ход исследования

Определение:

- суточного диуреза (общее количество мочи, выделенное за сутки);

- дневного диуреза (объем мочи с 6 ч утра до 18 ч вечера (1-4 порции));
- ночного диуреза (объем мочи с 18 ч вечера до 6 ч утра (5-8 порции));
- количество мочи в каждой из 3-часовых порций;
- относительную плотность мочи в каждой из 3-часовых порции.

Референсные показатели

- Суточный диурез около 1,5 л;
- значительное преобладание дневного диуреза над ночным;
- удельный вес хотя бы одной из порций не ниже 1020 г/мл;
- значительные колебания в течение суток количества мочи и удельного веса в разных порциях.

Интерпретация полученных данных

Объем мочи

У здорового человека в норме в течение суток выводится примерно 3/4 (65-80%) выпитой жидкости.

Полиурия – выделение более 2000 мл мочи за сутки, причинами могут быть:

- увеличение потребления жидкости;
- применение осмотических диуретиков;
- заболевания почек (хроническая почечная недостаточность, хронический пиелонефрит, поликистоз почек, дистальный канальцевый ацидоз);
- несахарный диабет;
- различные формы гипоальдостеронизма;
- саркоидоз, миеломная болезнь.

Олигурия – выделение менее 400 мл мочи за сутки, причинами могут быть:

- ограничение потребления жидкости;
- увеличение потерь жидкости (усиленное потоотделение, профузные поносы, неукротимая рвота);
- отеки разного происхождения (сердечная недостаточность, нарушения функции почек).

Анурия – 200-300 мл и меньше мочи в сутки или полное прекращение выделения мочи, причинами могут быть:

- секреторная анурия:
 - нарушение клубочковой фильтрации (шок, острая кровопотеря, уремия);
- экскреторная анурия:
 - нарушение отведения мочи по мочеиспускательному каналу;
 - нарушение функции мочевого пузыря.

Дневной и ночной диурез

В норме у здорового человека отмечается отчетливое (примерно двукратное) преобладание дневного диуреза над ночным.

Никтурия – равенство или преобладание ночного диуреза над днев-

ным, причинами могут быть:

- сердечная недостаточность;
- нарушение концентрационной функции почек.

Относительная плотность мочи

Гипостенурия – низкая плотность мочи (ни в одной из порций плотность мочи не превышает 1,012-1,013 г/мл) указывает на нарушение концентрационной способности почек, причиной может быть:

- хроническая почечная недостаточность;
- сердечная недостаточность;
- сахарный диабет.

Гипоизостенурия – плотность мочи в каждой порции пробы Зимницкого не превышает 1,009 г/мл и практически не изменяется на протяжении суток. Причиной может быть тяжелая почечная недостаточность.

Гиперизостенурия – постоянно высокий удельный вес мочи, причиной может быть:

- сахарный диабет;
- острый или хронический гломерулонефрит;
- токсикоз беременных;
- нефротический синдром.

Анализ мочи по Нечипоренко

Анализ мочи по Нечипоренко применяют для более подробного выявления нарушений, обнаруженных при общем анализе мочи. В ходе исследования выполняют количественное определение содержания в моче лейкоцитов, эритроцитов и цилиндров в единице объема (обычно в 1 мл). Исследование позволяет оценить состояние и функции почек и мочевыводящих путей.

Анализ мочи по Нечипоренко предназначен для диагностики воспалительных процессов мочевыводящей системы (циститы, пиелонефриты), выявления скрытой гематурии и цилиндрурии. Этот вид анализа используют для дифференциальной диагностики пиелонефритов и гломерулонефритов. Исследование мочи по Нечипоренко в динамике проводится для оценки эффективности антибактериальной терапии и контроля излеченности инфекции.

Показания к исследованию

- Патологические результаты общего анализа мочи;
- дифференциальная диагностика заболеваний почек и мочевыводящих путей;
- оценка эффективности лечения.

Условия взятия и хранения образца

Порция утренней мочи, взятая в середине мочеиспускания. Собранную

мочу необходимо доставить в лабораторию в течение 4 часов.

Образец стабилен при температуре 2-6 °С не более 2 сут.

Ход исследования

Аликвоту образца мочи (10 мл) центрифугируют, удаляют надосадочную жидкость, оставляя 1 мл. Осадок тщательно перемешивают, переносят в камеру Горяева, где подсчитывают количество лейкоцитов, эритроцитов и цилиндров.

Количество форменных элементов в 1 мл мочи рассчитывают по формуле:

$$N = X \times 1000 / V, \text{ где}$$

N – число форменных элементов в 1 мл мочи;

X – число форменных элементов в 1 мкл мочи, оставленной с осадком;

V – объем мочи, взятый для центрифугирования.

Референсный интервал

Лейкоциты – до 4000 /мл;

Эритроциты – до 1000/мл;

Цилиндры – до 20/мл.

Интерпретация результатов

Повышение числа лейкоцитов в моче указывает на наличие инфекции в почках или мочевыводящих путях (мочевой пузырь, мочеиспускательный канал, почки). Основные заболевания, при которых наблюдается **лейкоцитурия**:

- цистит;
- пиелонефрит;
- почечнокаменная болезнь.

Основные заболевания, при которых наблюдается **гематурия**:

- острый гломерулонефрит;
- хронический гломерулонефрит;
- почечнокаменная болезнь;
- доброкачественные (папиллома, фиброма, гемангиома) и злокачественные опухоли почек и мочевыводящих путей.

Наличие в моче большого количества **цилиндров** свидетельствует о заболеваниях почек, сопровождающихся протеинурией (нефротический синдром, гломерулонефрит). Основные заболевания, при которых наблюдается **цилиндрурия**:

- гломерулонефрит;
- пиелонефрит;
- отравления нефротоксичными соединениями.

Двух- и трехстаканные пробы мочи

Стаканные пробы – метод исследования мочи, с помощью которого можно определить приблизительную локализацию патологического процесса в мочевых путях (табл. 13). В урологической практике используют

двух- или трехстаканную пробы, т. е. исследуют две или три порции мочи, полученные при однократном мочеиспускании. Стаканные пробы – это общий анализ мочи, состоящий из двух или трех порций. Каждую порцию мочи исследуют отдельно. С помощью данного анализа производят:

- анализ мочи из нижних мочевых путей;
- анализ «почечной» мочи;
- анализ мочи после массажа предстательной железы, если это специальный вариант проведения трехстаканной пробы для мужчин.

Показания к исследованию

- уретриты;
- заболевания простаты;
- воспалительные заболевания почек, мочевого пузыря, мочеточников.

Условия взятия и хранения образца

Сбор пробы мочи производится в один акт мочеиспускания (сначала подставляется 1-й стакан, затем 2-й стакан и далее) утром или через 2-3 часа после последнего мочеиспускания. Важно, чтобы вторая порция мочи была большей по объему.

За сутки до анализа не следует употреблять в пищу овощи и фрукты, которые могут изменить цвет мочи, не принимать мочегонные препараты и травяные сборы. Перед трехстаканной пробой с массажем предстательной железы рекомендуется половое воздержание в течение двух дней.

Таблица 13

Диагностическое значение выявления гематурии и лейкоцитурии при проведении трехстаканной пробы

Вид гематурии или лейкоцитурии	Локализация патологических изменений	Возможные причины	
		Гематурия	Лейкоцитурия
Инициальная (кровь или лейкоциты только в первой порции мочи)	Уретра	Стриктура уретры; уретрит; стеноз наружного отверстия уретры; рак уретры	Уретрит
Тотальная (кровь или лейкоциты во всех порциях мочи)	Мочевой пузырь, мочеточник, почка	Гидронефроз; мочекаменная болезнь; травмы; гломерулонефрит; туберкулез; опухоли	Цистит, пиелонефрит и др.
Терминальная (кровь или лейкоциты в последней порции мочи)	Шейка мочевого пузыря, предстательная железа	Доброкачественная гиперплазия предстательной железы, полип шейки мочевого пузыря; рак простаты	Шеечный цистит; простатит и др.

Анализ кала

Кал формируется в толстом кишечнике из непереваренных остатков пищи, секретов, экскретов, слущенного эпителия и клеточного детрита органов желудочно-кишечного тракта и других тканей (кровь, лимфоидная ткань и др.) и микрофлоры кишечника. При обычном питании у здорового человека кал содержит 75-80% воды и 20-25% плотного (сухого) остатка. У здорового человека состав каловых масс зависит от режима питания и состава пищи (табл. 14).

При обычном пищевом рационе состав и характер кала определяется состоянием пищеварительной системы: механическое измельчение пищевых продуктов в ротовой полости, секреторная функция пищеварительных желез, выраженность ферментативного расщепления, степень всасывания продуктов гидролиза, перистальтика кишечника, кишечная микрофлора.

Таблица 14
Физико-химические свойства и микроскопическая характеристика кала у здоровых лиц

Показатель	Дети		Взрослые
	Грудное вскармливание	Искусственное вскармливание	
Физические и химические свойства			
Количество	70-90 г/сут, 15-20 г разовая порция		100-200 г
Консистенция (форма)	Клейкая, вязкая	Замазкообразная	Плотная, оформленная
Цвет	Золотисто-желтый, желтый или желто-зеленый	Желто-коричневый	Коричневый
Запах	Слегка кислый	Гнилостный	Каловый, нерезкий
Реакция	Кислая	Кислая	Нейтральная
Билирубин*	Присутствует	Присутствует	Отсутствует
Стеркобилин*	Присутствует	Присутствует	Присутствует
Растворимый белок	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует
pH	4,8-5,8	6,8-7,5	6,0-8,0
Микроскопическая характеристика			
Мышечные волокна	Небольшое количество или отсутствует		
Нейтральный жир	Капли	Немного	Отсутствует
Жирные кислоты	Кристаллы в небольшом количестве		Отсутствуют
Мыла	В небольшом количестве		В небольшом количестве
Слизь	В небольшом количестве		Отсутствует
Лейкоциты	Единичные	Единичные	Отсутствуют

*У новорожденных и детей грудного возраста с калом выделяется неизменный билирубин, в связи с чем испражнения имеют характерный зеленоватый цвет. Реакция на билирубин остается положительной до 5-месячного возраста, затем параллельно с билирубином начинает определяться стеркобилин

Клинический анализ кала

При исследовании **физических свойств** оценивают количество, консистенцию, форму, цвет и запах каловых масс, исследуют макроскопически видимые примеси.

Количество выделяемого за сутки кала зависит от состава и количества принятой накануне пищи, может колебаться в значительных пределах.

При обычном рационе суточное количество кала составляет 120-200 г. Количество кала сокращается при преобладании в рационе животных белков и увеличивается при растительной диете. Увеличение суточного количества кала (полифекация) возникает при нарушениях функционального состояния желудочно-кишечного тракта: нарушении всасывания, желчеотделения

(ахилия), поражении поджелудочной железы, при энтеритах. Уменьшение суточного количества кала развивается при хронических запорах.

Консистенция и форма зависят от процентного содержания воды. В норме кал оформленный, имеет колбасовидную форму, содержит 75-80% воды. При увеличении процентного содержания воды вследствие усиления перистальтики кишечника (недостаточное всасывание воды), обильном выделении стенкой кишечника воспалительного эксудата и слизи кал становится неоформленным, кашицеобразным или жидким. При постоянных запорах вследствие избыточного всасывания воды кал становится плотным и может иметь вид небольших шариков – «овечий кал». При стенозе или спастическом сужении нижнего отдела сигмовидной или прямой кишки могут наблюдаться особые формы кала: «лентовидная форма», «форма карандаша».

Цвет кала у здорового человека обусловлен наличием стеркобилина и мезобилифуцина, которые образуются из билирубина желчи под влиянием кишечной микрофлоры и придают ему различные оттенки коричневого цвета (табл. 15).

Таблица 15

Цвет кала при различных физиологических и патологических состояниях

Цвет	Вероятные причины
Темно-коричневый	Нормальный кал при смешанной диете
Черно-коричневый	Мясная диета
Светло-коричневый	Растительная диета
Коричнево-красный	Кровотечение в нижних отделах пищеварительного тракта, прием пургена, какао
Черный	Кровотечение в верхних отделах пищеварительного тракта, прием висмута
Зеленовато-черный	Прием препаратов железа
Зеленый	Присутствие билирубина и биливердина, усиленная перистальтика, овощная диета
Зеленовато-желтый	Углеводное брожение
Золотисто-желтый	Присутствие неизмененного билирубина (у грудных детей)
Оранжево-светло-желтый	Молочная диета
Белый или серовато-белый (ахолический кал)	Прекращение поступления желчи в кишечник

Запах в норме неприятный, но не резкий и обусловлен преимущественно скатолом, индолом и в меньшей степени – фенолом, орто- и паракрезолами. Эти органические соединения ароматического ряда образуются при распаде белков. Запах усиливается при преобладании в рационе продуктов, богатых белками, при поносах, при гнилостной диспепсии. Запах ослабевает при преимущественно растительной и молочной диете, при запорах, при голодании. При бродильной диспепсии кал приобретает кислый запах. В анализе запах кала указывают в том случае, если он резко отличается от обычного.

Макроскопически видимые примеси в кале могут быть представлены непереваженными остатками пищи, слизью, кровью, гноем, конкрементами, паразитами. В норме непереваженные остатки пищи в кале макроско-

пически не обнаруживаются. Выраженная недостаточность желудочного и панкреатического переваривания сопровождается выделением комков непереваренной пищи – лиенторея. Слизь в избыточном количестве обнаруживается макроскопически в виде тяжей, хлопьев, плотных образований и указывает на воспаление слизистой оболочки кишечника. Конкременты каловых масс по происхождению могут быть желчными, панкреатическими или кишечными (копролиты).

Желчные камни бывают холестериновыми, известковыми, билирубиновыми, смешанными. Обнаруживаются, как правило, после приступа печеночной колики.

Панкреатические камни состоят из карбоната или фосфата извести, имеют малую величину и неровную поверхность.

Копролиты – образования темно-коричневого цвета, состоят из органического ядра и наслоившихся минеральных солей (фосфаты), непереваренных остатков пищи, труднорастворимых лекарств и т.п.

Паразиты могут быть обнаружены невооруженным глазом в виде целых особей (аскариды, власоглав, острицы), а также их фрагментов: сколексы и членики (свиной и бычий цепни, широкий лентец).

Копрограмма

Копрограмма позволяет оценить функциональную деятельность желудка, кишечника, печени и поджелудочной железы, выявить наличие воспалительных процессов и дисбактериоза. Этот анализ дает возможность изучить эффективность пищеварительных процессов организма, оценить скорость прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту.

Химический анализ кала в рамках копрограммы включает определение содержания крови, билирубина, стеркобилина, реакции рН.

Реакция рН кала преимущественно зависит от жизнедеятельности микрофлоры кишечника. При преобладании белковой пищи и активации бактерий, расщепляющих белок, образуется много аммиака, придающего калу щелочную реакцию. При углеводной диете и активации бродильной микрофлоры усиливается образование CO_2 и органических кислот, дающих кислую реакцию.

Наличие крови в кале свидетельствует о патологических процессах в желудочно-кишечном тракте, сопровождающихся изъязвлением слизистой или распадом опухоли. Ранее широко распространенные химические методы определения гемоглобина в кале – тесты на скрытую кровь (гваяковая проба, бензидиновая проба) – обладали низкой специфичностью, что часто приводило к ложноположительным результатам. Согласно приказу Минздрава РФ от 26.10.2017 № 869н, исследование кала на скрытую кровь должно быть проведено иммунохимическим методом. В лабораторной диагностике иммунохимический анализ кала на скрытую кровь имеет

место как в количественном формате, так и в качественном, последний преимущественно в виде экспресс-исследования.

Стеркобилин – основной пигмент кала, который придает ему определенную окраску. Отсутствие или резкое уменьшение количества стеркобилина в кале (ахоличный кал) чаще всего свидетельствует об obturации общего желчного протока камнем, сдавлении его опухолью или резком снижении функции печени (например, при остром вирусном гепатите). Увеличение количества стеркобилина в кале возникает при массивном гемолизе эритроцитов (гемолитическая желтуха) или усиленном желчеотделении. Выявление в кале взрослого человека неизмененного билирубина указывает на нарушение процесса восстановления билирубина в кишечнике под действием микробной флоры. Наиболее частыми причинами этого нарушения являются: подавление жизнедеятельности бактерий кишечника под влиянием больших доз антибиотиков (дисбактериоз кишечника), резкое усиление перистальтики кишечника.

При микроскопическом исследовании в кале можно выявить детрит, остатки пищевых веществ, элементы слизистой оболочки кишок, клеточные элементы: лейкоциты, эритроциты, макрофаги, опухолевые клетки, кристаллы, яйца гельминтов, паразитирующие в кишечнике простейшие, микроорганизмы. Данные микроскопического исследования могут дать представление о состоянии переваривающей способности кишечника, о состоянии слизистой оболочки (главным образом, толстого кишечника).

Детрит составляет основной фон при микроскопии нормального кала, представляет собой остатки пищевых веществ, микроорганизмов, распавшихся клеточных элементов. Он имеет вид аморфных образований мелких размеров, преимущественно зернистой формы.

Слизь в нормальном кале может быть в виде тонкого, малозаметного блестящего налета. При воспалительных процессах обнаруживается в виде тяжей, клочков и плотных, лентовидной формы, образований.

Мышечные волокна (остатки белковой пищи) – различают неизмененные и измененные (непереваренные, слабонерваренные, переваренные). Неизмененные (или непереваренные) волокна желтого цвета, цилиндрической формы с обрезанными концами, имеют поперечную, реже продольную исчерченность. По мере переваривания мышечные волокна теряют исчерченность, поверхность становится гладкой, форма округляется.

В нормальном кале немного непереваренных мышечных волокон. Большое количество (креаторея) мышечных волокон, особенно непереваренных и слабонерваренных, находят при недостаточности поджелудочной железы, пониженной секреторной функции желудка, ускоренной перистальтике.

Соединительнотканые волокна имеют вид сероватых, преломляющих свет волокон, иногда похожих на тяжи слизи. В нормальном кале не обнаруживаются. Появление их указывает на недостаточность протеолитических ферментов желудка.

Растительная клетчатка и крахмал являются остатками углеводного компонента пищи. Различают два вида клетчатки: перевариваемую и неперевариваемую.

Неперевариваемая клетчатка является опорной клетчаткой (кожица овощей, фруктов, сосуды и волоски растений и т. п.), в кишечнике не расщепляется и полностью выделяется с калом. При микроскопии нативных неокрашенных препаратов она имеет разнообразные резкие очертания, правильный рисунок в виде толстых двухконтурных целлюлозных оболочек коричневой, желтой и серой окраски.

Перевариваемая клетчатка состоит из округлых больших клеток, имеющих тонкую оболочку и ячеистое строение. При микроскопии перевариваемая клетчатка отличается от неперевариваемой нежными контурами, наличием зерен крахмала или красящих пигментов. В нормальном кале не обнаруживается. Обнаруживается в кале при ускоренной эвакуации.

Крахмал при нормальном пищеварении отсутствует, так как амилолитические ферменты пищеварительного тракта и ферменты бактерий слепой кишки расщепляют крахмал полностью. Присутствие крахмала всегда указывает на недостаточность пищеварения, что бывает при заболеваниях тонкого кишечника и связанной с ними ускоренной эвакуации при недостаточности поджелудочной железы.

Жир и продукты его расщепления, поступившие с пищей в умеренном количестве, в норме усваиваются почти полностью. Обнаружение значительного количества нейтрального жира и продуктов его расщепления свидетельствует о нарушении переваривания и всасывания жира. Нейтральный жир в нативных препаратах кала имеет вид бесцветных капель.

Жирные кислоты и мыла встречаются в виде глыбок, капель и кристаллов. Кристаллы имеют форму тонких игл, заостренных с двух концов. Часто складываются в небольшие пучки, иногда расположены радиально, окружая венчиком глыбки жирных кислот. Обнаружение в нативном препарате бесцветных капель, глыбок и игольчатых кристаллов позволяет предположить стеаторею.

Клеточные элементы (кишечный эпителий, клетки крови, макрофаги, клетки опухолей) обнаруживаются в кале, содержащем слизь.

Единичные клетки кишечного эпителия можно встретить и в нормальном кале как следствие физиологического слущивания. Появление этих клеток большими группами, пластами отражает наличие воспаления слизистой оболочки толстого кишечника.

Лейкоциты, располагающиеся в слизи в значительном количестве (скопление), свидетельствуют о воспалительном процессе в толстом кишечнике. Лейкоциты в слизи, идущей из тонкого кишечника, успевают разрушиться.

Эритроциты неизменные встречаются в кале при кровотечениях из толстого кишечника и прямой кишки. При кровотечении из более высоко лежащих отделов кишечника эритроциты либо совсем разрушаются, либо

приобретают характер теней, и распознать их очень трудно.

Макрофаги встречаются при некоторых воспалительных процессах, особенно при бактериальной дизентерии.

Клетки злокачественных опухолей могут попасть в кал при расположении опухоли в прямой кишке. Диагностическое значение имеет нахождение не одиночных клеток, а обрывков ткани, групп клеток, отличающихся характерной атипией.

Кристаллические образования. Кристаллы трипельфосфатов встречаются в резко щелочном кале при усилении гнилостных процессов. Оксалаты кальция обнаруживаются при употреблении в пищу большого количества овощей или при снижении кислотности желудочного сока. Кристаллы Шарко-Лейдена в виде вытянутого ромба часто обнаруживаются в слизи в сочетании с эозинофилами, указывают на аллергическое воспаление кишечника, амебиаз, балантидиаз, глистную инвазию. Кристаллы гематоидина выявляются после кишечного кровотечения при язвенных колитах.

■ Гематологические исследования

Кровь – одна из соединительных тканей организма. Кровь представлена жидкой плазмой и взвешенными в ней клетками (форменными элементами). Форменные элементы крови: эритроциты (красные кровяные тельца), лейкоциты (белые кровяные тельца) и тромбоциты (красные пластинки).

Плазма в норме светло-желтая, прозрачная жидкость, с относительно щелочным рН – 7,4, на 90% состоит из воды, 10% составляют растворенные белки, биологически активные вещества, факторы свертывания, минеральные вещества, метаболиты.

Из многочисленных функций крови необходимо отметить: транспорт питательных веществ, кислорода, продуктов метаболизма, а также обеспечение гемостаза, кровенаполнение органов.

Исследование химического состава жидкой части крови выполняется с целью выявления возможной патологии органов и тканей (биохимический анализ крови), оценки полноценности свертывающей системы организма (исследование гемостаза).

Исследование клеточного состава крови – клинический анализ крови, гемограмма, общий анализ крови, – обеспечивает врача-специалиста информацией о характере/интенсивности образования клеток крови в костном мозге, реакции организма на внешние воздействия, проявляющиеся соотношением компонентов клеточного состава крови. Индивидуальность каждого вида клеток характеризуется внеклеточными поверхностными рецепторами CD-маркерами (антигенами). Важное значение для

клинической практики имеет определение антигенов эритроцитов – идентификация группы крови и резус-фактора.

Клинический анализ крови

Клинический анализ крови означает подсчет количества клеток в образце венозной крови. Капиллярная кровь не является рекомендуемой средой исследования для подсчета клеток, однако исследование гемограммы часто выполняют из образца капиллярной крови в отделениях интенсивной терапии.

Клинический анализ крови необходим при любом амбулаторном обращении пациента и является важным лабораторным показателем эффективности терапии. Именно по клиническому анализу крови гематолог делает заключение о полученной ремиссии в условиях сложной полихимиотерапии, после трансплантации костного мозга. Простой и развернутый клинический анализ крови является скрининговым лабораторным исследованием, дающим представление о возможных участках патологических изменений организма и последующем необходимом обследовании.

Определение лейкоцитарной формулы, исследование среднего размера эритроцитов, тромбоцитов, определение количества предшественников эритроцитов (ретикулоцитов) и степени их зрелости, оценка скорости оседания эритроцитов и т.д., все это входит в понятие «клинический анализ крови». Стоит отметить, что исследование скорости оседания эритроцитов (СОЭ) выполняется в составе клинического анализа крови, зачастую «по умолчанию», тогда как для исследования СОЭ требуется дополнительная порция крови пациента.

Клинический анализ крови выполняется как первое скрининговое исследование при обращении и жалобах пациента на недомогание. Может быть выполнен сокращенный клинический анализ крови, так называемая «тройка» – подсчет количества эритроцитов, лейкоцитов и определение СОЭ. Сокращенный клинический анализ крови малоинформативен, т.к. может охарактеризовать только выраженные патологические процессы.

Более целесообразно из того же объема образца крови выполнить развернутую гемограмму: подсчет количества эритроцитов с оценкой их среднего размера (MCV), подсчет общего количества лейкоцитов и оценку лейкоцитарной формулы (подсчет нейтрофилов, базофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов), подсчет количества тромбоцитов и оценку среднего размера тромбоцита (MPV), ретикулоцитов и их среднего размера (MRV), степени зрелости ретикулоцитов (IRF).

Многочисленные характеристики клеток в настоящее время могут быть получены в автоматическом режиме в течение 3-5 минут после взятия крови. На основании развернутого исследования гемограммы может быть сделано не только заключение о наличии воспалительной реакции, анемии, но и характере других патологических процессов, возможной пе-

ренесенной или продолжающейся кровопотере, дефиците не только железа, но и витамина В₁₂, фолиевой кислоты. Референсные интервалы показателей клинического анализа крови зависят от обследуемой популяции и метода, используемого для исследования.

Показания к исследованию

- Скрининговое обследование при профилактическом осмотре, диспансеризации;
- первичное обследование при госпитализации;
- диагностика анемий;
- диагностика болезней системы кроветворения;
- инфекционные заболевания;
- воспалительные процессы;
- онкогематологические заболевания;
- контроль эффективности терапии.

Метод исследования

Метод исследования зависит от требуемых параметров гемограммы.

В ручном режиме из образца крови (3-5 мл) часть отбирается в капилляр для определения СОЭ, часть образца крови используется для определения гемоглобина, капля крови – для приготовления мазка и дальнейшего подсчета лейкоцитарной формулы. Отдельное количество крови требуется для приготовления мазка и подсчета тромбоцитов, а также часть образца крови необходима для исследования количества эритроцитов и отдельно – ретикулоцитов. В ручном режиме, при необходимости окраски и визуальной оценки мазка, результат развернутой гемограммы пациента в многокочном стационаре может быть получен в конце рабочего дня или позднее.

В условиях автоматизированного подсчета клеток и оценки различных популяций требуется от 150 до 300 мкл крови и 100 мкл для определения СОЭ. Простейшее первое исследование (подсчет количества) в автоматическом режиме основано на импедансном методе Культера, в основе которого лежит принцип замыкания электрической цепи каждой клеткой, последовательно проходящей через апертуру пробоотборника. В последующем метод автоматизированного подсчета получил ряд усовершенствований, в современных анализаторах каждая клетка оценивается по нескольким параметрам: проводимости, светорассеиванию, размеру, наличию на поверхности CD-маркеров, соответственно, принадлежности к различным популяциям. Количество параметров определяется моделью прибора.

Исследование в автоматическом режиме позволяет выявить патологические образцы, которые должны быть пересмотрены визуальным специалистом клинической лабораторной диагностики. Визуальный контроль гемограммы предполагает приготовления мазка крови, слайда, что может быть выполнено из капли крови уже взятого образца как в ручном, так и автоматическом режиме. Автоматизированное приготовление мазка кро-

ви предпочтительно, т.к. происходит равномерное распределение капли крови и стандартизированное окрашивание. Визуальная микроскопия мазка проводится в пяти полях зрения.

Исследование крови в автоматическом режиме занимает 3-5 минут, если не требуется приготовления дополнительного мазка и исследование СОЭ.

Условия взятия и хранения образца

Клинический анализ крови выполняется из венозной крови, стабилизированной калиевой солью ЭДТА, если не указано иначе в инструкции к анализатору. Взятие крови выполняется натощак. Образец крови должен быть немедленно после взятия перемешан 9 раз осторожным переворачиванием, следует избегать образования пены и резкого встряхивания. До исследования образец крови может храниться при комнатной температуре (23-24 °С) в течение 24 часов в штативе, в вертикальном положении, в удаленном от света месте.

При использовании образца капиллярной крови для клинического анализа необходимо получить свободнотекущие капли капиллярной крови из предварительно прогретой области прокола. Сбор капиллярной крови без сдавливания пальца обеспечивает сохранность клеток. Надавливание области прокола и сбор образца из охлажденной конечности приведут к искажению результатов гемограммы. Образцы капиллярной крови также могут храниться при комнатной температуре (23-24 °С) в течение 6 ч в штативе, в вертикальном положении, в удаленном от света месте.

Гемоглобин

Гемоглобин – металлопротеин, белок, содержащий гем. Гемоглобин составляет около 98% белков, содержащихся в цитоплазме эритроцита. Основная функция гемоглобина – перенос кислорода.

Структура гемоглобина определяет способность переноса кислорода эритроцитами. К 4-6 месяцам жизни ребенка происходит замена фетального гемоглобина на взрослую форму. В норме в крови взрослого человека фетальный гемоглобин составляет не более 1%. Фетальный гемоглобин обладает повышенным сродством к кислороду и сниженным ответом на регулятор передачи кислорода к тканям. Поэтому увеличенное содержание фетального гемоглобина у взрослого человека приводит к недостаточному поступлению кислорода к тканям, т. е. гипоксии.

Изменение структуры гемоглобина (гемоглобинопатии) приводит к нарушению связывания кислорода, необратимому связыванию гемоглобина с углекислым газом и, последовательно, изменению формы эритроцитов от двояковогнутого эластичного диска до искаженных жестких структур.

Кроме оценки форм и концентрации гемоглобина, представляет интерес определение фракций гемоглобина, связанного не только с кислородом, но и другими газами.

Способность крови (эритроцитов) транспортировать кислород к тканям за счет формирования оксигемоглобина может существенно снижаться при вдыхании продуктов горения углерода, серы, ингаляцией оксидом азота, которые вступают в необратимое соединение с гемоглобином, образуя дисгемоглобины и препятствуя формированию оксигемоглобина. В нормальных условиях кислородпереносящая фракция гемоглобина, O_2 -Hb составляет 95-99%. В этой фракции гемоглобин находится в обратимой связи с кислородом, в окисленном состоянии Fe^{2+} . Небольшой процент (до 1-2%) восстановленного гемоглобина $+H^+Hb$ всегда присутствует в крови. Его количество резко возрастает при гемолизе эритроцитов.

В патологических фракциях дисгемоглобинов (метгемоглобин, сульфгемоглобин, карбоксигемоглобин) железо гемоглобина переходит в более окисленную форму (Fe^{3+}), не способную связывать и переносить кислород. В нормальных условиях фракция дисгемоглобинов составляет не более 1,5% общего гемоглобина. Причиной значительного повышения фракции карбоксигемоглобина (до 10%) является курение.

В развернутом клиническом анализе крови может встречаться показатель среднего содержания гемоглобина в эритроците (МСН и МСНС).

Метод исследования

Определение форм гемоглобина и выявление гемоглобинопатий возможно с помощью электрофореза.

Определение концентрации гемоглобина (общий гемоглобин, tHb) выполняется различными методами. Принцип определения гемоглобина заключается в лизисе эритроцитов пробы и последующей обработке реактивом, дающим окраску в комплексе с гемоглобином. Референсным методом определения гемоглобина является гемоглобинцианидный.

Референсный интервал, г/л

Мужчины 132-173.

Женщины 117-155.

Интерпретация результатов исследования

При оценке уровня гемоглобина следует помнить:

- суточные колебания концентрации гемоглобина в периферической крови достигают 15% с максимальными значениями в утренние часы;
- длительное наложение жгута при взятии крови и плохо перемешанная проба крови приводят к получению неверных результатов.

Повышенные значения

- Стужение крови, вызванное дегидратацией (неукротимая рвота, полиурия, диарея, малое потребление жидкости в жаркое время);
- эритремия (полицитемия), симптоматические реактивные эритроцитозы;
- длительное пребывание на больших высотах;
- курение;
- гипертриглицеридемия, лейкоцитоз (выше $25,0 \times 10^9/л$), наличие в крови

парапротеинов.

Пониженные значения

- Анемии различной этиологии;
- анемия хронических заболеваний;
- перенесенные кровопотери;
- злокачественные новообразования;
- нарушение синтетической функции печени.

Количество эритроцитов (RBC)

Порция крови, предназначенная для анализа **RBC**, содержит весь клеточный состав: эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Для отделения популяции тромбоцитов, размер которых существенно меньше, чем эритроцитов и лейкоцитов, использовано пороговое значение размера клетки – 36 фл. Клетки большего размера подсчитываются как эритроциты. Примесь лейкоцитов к эритроцитам мала (разница концентраций – три порядка) и не влияет на результат.

Референсный интервал, $10^{12}/л$

Мужчины 4,3–5,7.

Женщины 3,8–5,1.

Средний объем эритроцитов (MCV)

MCV вычисляется на основании гистограммы распределения по размеру красных клеток крови. В соответствии с **MCV** выделяют микроцитарные, нормоцитарные и макроцитарные анемии. Такое разделение – первый этап дифференциальной диагностики, а в последующем – один из компонентов контроля адекватности лечения основных анемий.

Референсный интервал

80-100 fL.

Повышенные значения MCV – наличие в крови пациента крупных эритроцитов.

Пониженные значения MCV – наличие в крови мелких эритроцитов.

Ширина распределения эритроцитов по объему (RDW)

RDW – показатель гетерогенности размера эритроцитов. Данный параметр вычисляется на основании гистограммы распределения **RBC** по объему. **RDW** служит коэффициентом вариабельности размеров эритроцитов, вычисляемым по формуле, исходя из среднего размера эритроцита, исследованного в автоматическом режиме, и стандартного отклонения от среднего.

Эта характеристика эритроцитов позволяет различить гипохромные ане-

мии: RDW резко возрастает (обычно более 20%) при железодефицитной анемии, особенно с длительным анамнезом, тогда как гипохромная анемия с нормальным или незначительно повышенным значением RDW – типичный феномен для β -талассемии. В этих случаях полученный практический навык «никогда не оставлять RDW без внимания» позволит уже в первые минуты диагностики выбрать верное направление дальнейшего обследования больного.

Референсный интервал

11-14%.

Повышенные значения RDW характеризуют образцы крови с эритроцитами, сильно отличающимися по размеру, от мелких до крупных.

Пониженные значения RDW отражают однородность эритроцитов по размеру.

Среднее содержание гемоглобина в эритроците (МСН)

МСН характеризует среднюю массу гемоглобина в эритроците в пикограммах. Данный показатель пришел на смену цветовому показателю и вычисляется по формуле, включающей соотношение гемоглобина к количеству эритроцитов.

Референсный интервал

27–32 пкг.

Повышенные значения МСН характеризуют перенасыщенность эритроцитов гемоглобином.

Пониженные значения МСН отражают дефицит гемоглобина в эритроцитах.

Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС)

МСНС отражает среднюю массу гемоглобина в единице объема эритроцита, отношение среднего содержания гемоглобина в эритроците к среднему объему эритроцита, выражается в г/дл. Вычисляется по формуле, включающей соотношение гемоглобина к гематокриту.

Поскольку МСНС – производное не только прямого, но и расчетного показателя, требуется осторожность при интерпретации в совокупности с другими параметрами гемограммы. При гиперагрегации эритроцитов, особенно в случае холодовой аутоиммунной гемолитической анемии, значение МСНС может значительно превышать верхнюю границу (склеенные эритроциты воспринимаются аппаратом как одна, но очень крупная клетка с повышенным содержанием гемоглобина).

В клинической практике MCV, МСН и МСНС – важнейшие показатели дифференциальной диагностики наиболее распространенных форм

анемий. При железодефицитных и других гипохромных анемиях (анемии хронических заболеваний, талассемии, сидеробластные анемии) все три показателя снижены, тогда как при мегалобластных анемиях, наоборот, повышены. Это правило может иметь исключения при сочетании нескольких причин возникновения анемии.

Гематокрит (Hct)

Гематокрит обозначает относительную долю клеток (в большей степени эритроцитов) в пробе цельной крови.

Референсный интервал, %

Мужчины 39,0-49,0.

Женщины 35,0-45,0.

Повышенные значения

- Дегидратация (неукротимая рвота, диарея, чрезмерное потоотделение);
- патологические состояния, сопровождаемые уменьшением объема циркулирующей плазмы (массивные ожоги, шок, перитонит и др.);
- первичные и вторичные эритроцитозы (эритремия, хронические заболевания легких с дыхательной недостаточностью, пребывание на больших высотах, новообразования почек с усиленным образованием эритропоэтинов, поликистоз почек и др.).

Пониженные значения

- Гипергидратация организма (введение в сосудистое русло больших количеств жидкости, перед схождением отеков и т. п.);
- состояния, сопровождаемые увеличением объема циркулирующей плазмы (вторая половина беременности, гиперпротеинемия и др.);
- анемии различной этиологии.

Количество тромбоцитов (Plt)

Тромбоциты – мелкие клетки-пластинки, быстро реагирующие на воспалительный процесс, активацию свертывания или возникающее кровотечение. Тромбоциты формируют первичный тромб в области повреждения сосуда.

В автоматическом режиме при анализе в «RBC-кювете» частицы размером 2-20 фл относятся к тромбоцитам. Полученные необработанные данные проверяются с помощью математических критериев и экстраполируются в виде логарифмически нормального распределения от 0 до 70 фл.

В некоторых анализаторах для более точного подсчета тромбоцитов выполняется обработка пробы специальными антителами, активными в отношении поверхностных рецепторов тромбоцитов. Дополнительной возможностью точного подсчета является автоматизированный подсчет с привлечением трех методов: импедансного, оптического и флуоресцентного.

Референсный интервал

150-400×10⁹/л.

Пониженные значения – тромбоцитопения – состояние, при котором число тромбоцитов не превышает 150×10⁹/л (150 тыс./мкл). Клинические признаки кровоточивости развиваются при снижении количества тромбоцитов до 50×10⁹/л (50 тыс./мкл). Уменьшение числа тромбоцитов может быть обусловлено:

- повышением разрушения тромбоцитов;
- повышением потребления тромбоцитов;
- недостаточным образованием кровяных пластинок.

Повышенные значения – тромбоцитоз – увеличение количества тромбоцитов в периферической крови более 400×10⁹/л (400 тыс./мкл), могут быть первичными и вторичными.

Первичные тромбоцитозы характерны для всех хронических миелопролиферативных заболеваний (хронический миелолейкоз, идиопатический миелофиброз, эссенциальная тромбоцитемия, эритремия).

Вторичные тромбоцитозы встречаются при:

- острых и хронических воспалительных процессах (ревматоидный артрит, узелковый периартериит, неспецифический язвенный колит, остеомиелит и др.), а также при сепсисе;
- амилоидозе;
- железодефицитных состояниях на фоне хронической кровопотери;
- злокачественных новообразованиях как проявление паранеопластической реакции;
- гемолитической анемии;
- наличии острой кровопотери, спленэктомии;
- лечении некоторыми препаратами (витамин В₁₂, андрогены, адреналин, эритропоэтин и др.).

Средний объем тромбоцита (MPV)

MPV определяют на основании гистограммы распределения тромбоцитов. К сожалению, MPV мало учитывается во врачебной практике и, тем более, при диагностике анемии. Однако как и предыдущий показатель, он может повлиять на клиническую интерпретацию выявленной патологии и помочь в обнаружении тромбоцитопатии (микро- или макротромбоцитоз) при наследственных анемиях или других заболеваниях.

Оценивая MPV, можно выявить:

- повышенную агрегацию тромбоцитов и даже тромбозы;
- активную кровопотерю при детекции крупных тромбоцитов у пациентов с железодефицитной анемией;
- MPV может быть использован как дополнительный маркер хронического миелопролиферативного заболевания (крупные формы тромбоцитов).

Референсный интервал

7,6-0,8 fL.

Повышенные значения MPV свидетельствуют о наличии крупных тромбоцитов, в том числе молодых.

Пониженные значения MPV отражают наличие в крови мелких тромбоцитов.

Ретикулоциты

Ретикулоциты являются предшественниками эритроцитов. В процессе созревания клеток красной крови происходит постепенная потеря ядра и других клеточных структур и уменьшение размеров клетки. Степень зрелости ретикулоцитов может быть оценена с помощью гематологического анализатора. В ручном режиме выполняется окрашивание отдельной порции крови пациента и последующий подсчет.

Показания для выполнения подсчета ретикулоцитов – это не только дифференциальная диагностика анемий, но и наблюдение за ходом лечения. Традиционный метод подсчета ретикулоцитов вручную ограничивает достоверность результатов. Использование методов проточной цитометрии для анализа ретикулоцитов позволяет увеличить надежность и точность измерений, использовать новые параметры, отражающие созревание клеток.

Принцип автоматизированного выявления ретикулоцитов основывается на использовании нового, не флуорохромного красителя метиленового голубого, преципитирующего в них РНК, отсутствующие в эритроцитах. Идентификация количества и цитологических особенностей ретикулоцитов является важной характеристикой анемии, а также мониторинга ответа на лечение. Это новое информативное звено автоматизированной гемограммы, в отличие от предыдущих параметров, непривычно и мало востребовано врачами.

Референсный интервал

0,2-1%.

Повышенные значения характеризуют ретикулоцитоз, активацию гемопоза.

Пониженные значения, точнее, отсутствие повышенных значений, подтверждают отсутствие кровопотери у пациента.

Средний объем ретикулоцита (MRV)

MRV – параметр аналогичен MCV (средний размер эритроцита), и их сравнение между собой представляет диагностический интерес. В норме значение MRV превышает MCV, поскольку по мере созревания красные клетки, потеряв ядро, постепенно уменьшаются в размере.

Референсный интервал

100-125 fL.

Повышенные значения MRV – наличие крупных ретикулоцитов.

Пониженные значения MRV – наличие мелких ретикулоцитов.

Приложение к характеристике размера ретикулоцита показателя зрелости ретикулоцитов, позволяет более полно оценить причину ретикулоцитоза или ретикулопении.

Средний объем сферической клетки (MSCV)

MSCV оценивается в некоторых моделях анализаторов после специального окрашивания и обработки пробы гипоосмотическим раствором. MSCV рассчитывается для всех красных клеток вместе с ретикулоцитами, поэтому величина этого показателя находится между MCV и MRV ($MCV < MSCV < MRV$).

В условиях обработки пробы крови гипоосмолярным раствором разрушаются красные клетки, в т. ч. ретикулоциты и молодые эритроциты с нестабильной структурой мембраны. Закономерное снижение показателя MRV и MSCV характеризует наличие в исследуемой пробе хрупких ретикулоцитов и эритроцитов с нестабильной мембраной. Результат простого сравнения $MSCV < MCV$ позволяет диагностировать наследственный сфероцитоз с чувствительностью 100% и со специфичностью 93,3%. Сравнение MCV и MSCV является более надежной альтернативой прежнему дифференциально-диагностическому методу определения осмотической резистентности эритроцитов, выполняемому вручную. Следует заметить, что похожий феномен «стирания различий» между MCV и MSCV может наблюдаться в некоторых случаях аутоиммунной, токсической гемолитической анемии, а также при микроцитарно-гипохромной анемии, обусловленной талассемией. Однако, экспрессия этих различий несравнимо менее выражена, чем при наследственном микросфероцитозе.

Референсный интервал

84-104 fL.

Пониженные значения в сопоставлении с MCV характеризуют наличие популяции клеток красного ряда с неустойчивой к осмотической нагрузке мембраной, возможно, генетическим дефектом синтеза мембраны.

Индекс зрелости ретикулоцитов (IRF)

IRF или фракция незрелых ретикулоцитов определяется как соотношение молодых или «незрелых» ретикулоцитов и общего количества ретикулоцитов. Незрелые или «стрессовые» ретикулоциты имеют большие размеры и высокое содержание РНК, благодаря чему обладают наибольшим светорассеянием. IRF – чувствительный маркер активации эритропоэза, независимо от вызвавшей его причины (кровопотеря, гемолитический криз, адекватная заместительная терапия при дефицитных формах

анемии, введение эритропоэтина, восстановление костного мозга после трансплантации или цитостатической терапии).

Клиническое применение IRF включает:

- мониторинг приживления стволовых клеток после трансплантации костного мозга;
- мониторинг регенерации костного мозга после интенсивной химиотерапии (оценка резерва кроветворения);
- диагностику скрытого кровотечения и мониторинг активности кровопотери;
- мониторинг активности гемолиза при аутоиммунных гемолитических анемиях;
- мониторинг терапии железом, витамином В₁₂ или фолиевой кислотой;
- мониторинг воздействия токсичных лекарств на костный мозг;
- мониторинг эритропоэза после трансплантации почки.

Лейкоциты

В клиническом анализе крови проводится как оценка общего количества лейкоцитов (белые клетки крови, WBC) для выявления и первичной оценки патологии, так и подсчет лейкоцитарной формулы для уточнения характера возникших нарушений. Измерение числа лейкоцитов в автоматическом режиме проводится после полного лизиса эритроцитов специальным реактивом, все частицы размером более 35 фл считаются как лейкоциты. Частицы сканируются по нескольким характеристикам: проводимости, рассеиванию проходящего света и отраженному свету. В некоторых анализаторах используются специфические для каждой популяции лейкоцитов антитела.

В ручном режиме выполняется мазок из капли венозной крови, окрашивание и визуальный подсчет с учетом различных морфологических характеристик, присущих различным клеткам при воздействии красителя.

Преимущества автоматического анализа не упраздняют необходимое микроскопическое морфологическое исследование мазка периферической крови и костного мозга. При выявлении атипичных клеточных популяций при автоматическом анализе гемограммы (бласты, варианты лимфоцитов) обязателен срочный морфологический анализ мазка крови.

Референсный интервал

4,5-11,0×10⁹/л.

Повышенные значения – лейкоцитоз

- Физиологический:
 - прием пищи;
 - физическая нагрузка;
 - беременность;
- патологический:

- инфекционные заболевания;
- воспалительные заболевания;
- инфаркт различных органов;
- ожоги;
- злокачественные заболевания.

Пониженные значения – лейкопения

- Заболевания костного мозга;
- лейкозы;
- сепсис;
- тиф и паратиф;
- ятрогенные влияния.

Агранулоцитоз характеризуется выраженным уменьшением или исчезновением из периферической крови гранулоцитов (нейтрофилов).

Лейкоцитарная формула

Лейкоцитарная формула – процентное соотношение различных видов лейкоцитов в периферической крови. В периферической крови встречаются пять популяций лейкоцитов. Нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, относящиеся к гранулоцитарному ряду (их цитоплазма зерниста, содержит большое количество гранул, включающих, например, миелопероксидазу, эластазу, лизоцим); моноциты и лимфоциты (В-клетки, Т-клетки). При исследовании крови на гематологических анализаторах производится автоматический подсчет лейкоцитарной формулы с определением пяти основных популяций лейкоцитов. Технологии подсчета лейкоцитарной формулы различаются у разных производителей.

Референсный интервал, %

Нейтрофилы п/я	Нейтрофилы с/я	Эозинофилы	Базофилы	Лимфоциты	Моноциты
1–5	47–72	1–5	0–1	19–37	3–11

п/я – палочкоядерные; с/я – сегментоядерные.

НЕЙТРОФИЛЫ составляют основную массу всех лейкоцитов (до 95%). Основная функция нейтрофилов – фагоцитоз. Время жизни нейтрофилов невелико – 2-3 сут. Из кровяного русла нейтрофилы активно движутся к участкам воспаления и тканевого распада, к очагам бактериальных и вирусных инфекции, где они выполняют свою главную функцию – фагоцитируют микробы и продукты распада тканей, а затем разрушают их своими гранулярными включениями, например, лизосомными ферментами.

Повышенные значения – воспаление;

Пониженные значения – сниженный иммунный статус.

МОНОЦИТЫ являются предшественниками макрофагов. Составляют 4-8% от всех лейкоцитов. Циркулируя в крови до 20 ч, моноциты мигрируют в ткани, где дифференцируются в макрофаги. Основная их функция –

фагоцитоз. Быстро накапливаясь в очаге воспаления и деструкции тканей, они устраняют микроорганизмы, безжизненные клетки и клеточные фрагменты. Макрофаги, в отличие от нейтрофилов, активно функционируют в кислой среде и имеют более продолжительное время жизни.

Повышенные значения сопряжены с наличием инфекционного процесса.

Пониженные значения, нейтропения – лекарственная, аутоиммунная, лимфогранулоцитарный лейкоз, генетически детерминированный синдром и др.

ЭОЗИНОФИЛЫ – клетки, фагоцитирующие комплексы антиген-антигено, включающие главным образом IgE. После созревания в костном мозге эозинофилы около 3-4 ч находятся в циркулирующей крови, а затем мигрируют в ткани, где продолжительность их жизни составляет 8-12 дней. У здорового человека на долю эозинофилов приходится 2-5% от всех лейкоцитов. Для эозинофилов характерен суточный ритм колебания в крови, самые высокие показатели отмечаются ночью, самые низкие – днем. Действие эозинофилов проявляется в сенсibilизированных тканях. Они вовлекаются в реакции гиперчувствительности немедленного и замедленного типа. Эозинофилы участвуют в реакциях организма на паразитарные (гельминтные и протозойные), аллергические, инфекционные и онкологические заболевания, при включении в патогенез заболевания аллергического компонента, который сопровождается гиперпродукцией IgE.

Повышенные значения, эозинофилия

- Аллергические заболевания;
- паразитарные инвазии;
- прием лекарственных препаратов (антибиотики, противомикробные средства, цитостатики, психотропные препараты и др.);
- эозинофильные пневмонии;
- наследственные заболевания.

Пониженные значения, эозинопения – длительная стероидная терапия.

БАЗОФИЛЫ – самые малочисленные представители лейкоцитов, составляющая менее 1% общего числа лейкоцитов. В крупных цитоплазматических гранулах базофилов содержатся сульфатированные или карбоксилированные кислые белки. Продолжительность жизни базофилов 8–12 сут, время циркуляции в периферической крови несколько часов. Главная функция базофилов – участие в реакциях гиперчувствительности немедленного типа. Они также участвуют в реакциях гиперчувствительности замедленного типа, в воспалительных и аллергических реакциях. Базофилы выделяют гепарин, гистамин, серотонин. Два последних вещества оказывают влияние на сосудистую проницаемость и тонус гладкой мускулатуры, определяя аллергическую реакцию по типу «крапивницы».

Повышенные значения, базофилия – редко встречается изолированно. Базофилия при хроническом гранулоцитарном лейкозе свидетельству-

ет о переходе процесса в злокачественную форму.

ЛИМФОЦИТЫ играют важную роль в процессах клеточного (Т-лимфоциты) и гуморального (В-лимфоциты) иммунитета. Лимфоциты активно участвуют в патогенезе иммунодефицитных состояний, инфекционных, аллергических, лимфопролиферативных, онкологических заболеваний, трансплантационных конфликтов, а также аутоиммунных процессов.

Повышенные значения, лимфоцитоз – при детских инфекциях, инфекционном мононуклеозе, цитомегаловирусной инфекции, вирусных гепатитах, туберкулезе, бруцеллезе, лимфопролиферативных заболеваниях.

Пониженные значения, лимфопения, менее 1000 клеток/мкл – выраженная недостаточность костного мозга, например, после облучения или иммуносупрессии.

Скорость оседания эритроцитов

Острый воспалительный ответ организма проявляется в накоплении в крови белков острой фазы, таких как СРБ, фибриноген, иммуноглобулины и др., что приводит к изменению вязкости крови и влияет на СОЭ (реакция оседания эритроцитов, РОЭ, Erythrocyt sedimentation rate, ESR) в вертикально стоящем капилляре. Так возник в 1921 г. лабораторный тест по методике Вестергрена, предложенный им для обследования больных туберкулезом легких. Впоследствии исследование СОЭ стало скрининговым лабораторным тестом для раннего выявления признаков воспалительного процесса.

Определение СОЭ информативно для выявления заболеваний, сопровождающихся накоплением белков острой фазы в крови. Тест неспецифичен для какого-то одного заболевания, однако прост в исполнении. При исследовании СОЭ стандартизированным методом необходимо соблюдать одноразовость использования специализированных пробирок. Недопустимо исследование образцов крови, взятых более 4-х часов назад, это приводит к занижению результатов СОЭ. Внутривенные трансфузии растворов меняют значение СОЭ, что необходимо учитывать при наблюдении в динамике.

При повторении исследования СОЭ в одном и том же стационаре (лаборатории) результат может быть рассмотрен в динамике. В случае, если исследование СОЭ выполняется в разных стационарах, врачу-клиницисту трудно интерпретировать данные, полученные в разных условиях.

Для исследования СОЭ требуется стабильная температура в помещении (18-25 °С), одноразовые кюветы-пробирки, штатив для строго вертикального выполнения реакции, таймер-часы. Оценивается скорость (в мм) оседания эритроцитов в градуированной пробирке в течение 1 ч.

Возможно исследование СОЭ в автоматизированном режиме, что предполагает автоматическое фиксирование времени оседания эритроцитов в

каждой пробирке.

При беременности, в том числе при развитии анемии, с возрастом СОЭ увеличивается.

У новорожденных СОЭ замедлено, в подростковом возрасте СОЭ соответствует величинам взрослых, не имея отличий у мальчиков и девочек.

При выздоровлении СОЭ возвращается к диапазону нормальных значений более медленно, чем концентрация маркера острой фазы заболевания – СРБ – в крови.

Увеличение СОЭ имеет место на ранних этапах инфаркта миокарда

Показания к исследованию

- Скрининговое исследование в комплексе общего анализа крови при профилактическом осмотре;
- инфекционные заболевания;
- воспалительные процессы;
- злокачественные новообразования;
- контроль эффективности лечения воспалительных и инфекционных заболеваний.

Условия взятия и хранения образца

Цельная кровь, взятая с антикоагулянтом (ЭДТА). Взятие крови производится натощак. Образец крови может храниться при температуре 4-8 °С не более 24 ч.

Референсный интервал, мм/час

Мужчины 0-15.

Женщины 0-20.

Повышенные значения

- Физиологическое повышение СОЭ: с возрастом, при беременности, во время менструации;
- инфекционные заболевания;
- воспалительные процессы;
- воспалительные процессы, сопровождаемые некрозом (инфаркты различных тканей, септические гнойные заболевания, злокачественные новообразования);
- заболевания соединительной ткани и системные васкулиты (ревматизм, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, узелковый периартериит, склеродермия, дерматомиозит);
- заболевания паренхимы печени (гепатит, цирроз, рак), ведущие к диспротеинемии, иммунному воспалению и некрозам ткани печени;
- болезни обмена (сахарный диабет);
- гемобластозы (лейкозы, лимфогранулематоз);
- парапротеинемические гемобластозы (миеломная болезнь, болезнь Вальденстрема);
- заболевания почек (нефротический синдром).

Пониженные значения

- Заболевания, сопровождаемые увеличением числа эритроцитов (эритремия, вторичные эритроцитозы);
- ацидоз (кетоацидоз при сахарном диабете);
- гипербилирубинемия;
- голодание, снижение мышечной массы;
- прием кортикостероидов;
- обезвоживание;
- миодистрофии.

Определение группы крови и резус-принадлежности

Группа крови человека определяется наличием на поверхности эритроцита антигенов и является индивидуальным признаком. Эритроцитарные поверхностные антигены эритроцитов определяет фенотип эритроцитов или группу крови человека.

В настоящее время известно более 200 антигенов эритроцитов, поэтому группа крови может отличаться в зависимости от количества используемых антисывороток для идентификации антигенов на поверхности эритроцитов. Эритроцитарные антигены, идентифицированные в популяции в 1% случаев, считаются редкими.

Основной системой идентификации групп крови является система АВО, в которой группа крови характеризуется наличием на поверхности эритроцитов антигенов А, В, АВ или их отсутствием (О), т.е. четыре группы крови. В некоторых руководствах встречается дополнительная маркировка групп крови: О (I); А(II); В (III)и АВ (IV).

Выявление в 1901 г. эритроцитарных антигенов положило начало изучению допустимости смешивания эритроцитов разных групп, т.е. совместимости гемотрансфузий. В крови (сыворотке) каждого индивидуума циркулируют антитела (называемые также агглютинины), активные в отношении чужеродных антигенов. Взаимодействие антиген-антитело приводит к агглютинации (слипанию) и разрушению эритроцитов. В крови индивидуумов с группой крови А циркулируют антитела против антигенов В. Индивидуумы с группой крови В имеют антитела против антигенов А. При группе крови О в сыворотке определяются антитела анти-А, анти-В, тогда как при группе крови АВ ни антитела А, ни антитела В в сыворотке не определяются.

Таким образом, индивидуумы с группой крови АВ являются **универсальными реципиентами** иногруппной крови.

Индивидуумы с группой крови О, эритроциты которых не имеют на поверхности ни А, ни В антигенов, являются **универсальными донорами**.

Антитела к эритроцитарным антигенам А или В являются генетически детерминированными, в соответствии с группой крови эритроцитов, тогда как антитела к другим поверхностным антигенам эритроцитов явля-

ются приобретенными. Пациенты, получающие трансфузии, со временем накапливают антитела, что может осложнять подбор требуемой группы крови. Для таких пациентов важно выполнять типирование группы крови с оценкой возможно большего спектра антител сыворотки.

Для оценки совместимости групп крови и возможности трансфузий необходимо исследование реакции антител сыворотки донора и эритроцитов реципиента, а также эритроцитов донора и антител сыворотки реципиента.

При совместимости групп крови смешивание эритроцитов и сыворотки не приводит к изменению состава и окраски реакционной капли.

При несовместимости групп смешивание эритроцитов донора и сыворотки пациента вызывает **реакцию агглютинации** – образование в капле неоднородностей в виде слипшихся эритроцитов, точно насыщающих поле реакции.

Резус-фактором (Rh) называют антиген D, который может располагаться на поверхности эритроцитов. Наличие или отсутствие этого антигена на поверхности эритроцитов индивидуума определяет такую характеристику группы крови, как резус-положительная или резус-отрицательная (Rh+ или Rh-). Примерно 85% популяции людей имеют резус-положительную группу крови (Rh+).

В отличие от антител к антигенам АВ, антитела к антигену D не присутствуют в крови. При контакте крови резус-положительной группы с резус-отрицательной, происходит сенсибилизация и синтез анти-резусных антител. Такая реакция развивается, например, при беременности Rh- матери Rh+ плодом. Выход фетальных клеток во время родов в кровоток матери активизирует синтез антирезусных антител. В случае пересечения антирезусными антителами плацентарного барьера и попадания в кровь плода, развивается гемолитическая желтуха новорожденного, обусловленная разрушением эритроцитов.

Определение резус-фактора необходимо для каждого индивидуума в дополнение к определению группы крови. Отмечено, что выраженность структуры эритроцитарного антигена различна у здоровых людей и тем более у иммунокомпроментированных больных, беременных женщин.

В настоящее время определение групп крови, резус-фактора, продукции антиэритроцитарных антител выполняется в автоматическом режиме стандартизированными методами, позволяющими одновременно проводить как типирование групп крови, определение продукции антител, так и совместимости возможных трансфузий. Визуальное отображение полученной карты для каждого пациента может быть востребовано в течение всей жизни пациента, она хранится в базе данных лаборатории.

Показания к исследованию

Любое стационарное лечение, беременность.

Условия взятия и хранения образца

Для исследования используют венозную кровь, взятую с ЭДТА или без

консервантов. Взятие крови производится натощак, или не менее чем через 8 ч после последнего приема пищи. Образец крови может храниться при температуре от 4-8 °С не более 24 ч.

Результаты исследования

Группа крови системы АВО:

- 0 (I) – первая группа;
- А (II) – вторая группа;
- В (III) – третья группа;
- АВ (IV) – четвертая группа.

При выявлении подтипов (слабых вариантов) групповых антигенов результат выдается с соответствующим комментарием, например, «выявлен ослабленный вариант А2, необходим индивидуальный подбор компонентов крови».

Резус-принадлежность

- Rh (+) положительная;
- Rh (-) отрицательная.

При выявлении слабых и вариантных подтипов антигена D выдается комментарий: «выявлен слабый резус-антиген, рекомендуется при необходимости выполнять трансфузию резус-отрицательных компонентов крови».

■ Биохимические и иммунохимические исследования

Требования к условиям и процедурам взятия образцов биологического материала

Взятие биологического материала для выполнения лабораторных исследований должно быть проведено до лечебных или диагностических процедур (оперативные вмешательства, инъекции, вливания, переливания, пункции, биопсии, массаж, эргометрия, диализ, введение рентгеноконтрастных средств, иммуносцинтиграфия, ионизирующее излучение, эндоскопическое исследование) или отложено на тот или иной период времени, зависящий от длительности последствий таких процедур.

При возможности за 2-3 дня до исследования следует исключить прием лекарственных средств, способных повлиять на результаты назначенного теста *in vivo* или *in vitro*. Если отмена лекарств нежелательна, следует их возможное влияние учитывать при интерпретации результатов исследова-

дования. В бланке назначения должны быть указаны принимаемые пациентом лекарства, если они могут влиять на результаты лабораторных исследований. При проведении лабораторных исследований на фоне лекарственной терапии взятие образца биологического материала должно быть произведено до приема очередной дозы препарата.

Для подавляющего большинства лабораторных исследований используются пробы крови, в некоторых случаях (биохимические, гормональные исследования) – мочи, значительно реже – пробы других биологических материалов.

Пробы крови

Взятие крови. Кровь для исследования следует брать в положении «сидя», из локтевой вены, наложение жгута не более 30-60 сек. Для исследований используют сыворотку или плазму крови. Характеристику образцов, условия их взятия, также, как и вид антикоагулянта, необходимый для получения плазмы крови в данном исследовании, определяет инструкция производителя реагентов.

При плановых исследованиях кровь следует брать натощак (после примерно 12 часов голодания и воздержания от приема алкоголя и курения) между 7 и 10 часами утра, при минимальной физической активности непосредственно перед взятием (в течение 20-30 мин.), в положении пациента лежа или сидя. Для определения концентрации или активности многих аналитов взятие крови может быть выполнено в любое время суток, но лучше проводить его после 12-16 часов голодания для предотвращения мешающей определению опалесценции сыворотки крови, обусловленной высокой концентрацией триглицеридов (постпрандиальная липемия).

Хранение образцов. Для определения условий хранения проб (стабильность при определенной температуре) следует руководствоваться инструкцией к используемому набору реагентов. В большинстве случаев сыворотка и плазма крови могут храниться в закрытых пробирках (контейнерах) при 2-8 °С в течение 3-5 суток. Замороженные пробы (при условии соблюдения герметичности контейнеров) для определения обычно стабильны при -20 °С в течение 2 мес., при -70 °С – в течение 5 лет. Не допускается повторное замораживание и оттаивание образцов.

Пробы мочи

Для лабораторных исследований используется либо суточная, либо порционная (утренняя) моча. Во время сбора суточной мочи следует точно соблюдать 24-часовой период ее сбора, материал необходимо хранить в холодильнике, в некоторых случаях добавляют соответствующий консервант или стабилизатор.

Для определения условий взятия и хранения проб следует руководствоваться инструкцией к используемому набору реагентов. В большинстве случаев образцы мочи могут храниться в закрытых пробирках (контейнерах) при 2-8 °С в течение 5-7 суток. Замороженные пробы (при условии соблюдения герметичности контейнеров) для определения обычно стабильны при -20 °С в течение 2 мес., при -70 °С – в течение 5 лет. Не допускается повторное замораживание и оттаивание образцов.

Ферменты

Ферменты – специфические белки, синтезируемые всеми клетками живого организма, необходимые для протекания многочисленных химических реакций, обеспечивающих нормальное функционирование клеток и тканей. Большинство ферментов присутствуют практически в каждой клетке, однако некоторые преимущественно находятся в клетках определенных органов или тканей. Значительная часть ферментов располагается только внутри клетки, в норме их концентрация и, соответственно, активность, в кровяном русле невелика. Повышение активности определенных ферментов в кровяном русле происходит вследствие выхода их молекул при повреждении клеток соответствующего органа. Кратность и длительность сдвига активности ферментов в плазме или сыворотке крови обусловлены несколькими причинами: размерами и степенью повреждения клеток, величиной молекул фермента, его внутриклеточной локализацией, прочностью связей со структурными элементами клеток.

Определение активности ферментов в крови с диагностической целью начато в 1954 г., когда было отмечено увеличения активности АСТ и АЛТ при инфаркте миокарда. Работы последующих лет представили значительный материал о характере изменений активности ферментов в диагностике ряда заболеваний, в первую очередь – заболеваний печени и миокарда. Определение активности изофермента МВ креатинкиназы долгое время называли «золотым стандартом» лабораторной диагностики острого ИМ. До открытия сердечных тропонинов оценка активности ферментов входила в перечень тестов для диагностики ИМ, составленный экспертами международных научных обществ.

В настоящее время важность определения активности ферментов для диагностики и контроля эффективности терапии не вызывает сомнений. Оценка соотношения активности различных ферментов играет ведущую роль в дифференциальной диагностике патологии различных систем и тканей организма. Большинство методов определения активности ферментов, используемых в лабораторной диагностике, основаны на рекомендациях Международных и национальных федераций клинической химии, что способствует стандартизации исследований и позволяет избежать межлабораторных различий получаемых результатов.

Аланинаминотрансфераза

АЛТ (глутаматпируват трансминаза; GPT, L-аланин:2 оксоглутарат аминотрансминаза, К.Ф. 2.6.1.2.) относится к ферментам класса трансминаз, играющих ключевую роль в синтезе и катаболизме аминокислот (реакция трансминирования или переаминирования) и обеспечении клеток энергией. АЛТ катализирует реакцию трансминирования между аланином и α -кетоглутаратом, что приводит к образованию пирувата и глутамата. Коферментом реакции является пиридоксин, витамин В₆.

АЛТ – внутриклеточный фермент, его содержание в сыворотке крови здоровых людей существенно ниже, чем во многих органах и тканях, наибольшая ее активность выявляется в печени, скелетной мускулатуре, миокарде. Увеличение активности АЛТ в крови свидетельствует о повреждении или разрушении клеток, обогащенных ферментом.

Наиболее значительное увеличение активности АЛТ (превышение верхней границы референсного диапазона более чем в 15 раз) отмечают при некрозе клеток печени (острый вирусный гепатит, токсический гепатит). При остром вирусном гепатите многократное увеличение активности АЛТ в крови происходит значительно раньше развития желтухи. Несколько меньшее увеличение активности АЛТ (превышение верхней границы референсного диапазона в 5-10 раз) обнаруживается при различных заболеваниях печени (хронический гепатит, холангит, опухоли печени), остром панкреатите, ожогах, приеме гепатотоксических препаратов, остром ИМ и др.

Важным показателем является соотношение активности ферментов АСТ/АЛТ (коэффициент де Ритиса), его значения целесообразно рассчитывать только при повышенной активности одного или обоих ферментов. Увеличение коэффициента более 1,4 отмечают при циррозах, тяжелых алкогольных и токсических поражениях печени, что является свидетельством глубокого некроза гепатоцитов с повреждением митохондриального аппарата клеток и освобождением митохондриальной фракции АСТ. При неосложненных вирусных гепатитах или неалкогольных поражениях печени значение коэффициента составляет менее 1,0.

Показания к исследованию

- Болезни печени;
- обследование доноров;
- обследование лиц, контактировавших с больными вирусным гепатитом в очаге инфекции.

Методы исследования

Спектрофотометрические (кинетические) методы, основанные на рекомендациях Международных и национальных федераций клинической химии. Добавление к реакционной смеси пиридоксаль-5-фосфата обеспечивает максимальную каталитическую активность АЛТ. Активность фермента зависит от температуры и наличия или отсутствия пиридок-

саль-5-фосфата в реакционной смеси.

Референсный интервал, Ед/л, метод IFCC с пиридоксаль-5-фосфатом, 37 °С

Мужчины – 10-40.

Женщины – 7-35.

Повышенные значения

- Острые и хронические заболевания печени;
- прием гепатотоксичных лекарственных препаратов;
- острый и хронический панкреатит;
- острый ИМ, острый миокардит;
- травма, некроз скелетных мышц, миопатии, миозит;
- тепловой удар;
- гемолиз эритроцитов, гемолитические болезни;
- почечная недостаточность.

Пониженные значения

- Дефицит витамина В₆;
- механическая желтуха;
- терминальная стадия печеночной недостаточности.

Альфа-амилаза

α -Амилаза (1,4- α -глюкангидролаза, К.Ф.3.2.1.1) – фермент, гидролизующий внутренние 1,4- α -гликозидные связи крахмала, гликогена и других полимеров глюкозы. Выделяют два основных типа изоферментов α -амилазы: П-тип, или панкреатическая амилаза, синтезирующаяся исключительно в поджелудочной железе, и С-тип, синтезируемый в разных органах и тканях, основным местом его синтеза являются слюнные железы. В сыворотке крови здоровых лиц доля С-типа α -амилазы несколько выше, чем П-типа (60 и 40%, соответственно), распределение изоферментов идентично у мужчин и женщин. α -амилаза, как и другие белки небольшой ММ (55-57 кДа), выводится с мочой. Вследствие различий в экскреции изоферментов почками, доля П-изофермента в общей активности α -амилазы значительно выше в моче, чем в сыворотке крови.

Общая активность α -амилазы в крови и в моче

При остром панкреатите активность фермента в сыворотке крови резко возрастает через 3-12 ч после болевого приступа, достигает максимума через 20-30 ч и возвращается в значения референсного диапазона при благоприятном течении в пределах 4 суток. Активность α -амилазы в моче возрастает через 6-10 ч после подъема активности в сыворотке крови и возвращается в значения референсного диапазона через 3-5 суток после подъема. Однако активность α -амилазы в сыворотке крови и моче может быть повышена не только при панкреатите. Повышение активности фермента имеет место при

ряде заболеваний: паротит, кишечная непроходимость, заболевания желчных путей, аппендицит, внематочная беременность. Значительное и длительное увеличение активности α -амилазы в крови имеет место при макроамилаземии – состоянии, при котором фермент связан с иммуноглобулинами сыворотки крови в макромолекулярный комплекс, не фильтруемый в мочу.

Показания к исследованию

- Острая боль в животе (подозрение на панкреатит);
- острый и хронический панкреатит;
- желчнокаменная болезнь;
- заболевания органов пищеварения;
- травма живота.

Методы исследования

Для определения активности фермента предложено более 200 методов. В настоящее время широкое распространение имеют ферментативные колориметрические методы с использованием различных хромогенных субстратов. Значения активности амилазы, определенные разными методами, отличаются.

Референсный интервал колориметрический метод, субстрат 2-хлор-4-нитрофенил- α -D-мальтотриозид (CNP3), 37 °C

Мужчины, женщины
в крови – 25-125 Ед/л.
в моче <408 Ед/сутки.

Повышенные значения в крови и моче

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Острый, хронический панкреатит; • воспаление или повреждение слюнных желез; • заболевания органов пищеварения (язва желудка и двенадцатиперстной кишки, кишечная непроходимость, хронический холецистит, аппендицит, перитонит, инфаркт кишечника и др.); • макроамилаземия; • острая и хроническая почечная недостаточность; | <ul style="list-style-type: none"> • хирургические операции на органах брюшной полости; травмы брюшной полости; тромбоз брыжеечных сосудов; • разрыв аневризмы аорты; • внематочная беременность; сальпингит; • злокачественные образования; • диабетический кетоацидоз; • септический шок; • ятрогенные влияния. |
|---|--|

Пониженные значения в крови

- Тиреотоксикоз;
- терминальная стадия некроза поджелудочной железы.

Активность П-изофермента α -амилазы в крови

Повышение активности П-изофермента α -амилазы – наиболее чув-

ствительный и специфичный тест для диагностики панкреатита. Особое значение этот тест приобретает, если у больного с предполагаемым диагнозом «панкреатит» обнаружена нормальная общая активность α -амилазы. При хроническом панкреатите активность П-амилазы составляет 75-80% от общей активности фермента и является важным диагностическим критерием даже если значения общей активности α -амилазы крови у пациента не выходят за пределы референсного диапазона. Активность П-амилазы в сыворотке крови в референсных пределах или ниже нижней их границы у больных с хроническим панкреатитом, как правило, отмечают при атрофии ацинарной ткани железы и ее фиброзе.

Показания к исследованию

- Острая боль в животе (подозрение на панкреатит);
- хронический панкреатит;
- желчнокаменная болезнь;
- заболевания органов пищеварения;
- травма живота.

Методы исследования

Для разделения изоферментов амилазы в разное время были предложены многие методические приемы: электрофорез, хроматография, изоэлектрофокусирование. При использовании автоанализаторов наиболее рационально применение метода иммуноингибирования С-изофермента с последующим определением активности П-амилазы ферментативным колориметрическим методом с использованием хромогенного субстрата. Значения активности П-амилазы, определенные разными методами, отличаются.

Референсный интервал *метод иммуноингибирования и колориметрический ферментативный, субстрат хлоро-р-нитрофенил- α -D-мальто-триазида (CNP-G3), 37 °С.*

Мужчины, женщины – 8-53 Ед/л

Повышенные значения

- Острый и хронический панкреатит;
- кисты, рак поджелудочной железы;
- травмы органов брюшной полости и/или поджелудочной железы;
- острая и хроническая почечная недостаточность.

Пониженные значения

- Терминальная стадия некроза поджелудочной железы.

Аспаратаминотрансфераза

АСТ (глутамат-оксалоацетат трансминаза; GOT, L-аспартат 2-оксоглутарат аминотрансфераза, К.Ф. 2.6.1.1.), относится к ферментам класса трансминаз, играющих ключевую роль в синтезе и катаболизме аминокислот (реакция трансаминирования или переаминирования) и обеспе-

чении клеток энергией. АСТ катализирует реакцию трансаминирования между аспаратом и α -кетоглутаратом, в результате образуется щавелевоуксусная кислота (оксалоацетат) и глутаминовая кислота (глутамат). Коферментом этой реакции является пиридоксин, витамин В₆.

АСТ – внутриклеточный фермент, его содержание в сыворотке крови здоровых людей существенно ниже, чем во многих органах и тканях: миокард, скелетные мышцы, печень, поджелудочная железа, мозг, почки, легкие, эритроциты и лейкоциты. Наибольшая его активность выявляется в печени и скелетной мускулатуре. Увеличение активности АСТ в крови свидетельствует о повреждении или разрушении клеток, обогащенных ферментом.

Активность АСТ существенно возрастает при заболеваниях печени, остром панкреатите, повреждениях мышечной ткани и многих других патологиях; увеличение уровня АСТ может наблюдаться после употребления алкоголя, приема гепатотоксических препаратов, внутримышечных инъекций. Активность АСТ повышается в остром периоде ИМ, однако в настоящее время исследование не входит в арсенал тестов для лабораторной диагностики этого заболевания вследствие недостаточной специфичности.

Важным показателем является соотношение активности АСТ/АЛТ (коэффициент де Ритиса), его значения целесообразно рассчитывать только при повышенной активности одного или обоих ферментов. Увеличение коэффициента более 1,4 отмечают при циррозах, тяжелых алкогольных и токсических поражениях печени, что является свидетельством глубокого некроза гепатоцитов с повреждением митохондриального аппарата клеток и освобождением митохондриальной фракции АСТ. При неосложненных вирусных гепатитах или неалкогольных поражениях печени значение коэффициента составляет менее 1,0.

Показания к исследованию

- Болезни печени;
- обследование доноров;
- обследование лиц, контактировавших с больными вирусным гепатитом в очаге инфекции.

Методы исследования

Для определения активности АСТ используют спектрофотометрические (кинетические) методы, основанные на рекомендациях Международных и национальных федераций клинической химии. Добавление к реакционной смеси пиридоксаль-5-фосфата обеспечивает максимальную каталитическую активность АЛТ. Активность фермента зависит от температуры.

Референсный интервал, Ед/л, метод IFCC с пиридоксаль-5-фосфатом, 37 °С

Мужчины 15-40.

Женщины 13-35.

Повышенные значения

- Острый инфаркт миокарда, острый миокардит, кардиогенный шок, сердечная недостаточность;
- травма, некроз скелетных мышц, миопатии, миозит, тяжелые ожоги;
- физическая нагрузка, внутримышечные инъекции, тепловой удар.
- заболевания печени;
- прием гепатотоксичных лекарственных препаратов;
- панкреатит;
- прием алкоголя
- почечная недостаточность;
- инфекционные заболевания (септицемия, инфекционный мононуклеоз, герпетическая инфекция, туберкулез легких;
- злокачественные новообразования;
- гемолитические болезни.

Пониженные значения

- Дефицит витамина В6;
- терминальная стадия острая печеночная недостаточность.

Гамма-глутамилтрансфераза

ГГТ (γ -глутамилтранспептидаза, К.Ф. 2.3.2.2.) относится к группе ферментов пептидаз, катализирующих передачу аминокислот между пептидами. Фермент катализирует перенос γ -глутамила на другую молекулу – аминокислоту или пептид.

ГГТ содержится, в основном, в мембране клеток, обладающих высокой секреторной или адсорбционной способностью: эпителиальные клетки, выстилающие желчные пути, печеночные каналцы, проксимальные каналцы нефрона, панкреатическая экзокринная ткань и выводные протоки, ворсинчатые клетки тонкого кишечника. Снижение удельной активности ГГТ в тканях располагается в следующей последовательности: почки, печень, поджелудочная железа, щеточная каемка клеток тонкого кишечника. Активность ГГТ не обнаружена в скелетных мышцах и миокарде.

Наиболее частой причиной повышения активности ГГТ в сыворотке крови является патология печени (обструктивная желтуха, холецистит, гепатит, жировой гепатоз, опухоли и метастазы в печени). Увеличение активности фермента имеет место при любых токсических воздействиях на печень, включая прием алкоголя (даже однократный) и многих лекарственных препаратов. Определение активности ГГТ играет существенную роль в диагностике алкоголизма, алкогольных повреждений печени и в мониторинге алкогольной абстиненции. При отсутствии желтухи определение активности ГГТ является более чувствительным тестом патологии печени, чем определение ЩФ и 5-нуклеотидазы. При онкологических заболеваниях активность ГГТ, превышающая значения референсного диапазона, является индикатором поражения печени метастазами. При остром вирусном гепатите многократное исследование активности ГГТ позволяет наблюдать течение болезни: постоянно увеличенная активность ГГТ указывает на развитие хронической

формы заболевания. При увеличении активности ЩФ и трудностях определения ее изоферментов полезно определять активность ГГТ для идентификации возможного источника гиперферментемии: активность ГГТ остается в референсных пределах, если увеличение активности ЩФ вызвано костным изоферментом, и увеличена, когда источником фермента является печень.

К физиологическим факторам, влияющим на активность ГГТ, относят: пол (у мужчин активность выше, чем у женщин), масса тела (чем выше масса, тем выше активность ГГТ в крови), беременность (активность снижается в первые недели). У новорожденных активность ГГТ в сыворотке крови на порядок выше, чем у взрослых.

Показания к исследованию

- Диагностика заболеваний печени и билиарного тракта;
- наблюдение за эффективностью лечения алкоголизма;
- злокачественные новообразования (определение наличия метастазов в печени);
- выявление гепатотоксичности лекарственных препаратов.

Методы исследования

IFCC рекомендует в качестве референсного метода определения активности ГГТ колориметрический кинетический метод (с периодом преинкубации) с использованием субстрата гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида.

Референсный интервал, Ед/л, метод IFCC, 37°C

Мужчины < 49.

Женщины < 32.

Повышенные значения

- Заболевания печени;
- инфекционный мононуклеоз;
- прием гепатотоксичных препаратов;
- панкреатит и опухоли поджелудочной железы;
- прием алкоголя.

Кислая фосфатаза

Кислая фосфатаза – фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты (К.Ф. 3.1.3.1). Присутствует во многих клетках и тканях, в условиях *in vitro* проявляет максимальную активность в кислой среде. У мужчин половина кислой фосфатазы, определяемой в сыворотке крови, вырабатывается в предстательной железе, фермент поступает в кровь также из клеток печени, разрушающихся тромбоцитов и эритроцитов – основных источников кислой фосфатазы в крови у женщин. Определение активности кислой фосфатазы в крови проводят в основном для диагностики рака предстательной железы. При наличии метастазов рака предстательной железы в костной ткани повышается активность и кислой и щелоч-

ной фосфатаз, что является критерием дифференциальной диагностики рака предстательной железы и заболеваний костной ткани. Повышенная активность кислой фосфатазы может быть вызвана разрушением тромбоцитов при тромбоцитопениях, тромбоэмболии, гемолитической болезни. Увеличивается активность кислой фосфатазы и при прогрессирующей болезни Педжета, миеломной болезни, болезни Гоше и Нимана-Пика, через 1-2 дня после операции на предстательной железе или после ее биопсии.

Показания к исследованию

Заболевания предстательной железы (диагностика и мониторинг течения карциномы простаты, определение наличия метастазов в костной ткани).

Особенности взятия и хранения образцов

Взятие крови производится не менее чем через 48 ч после цистоскопии, ректальных исследований, диагностических и лечебных процедур, проведенных на предстательной железе.

Методы исследования

Для определения активности кислой фосфатазы в сыворотке крови наиболее часто применяют колориметрический метод с использованием в качестве субстрата альфа-нафтилфосфата.

Референсный интервал

Мужчины, женщины < 6,0 Ед/л.

Повышенные значения

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Рак предстательной железы; • простатит; • последствия диагностических и лечебных манипуляций; • болезнь Педжета; • метастатические поражения костей; | <ul style="list-style-type: none"> • миеломная болезнь; • болезнь Гоше; • болезнь Нимана-Пика. • разрушение тромбоцитов при тромбоцитопении, тромбоэмболии, гемолитической болезни. |
|--|---|

Креатинкиназа

КК (креатин N-фосфотрансфераза, КФ 2.7.3.2) относится к ферментам класса фосфотрансфераз, осуществляет обратимый перенос фосфатного остатка между АТФ и креатином с образованием АДФ и креатинфосфата. Продукт этой реакции креатинфосфат играет важную роль в процессах метаболизма, обеспечивая энергией ряд биологически значимых превращений, в т. ч. мышечные сокращения и расслабления. КК содержится почти во всех тканях организма, наиболее богата КК скелетная мускулатура, сердечная мышца, много ее в языке, мышце диафрагмы, меньше в мозге, щитовидной железе, матке, легких.

Молекула КК является димером, субъединицы носят название «М» – мышечный тип и «В» – мозговой тип. В соответствии с двумя формами субъединиц димерная форма молекулы КК представлена тремя изофер-

ментами: мышечный тип КК-ММ, гибридный димер КК-МВ, характерный для миокарда, и изофермент КК-ВВ, локализованный преимущественно в мозговой ткани. У здоровых лиц общая активность КК в крови представлена в основном КК-ММ (94-96%), активность других изоферментов присутствуют в следовых количествах.

КК – внутриклеточный фермент, увеличение его активности в крови свидетельствует о повреждении или разрушении клеток, обогащенных ферментом. Изоферменты КК органоспецифичны, поэтому их определение в сыворотке крови дает возможность диагностики повреждений специфического органа, наблюдения течения заболевания и возможность оценки прогноза. В сердечной мышце КК-ММ составляет 60% общей активности КК, остальные 40% активности создает КК-МВ.

Показания к исследованию

- Острые и хронические заболевания сердечно-сосудистой системы;
- выявление миопатий и других заболеваний скелетных мышц;
- заболевания ЦНС;
- заболевания щитовидной железы.

Методы исследования

Спектрофотометрические (кинетические) методы, основанные на рекомендациях Международных и национальных федераций клинической химии. В соответствии с рекомендациями IFCC, к реакционной смеси необходимо добавление N-ацетилцистеина для активации КК.

Референсный интервал, Ед/л

Мужчины 30-200.

Женщины 29-168.

Повышенные значения

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Острый ИМ, острый миокардит, травмы и операции на сердце, миокардиодистрофии, застойная сердечная недостаточность, тяжелая аритмия, некоторые клинические варианты нестабильной стенокардии; • острое повреждение мозга, кома; • психические заболевания; • поражение скелетных мышц; | <ul style="list-style-type: none"> • внутривенные и внутримышечные инъекции; • спазмы, роды, генерализованные судороги; • эмболия легочной артерии; • сильные ожоги, поражение электрическим током; • физическая нагрузка, длительная гипо- или гипертермия, голодание, дегидратация. |
|--|--|

Пониженные значения

- Малая мышечная масса;
- длительная гиподинамия.

Изофермент МВ креатинкиназы

У здоровых лиц в сыворотке крови активность изофермента КК-МВ составляет не более 6%, однако при поражении кардиомиоцитов во время ИМ это значение может возрастать до 25% от общей активности. Увеличение активности КК-МВ наблюдают уже через 4-8 ч после начала заболевания, максимум достигается через 12-24 ч, на 3-и сутки активность изофермента возвращается к значениям референсного диапазона при неосложненном течении инфаркта.

Величина активности КК-МВ, и особенно ее соотношение с суммарной активностью КК, долгое время была ведущим биохимическим маркером ИМ. В настоящее время для диагностики ИМ предпочтительным является определение не активности, а массы КК-МВ.

Показания к исследованию

- Диагностика инфаркта миокарда.

Методы исследования

Определение активности КК-МВ: образцы сыворотки крови инкубируют с антителами к М-субъединице КК, после чего выполняют определение активности КК выбранным методом. Антитела блокируют активность КК-М субъединицы, в результате определяется только активность субъединицы В.

Определение массы КК-МВ выполняют с использованием различных иммунохимических методов.

Референсный интервал активности КК-МВ, 37 °С

Мужчины, женщины < 24 Ед/л

Референсный интервал концентрации КК-МВ, нг/мл, метод МИФА

Мужчины – 0,1-7,2.

Женщины – 0,1-3,4.

Повышенные значения

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Острый ИМ, острый миокардит, травмы и операции на сердце, миокардиодистрофии, застойная сердечная недостаточность, тяжелая аритмия; • поражение скелетных мышц: миозит, дерматомиозит, мышечные дистрофии, любые травмы и операции и др.; | <ul style="list-style-type: none"> • генерализованные судороги; • эмболия легочной артерии; • физическая нагрузка, длительная гипо- или гипертермия, голодание, дегидратация; • сильные ожоги, поражение электрическим током. |
|--|---|

Лактатдегидрогеназа

ЛДГ (L-лактат-НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.27) – цинксодержащий фермент, обратимо катализирует окисление лактата в пируват. ЛДГ является тетрамером, содержит субъединицы М и Н. В цитоплазме клеток и сыворотке крови ЛДГ представлена 5 изоферментами, обозначаемыми в соответствии с их подвижностью к аноду в электрическом поле: ЛДГ-1 (НННН), ЛДГ-2 (НННМ), ЛДГ-3 (ННММ), ЛДГ-4 (НМММ) и ЛДГ-5 (ММММ). ЛДГ

представлена практически во всех органах и тканях организма, при этом распределение изоферментов ЛДГ органоспецифично. ЛДГ-4 и ЛДГ-5 преобладают в печени и скелетных мышцах, тканях с преимущественно анаэробным метаболизмом, ЛДГ-1 и ЛДГ-2 – эритроцитах, лейкоцитах, миокарде, почках – тканях с аэробным типом метаболизма, наиболее высокое содержание ЛДГ-3 – в легких, лимфоидной ткани, тромбоцитах и опухолях.

ИМ обычно сопровождается 3-4 кратным повышением общей активности ЛДГ; подобное повышение ЛДГ отмечается при миокардите, нарушениях ритма сердца. При ИМ повышение общей активности ЛДГ в сыворотке крови отмечается спустя 8-10 ч. и достигает максимальной активности через 48-72 ч. Выброс миокардиальных изоферментов ЛДГ при ИМ в кровь ведет к увеличению активности ЛДГ-1 и ЛДГ-2. Активность ЛДГ-1 увеличивается через 12-24 ч. после возникновения острого ИМ, совпадая во времени с максимумом активности КК-МВ и опережая возникновение пика общей активности ЛДГ (24 ч.).

Выявление спектра изоферментов, характерного для ИМ, возможно при застое крови в печени и почках вследствие сердечной недостаточности, при ишемическом поражении некоторых органов в силу резкого снижения сердечного выброса. В настоящее время определение активности ЛДГ и ее изоферментов не входит в число обязательных тестов для диагностики ИМ вследствие недостаточной специфичности.

К повышению активности ЛДГ приводят миопатии, заболевания печени, мегалобластные и гемолитические анемии, острые и хронические заболевания почек. Увеличение активности ЛДГ отмечается при повреждении печени, но это повышение не так велико, как повышение активности АЛТ и АСТ. Особенное повышение (в 10 раз выше верхней границы нормы) отмечают при токсическом гепатите, сопровождающемся желтухой.

Физиологическое повышение уровня ЛДГ в крови происходит во время беременности, у новорожденных, а также после интенсивной физической нагрузки.

Показания к исследованию

- Болезни печени;
- выявление поражений миокарда;
- миопатии;
- гемолитические анемии;
- злокачественные новообразования;
- легочная эмболия (дифференциальная диагностика с инфарктом миокарда).

Особенности взятия и хранения образцов

Сыворотка или плазма (ЭДТА, гепарин) без признаков гемолиза. Хранение образцов не более 2-х суток при 18-25 °С. Хранение проб при 4-8 °С или замораживание снижает активность фермента.

Методы исследования

Метод, основанный на рекомендациях IFCC. ЛДГ катализирует окисле-

ние лактата в пируват при щелочном рН, одновременно НАД⁺ восстанавливается до НАДН. Скорость возрастания оптической плотности реакционной смеси при 340 нм, отражающая увеличение концентрации НАДН, пропорциональна активности фермента в образце.

Референсный интервал метод IFCC, 37 °С

Мужчины, женщины 110-190 Ед/л

Повышенные значения

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Поражение миокарда; • поражение печени; • повреждение, воспалительные и дегенеративные заболевания скелетных мышц; • эмболия и инфаркт легких; • заболевания почек; | <ul style="list-style-type: none"> • заболевания и состояния, сопровождающиеся распадом клеток; • злокачественные опухоли любой локализации; • прием анаболических стероидов, этанола, гепатотоксичных препаратов. |
|---|---|

Пониженные значения:

Генетические нарушения или полное отсутствие субъединиц ЛДГ.

Изоферменты ЛДГ-1 и ЛДГ-2

ЛДГ-1 и ЛДГ-2 — изоферменты с высоким содержанием Н-субъединиц, могут использовать в качестве субстрата α-кетобутират и катализировать его превращение в α-гидроксобутират; изофермент ЛДГ-1, обладающий большим сродством к названному субстрату, получил название α-гидроксibuтиратдегидрогеназа (α-ГБДГ). Параллельное исследование активности общей ЛДГ и α-ГБДГ может быть использовано для дифференциальной диагностики заболеваний печени и сердца: при поражении сердечной мышцы увеличение активности фермента обусловлено возрастанием ЛДГ-1 (α-ГБДГ), при поражении паренхимы печени – изоформой ЛДГ-5, активность ЛДГ-1 не увеличивается.

Показания к исследованию

- Выявление поражений миокарда;
- гемолитические анемии;
- злокачественные новообразования;
- легочная эмболия (дифференциальная диагностика с инфарктом миокарда).

Особенности взятия и хранения образцов

Сыворотка или плазма (ЭДТА, гепарин) без признаков гемолиза. Хранение образцов не более 2 суток при 18-25 °С. Хранение проб при 4-8 °С или замораживание снижает активность фермента.

Методы исследования

ЛДГ катализирует превращение α-кетобутирата в α-гидроксibuтират, при этом происходит окисление β-НАДН₂ до β-НАД. Скорость уменьшения оптической плотности при длине волны 340 нм пропорциональна ак-

тивности фермента в образце.

Референсный интервал спектрофотометрический кинетический метод, 37 °С
Мужчины, женщины 72-182 Ед/л.

Повышенные значения

- Поражение миокарда;
- заболевания и состояния, сопровождающиеся распадом клеток крови;
- острые заболевания почек.

Пониженные значения

- Генетические нарушения или полное отсутствие субъединиц ЛДГ.

Липаза

Липаза – фермент класса гидролаз (КФ 3.1.1.3), катализирующий обратимую реакцию расщепления триглицеридов на глицерин и жирные кислоты. В организме человека присутствуют несколько ферментов, обладающих липазной активностью, синтез которых происходит в разных органах и тканях. В сыворотке крови человека липазная активность представлена преимущественно липазой поджелудочной железы, ее называют панкреатической липазой или, чаще, просто липазой.

Панкреатическая липаза – пищеварительный фермент, синтезируется главным образом в поджелудочной железе, секретируется в двенадцатиперстную кишку и тонкий кишечник, где действует на жиры пищи. Для проявления активности липазе необходимо присутствие желчных кислот, эмульгирующих жиры, и колипазы, белка-кофактора, синтезируемого в поджелудочной железе. Молекула липазы небольшого размера (48 кДа), благодаря этому она проходит фильтрационный почечный барьер, в норме полностью реабсорбируется в почечных канальцах и не выявляется в моче.

Концентрация липазы в поджелудочной железе многократно превышает концентрацию фермента в других тканях. Повышение активности липазы в крови наступает через 4-8 ч после начала приступа острого панкреатита, достигает максимума через 24 ч и постепенно снижается в течение 8-14 дней. Диагностическая чувствительность определения активности липазы в сыворотке крови при остром панкреатите составляет 60-100%, специфичность – 81-97%. Многие авторы считают, что определение активности липазы в крови более значимо при остром панкреатите, чем определение активности амилазы в крови и моче, поскольку увеличение активности липазы начинается раньше и нормализуется позже, чем амилазы. Повышение активности липазы в крови отмечают при закупорке панкреатических протоков (камнями или вследствие карциномы поджелудочной железы), у пациентов с острыми и хроническими заболеваниями почек при снижении скорости клубочковой фильтрации. При хроническом панкреатите может наблюдаться повышенная, пониженная или нормальная

активность липазы. Прием опиатов, вызывающих спазм сфинктера Одди, а также проведение эндоскопической ретроградной панкреатографии может повысить активность фермента в сыворотке.

Показания к исследованию

- Острая боль в животе (подозрение на панкреатит);
- хронический панкреатит;
- желчнокаменная болезнь;
- травма живота;
- алкоголизм;
- острая или хроническая почечная недостаточность.

Методы исследования

Для определения активности липазы в сыворотке крови разработано большое количество методов, в настоящее время наиболее используемым является кинетический колориметрический метод. Референсные интервалы зависят от используемого метода и температуры реакции.

Референсный интервал кинетический колориметрический метод, 37 °С
Мужчины, женщины 8-78 Ед/л.

Повышенные значения

- Острый, хронический панкреатит;
- карцинома поджелудочной железы;
- алкоголизм.

Холинэстераза

В организме человека присутствуют два фермента, относимых к холинэстеразам – группе ферментов из класса гидролаз карбоновых кислот, субстратами которых являются сложные эфиры холина. Фермент ацетилхолин-ацетилгидролаза (К.Ф. 3.1.1.7), тривиальные названия – ацетилхолинэстераза (АХЭ), ацетилхолингидролаза, называемый также «истинная холинэстераза», или «холинэстераза I». Обнаружена в эритроцитах, легких, селезенке, нервных окончаниях, сером веществе головного мозга. АХЭ участвует в передаче нервного импульса в синапсе, участвуя в процессе деполяризации нерва.

В сыворотке крови присутствует и другой фермент – ацетилхолин-ацилгидролаза (К.Ф. 3.1.1.8), тривиальное название – холинэстераза (ХЭ), называемый также «псевдохолинэстераза», «бутирилхолинэстераза», «холинэстераза II». В наибольшем количестве ХЭ обнаружена в печени, поджелудочной железе, сердце, белом веществе головного мозга. Определение активности именно этого фермента имеет значение в лабораторной диагностике. Фермент обладает значительной гетерогенностью, известно более 20 аллелей, обеспечивающих разные варианты ХЭ, отличающиеся по активности фермента и чувствительности к ингибиторам.

Определение активности ХЭ нашло применение в хирургии для выявле-

ния пациентов с риском пролонгированного ответа на некоторые миорелаксанты. При проведении хирургических операций с применением миорелаксантов, гидролизуемых холинэстеразой, у лиц с генетически сниженной или полностью отсутствующей активностью ХЭ повышается риск развития осложнений, связанных с замедленным разрушением миорелаксанта (длительное апноэ, холинергический шок). Подобные осложнения могут возникнуть и в отсутствие врожденных генетических дефектов фермента – у пациентов с заболеваниями печени, в ходе которых имеет место нарушение синтеза ХЭ.

Активность фермента ингибируют фосфорорганические соединения и карбаматы, относящиеся к инсектицидам и отравляющим веществам. При подобном отравлении снижение активности ХЭ на 40% вызывает появление первых симптомов, при снижении на 80% возникают нервно-мышечные нарушения. Сильная степень отравления, приводящая к падению активности ХЭ более чем на 80%, представляет угрозу для жизни. Пациенты с генетически обусловленной низкой активностью ХЭ обладают повышенной чувствительностью к таким отравлениям.

В отсутствие генетических причин низкой активности ХЭ, в случаях, исключающих воздействие ингибиторов фермента, любое снижение активности ХЭ в сыворотке крови указывает на нарушение синтеза фермента в печени. Определение активности ХЭ в сыворотке крови, наряду с уровнем альбумина, фибриногена, протромбина является маркером белоксинтезирующей функции печени. Снижение активности на 30-50% наблюдается при остром и хроническом гепатите, понижение активности на 50-70% происходит при прогрессирующем циррозе и карциноме с метастазами в печени.

Показания к исследованию

- Заболевания печени (диагностика и мониторинг терапии);
- диагностика отравления фосфорорганическими соединениями (инсектицидами);
- оценка риска развития осложнений при планировании хирургической операции с применением миорелаксантов, гидролизуемых холинэстеразой.

Методы исследования

Определение активности ХЭ в сыворотке крови проводят колориметрическим методом с использованием хромогенов.

Референсный интервал, МЕ/л, *кинетический колориметрический метод, субстрат – бутирилтиохолин, 37 °С.*

Мужчины 5100-11700.

Женщины 4000-12600.

Повышенные значения

- Нефротический синдром;
- ожирение;
- маниакально-депрессивный психоз, депрессивные неврозы.

Пониженные значения

- Острые и хронические заболевания печени;
- отравления фосфорорганическими соединениями (инсектицидами);
- наследственные генетические модификации холинэстеразы;
- поздние сроки беременности;
- эмболия легочной артерии;
- дерматомиозит;
- мышечная дистрофия;
- хронические заболевания почек.

Щелочная фосфатаза

ЩФ – фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты (К.Ф. 3.1.3.1). Присутствует во многих клетках и тканях, в условиях *in vitro* проявляет максимальную активность в щелочной среде. ЩФ является металлоферментом, т. к. в состав активного центра входит атом цинка. Активность фермента возрастает в присутствии ионов магния, для оптимальной активности необходимо адекватное соотношение ионов магния и цинка.

ЩФ присутствует в клетках каждого органа; наиболее высокая удельная активность фермента обнаружена в эпителии тонкого кишечника и канальцев почек, остеобластах, гепатоцитах, плаценте. ЩФ – гетерогенный фермент, представленный рядом изоферментов с различной локализацией, ММ, физико-химическими и иммунохимическими свойствами. Выявлено три гена, кодирующих разные изоферменты: один ген кодирует печеночный, костный и почечный изофермент, другой – кишечную форму фермента, третий – плацентарный изофермент.

Определение уровня активности ЩФ в сыворотке крови используют в клинической диагностике для выявления патологий гепатобилиарной системы и костной ткани. Активность ЩФ повышается при повреждении гепатоцитов, однако в отличие от активности АЛТ и АСТ, практически не меняется при вирусных гепатитах. Нарушение транспорта желчи не во всех случаях сопровождается значительным изменением активности фермента: только внепеченочный холестаз, в отличие от внутripеченочного, приводит к многократному повышению активности ЩФ в крови.

Активность ЩФ существенно выше в детском возрасте по сравнению со взрослыми, что указывает на важную роль ЩФ в процессах остеосинтеза. Повышение активности ЩФ происходит не только в условиях активного роста костной ткани, но и при ее разрушении: остеопорозе и последующей остеомаляции. Активность ЩФ в сыворотке крови увеличивается при беременности, достигая максимума к моменту родов.

Показания к исследованию

- Заболевания печени и желчевыводящих путей;
- заболевания костной ткани;
- болезни кишечника;
- злокачественные новообразования;

- беременность (диагностика состояния плаценты).

Методы исследования

Фотометрические (кинетические) методы, основанные на рекомендациях Международных и национальных федераций клинической химии. Значения активности ЩФ, определенные разными методами (например, в соответствии с рекомендациями IFCC или в соответствии с рекомендациями Германского общества Клинической химии, DGKC), отличаются.

Референсный интервал, Ед/л, метод IFCC, 37 °С.

Мужчины – 53-128.

Женщины – 42-98.

Повышенные значения

- Заболевания и поражения костной ткани;
- заболевания печени и желчевыводящих путей;
- заболевания кишечника (язвенный колит, энтерит, бактериальные инфекции и др.);
- прием гепатотоксичных препаратов.

Пониженные значения

- Гипотиреоз;
- цинга;
- выраженная анемия;
- квашиоркор;
- гипофосфатемия, в т.ч. врожденная;
- дефицит Са и Mg.

Ионы

В живом организме присутствует большое число химических элементов, среди которых особое место занимают вещества, относимые к категории макроэлементов. Большинство из них является электролитами, т.е. присутствуют в тканях и внеклеточных жидкостях в виде свободных ионов (катионов и анионов). Важнейшими катионами являются натрий (Na^+), калий (K^+), кальций (Ca^{2+}) и магний (Mg^{2+}), анионами – ионы хлора (Cl^-), гидрокарбоната (HCO_3^-), фосфата (H_2PO_4^- и HPO_4^{2-}), сульфата (SO_4^{2-}) и некоторых органических кислот (уксусной, пировиноградной, молочной и др.). Ионы выполняют разнообразные функции: структурную (кальций, магний, фосфор костной ткани, фосфолипиды биологических мембран), регуляторную (входят в состав ферментов, макроэргов), определяют постоянство ионного состава биологической среды – внеклеточной жидкости и цитозоля.

Количество электролитов различно в клеточной и внеклеточной жидкостях. Во внеклеточной жидкости представлены в основном ионы натрия, хлора и гидрокарбоната. Во внутриклеточной жидкости наблюдается более высокая концентрация ионов калия, магния, фосфатов и сульфата. Посто-

яство такого соотношения концентрации ионов, необходимое для поддержания осмотического давления и рН в клетках и внеклеточном пространстве, обеспечивается механизмами активного и пассивного транспорта.

Калий

К является основным катионом внутриклеточной жидкости, где содержится 98% калия всего организма. Катион обеспечивает осмолярность цитоплазмы и создает условия для протекания в ней биохимических реакций. Поступление К в клетку через плазматическую мембрану определено многими факторами. Калиевые каналы обеспечивают пассивную проницаемость мембраны для катиона, при этом движение К определено величиной электрического потенциала и градиентом концентрации. Калиевые каналы могут находиться в открытом и закрытом состоянии, пассивный поток К в клетку определен именно количеством открытых в данный момент каналов. Высокая проницаемость мембран клеток для К, особенно в состоянии возбуждения, и «относительная непроницаемость» для Na, приводят к возникновению разности потенциалов на плазматической мембране.

Стабильность содержания К в организме является следствием сбалансирования процессов его поступления и выделения. Поступление К с пищей является самым важным в регуляции общего пула катиона. Взрослый человек потребляет ежедневно 80-100 ммоль К. От 85 до 90% К, принятого с пищей, экскретируют почки. При отсутствии К в пище в течение нескольких дней с мочой выделяется 40-60 ммоль/сутки, после чего потеря К с мочой уменьшается до 10-20 ммоль/сутки. 10-15% потребленного с пищей К выводится через ЖКТ. Этот путь выведения катиона может быть усилен в условиях гиперсекреции минералокортикоидов и почечной недостаточности. Через кожу значительное количество К может быть выделено только в случае интенсивного потоотделения.

Клетки нервной и мышечной систем быстро реагируют на снижение уровня К в плазме, что объясняет раннее появление симптоматики – гипотония мышц, слабость и астения, ослабление рефлексов. Некоторые случаи гипокалиемии приводят к явлениям паралича и даже рабдомиолиза. Выраженная гипокалиемия сопровождается возникновением нарушения проводимости и ритма сердечной деятельности, что отражается на ЭКГ (уменьшение амплитуды зубцов, инверсия зубца Т, расширение интервала S-T и появление зубца U). При хроническом дефиците К увеличиваются размеры сердца, возникают нарушения ритма, при резком снижении уровня К в плазме возможна остановка сердца в систоле.

Симптомы гиперкалиемии зависят от скорости нарастания содержания катиона в плазме и связаны с изменением мембранного потенциала нейронов и мышечных клеток. Нейромышечные симптомы гиперкалиемии выражаются в парестезиях, а в более тяжелых случаях – в восходящем параличе конечностей. Выраженность кардиальных симптомов зависит от степени

повышения К в плазме – от минимальных изменений ЭКГ до серьезных нарушений ритма и проводимости (поперечная блокада и фибрилляция желудочков). При концентрации К выше 6 ммоль/л, как правило, обнаруживают изменения ЭКГ (заострение зубца Т, удлинение зубца Р и интервала Р-Р, расширение комплекса QRS, элевация или депрессия сегмента ST), которые при прогрессировании гиперкалиемии становятся все более выраженными. При уровне К выше 7 ммоль/л отмечено развитие аритмии сердца с летальным исходом, при концентрации К выше 10 ммоль/л сердце может остановиться в диастоле. В клинике продолжительная гиперкалиемия чаще всего является следствием хронической почечной недостаточности.

Калий в крови

В клинической биохимии обмен К оценивают на основании его содержания в плазме крови (внутрисосудистый пул), хотя в нем содержится не более 2% от общего количества катиона. Подавляющая часть К в организме находится внутри клеток, и его концентрация в плазме, которая лишь приблизительно отражает общее содержание элемента в организме, может колебаться в значительных пределах, особенно при тяжелых патологиях. Она тесно связана с состоянием кровообращения и кислотно-основным равновесием, поэтому определение К в плазме или сыворотке крови – один из важнейших показателей в период реанимации.

Существенное влияние на уровень К в плазме крови оказывает нарушение рН крови. Метаболический ацидоз вызывает перемещение ионов водорода внутрь клетки в обмен на внутриклеточный К, что приводит к снижению содержания калия в тканях. При алкалозе, напротив, наблюдается возрастание содержания К в тканях. На уровень К в плазме влияет содержание в крови аниона HCO_3^- , которое отражает степень катаболических процессов.

Снижение концентрации калия в крови возникает при недостаточном поступлении К с пищей, усиленной потере почками (прием диуретиков, диуретическая стадия острой почечной недостаточности, тубулярный ацидоз, повышение секреции АДГ, избыток минералокортикоидов и др.); увеличении потерь при рвоте или поносе, внутривенном введении больших объемов жидкости, не содержащей К, перераспределении К между вне- и внутриклеточной жидкостью (острый и хронический метаболический ацидоз, острый респираторный алкалоз, введение инсулина или глюкозы). Наиболее частой причиной гипокалиемии является повышенная потеря К почками, недостаточное потребление К редко вызывает гипокалиемию.

Гипокалиемия может иметь место у алкоголиков даже при небольшом повышении в крови содержания Na. Употребление больших количеств пива также приводит к гипокалиемии и гипонатриемии; в пиве содержится очень мало солей.

Гиперкалиемия может развиваться в случаях повышенного поступления К (прием избытка К при терапии диуретиками, парентеральное введение, переливание крови с просроченным сроком хранения), перераспреде-

ления К между водными пространствами (повреждение тканей, активация катаболических процессов, системный ацидоз), снижения выведения K^+ (острая и хроническая почечная недостаточность, длительный прием калийсберегающих диуретиков, недостаточность минералкортикоидов).

Гиперкалиемия при недостаточности надпочечников сопровождается низким уровнем Na в плазме крови, гипокалиурией, высокой активностью ренина. Гиперкалиемия при селективной недостаточности альдостерона сопровождается низким уровнем ренина и нарушением содержания кортизола в крови. Нарушения метаболизма углеводов при острой и хронической почечной недостаточности провоцируют гиперкалиемию и метаболический алкалоз.

Частой причиной повышенного содержания К в плазме крови является несоблюдение условий взятия крови. Наиболее частая ошибка – гемолиз. При большом количестве тромбоцитов или лейкоцитов, что имеет место в случаях миелопролиферативных заболеваний, может возникнуть псевдогиперкалиемия из-за повышенного выхода К из клеток.

Показания к исследованию

- Заболевания сердечно-сосудистой системы (аритмии, артериальная гипертензия);
- патология почек;
- недостаточность надпочечников;
- контроль терапии диуретиками, сердечными гликозидами;
- проведение гемодиализа.

Особенности взятия и хранения образца

Сыворотка крови без признаков гемолиза. Взятие крови проводить с минимальным пережатием вены без мышечной нагрузки. Образцы стабильны не более 3 ч при комнатной температуре.

Метод исследования

Определение концентрации ионов калия в крови в настоящее время проводят преимущественно ионоселективным методом.

Референсный интервал

3,5-5,1 ммоль/л.

Повышенные значения

- Гипоальдостеронизм первичный и вторичный;
- острая почечная недостаточность;
- прием ингибиторов АПФ; калийсберегающих диуретиков;
- диабетический кетоацидоз;
- повышенный распад клеток и тканей (внутрисосудистый гемолиз, рабдомиолиз, длительное голодание, судороги, тяжелые травмы, глубокие ожоги, разрушение опухолевых клеток);
- дегидратация.

Пониженные значения

- Гиперальдостеронизм первичный и вторичный;
- гиперкортицизм;
- нарушение функции почек;
- повышенная потеря калия через ЖКТ;
- гипергликемия;
- гипотермия;
- недостаток поступления калия в организм (хроническое голодание, анорексия).

Калий в моче

Ионы К свободно фильтруются через гломерулярную мембрану. Содержание К в первичном фильтрате соответствует таковому в плазме крови, при учете различия в содержании белка. Далее 50-70% К реабсорбируется в проксимальном (извитом) сегменте нефрона. Экскреция К является результатом сочетания процессов фильтрации, реабсорбции и секреции. При патологии большое значение имеют экстраренальные пути выделения К. В условиях гиперкалиемии в извитых канальцах подавляется реабсорбция как К, так и воды.

Факторы, которые могут изменить электрохимический потенциал мембраны клеток извитого канальца, оказывают влияние на экскрецию калия. К ним относятся: КОР, скорость протекания мочи по дистальному канальцу, действие минералокортикоидов, поступление нереабсорбируемых в дистальном канальце анионов бикарбоната (HCO_3^-) при почечном канальцевом ацидозе и др.

Альдостерон увеличивает поступление К в клетки и экскрецию его с мочой, контролируя реабсорбцию в дистальных канальцах. Гиперкалиемия, в свою очередь, стимулирует секрецию альдостерона. Введение большой дозы глюкокортикоидов вызывает гиперкалиемию и усиливает калийурез. Экскреция ионов К в почках имеет циркадный ритм, с минимумом в ночное время, она быстро возрастает в ответ на нагрузку катионом.

Увеличение выведения калия с мочой происходит при нарушениях КОР, приеме мочегонных средств. При недостаточности коры надпочечников экскреция К с мочой снижается и может развиваться гиперкалиемия. В то же время, при гиперактивности коры надпочечников, гиперальдостеронизме, усиленная реабсорбция Na приведет к повышенному выделению К и угрожающей гипокалиемии (2,4-1,6 ммоль/л).

Показания к исследованию

- Заболевания сердечно-сосудистой системы (аритмии, артериальная гипертензия);
- патология почек;
- недостаточность надпочечников;
- контроль терапии диуретиками, сердечными гликозидами.

Метод исследования:

Определение концентрации ионов калия в моче проводят ионоселективным методом.

Референсный интервал

25-125 ммоль/сутки.

Повышенные значения

- Длительный прием тиазидных и петлевых диуретиков;
- первичный и вторичный гиперальдостеронизм;
- гиперкортицизм;
- заболевания почек;
- прием гормональных препаратов (АКТГ, кортикостероиды).

Пониженные значения

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Острая почечная недостаточность, терминальная стадия хронической почечной недостаточности; • заболевания почек со снижением гломерулярной фильтрации (гломерулонефрит, хронический пиелонефрит, внепочечная уремия); | <ul style="list-style-type: none"> • гипокортицизм, • гипоальдостеронизм; • прием ингибиторов АПФ, избыточное введение калийсберегающих диуретиков; • гипоксия тканей; • ацидоз. |
|---|---|

Кальций

В организме человека более 98% Са фиксировано в костной ткани, и только 1-2% находится в мягких тканях и внеклеточной жидкости, в т.ч. в крови. В сыворотке крови 40% Са циркулирует в комплексе с белками, 9% в виде солей (фосфаты, цитрат), оставшиеся 50% присутствуют в ионизированной (свободной) форме (Ca^{2+}) и поэтому способны диффундировать в межклеточную жидкость. Именно свободный кальций является регулятором внутриклеточных процессов.

Физиологически действие Са связано с регуляцией проницаемости клеточных мембран. В клетке его концентрация очень мала, с наружной стороны плазматической мембраны содержание Ca^{2+} многократно выше. Установление такого баланса концентраций обеспечивается энергозависимой работой мембранных каналов и насосов. Благодаря низкому содержанию Ca^{2+} в цитоплазме и высокому градиенту концентрации по обе стороны плазматической мембраны, этот ион имеет важное значение в регуляции жизнедеятельности клеток. Плазматическая мембрана клеток обладает низкой проницаемостью для кальция; выведение иона из клетки является энергозависимым. Изменение проводимости кальциевых каналов мембраны и внутриклеточного содержания Ca^{2+} меняет функционирование многих систем, включая процессы клеточного деления. Ионы кальция играют важную роль при передаче нервных импульсов, сократимости мышц, в процессе свертывания крови, являются кофакторами ряда ферментных реакций. Определение уровня кальция – диагностически и прогностически значимый тест при целом ряде патологических состояний.

Для поддержания нормального уровня кальция в сыворотке крови необходимо достаточное поступление его с пищей. На поступление кальция в организм влияет его содержание в продуктах питания и их состав. Присутствие в пище веществ, связывающих кальций, в первую очередь, фосфатов и ЖК, существенно уменьшает его абсорбцию. Всасывание кальция происходит преимущественно в проксимальном отделе тонкой кишки и в тощей кишке. В кишечнике абсорбируется от 30 до 70% кальция, поступившего с пищей.

Клинически гиперкальциемия проявляется в виде нарушения работы почек (полиурия, мочекаменная болезнь), ЖКТ (тошнота, рвота, запоры), сердца (укорочение интервала Q–T на ЭКГ), неврологическими симптомами (слабость, утомляемость, спутанность сознания, ступор и кома). Клинические проявления гиперкальциемии более выражены при быстром ее развитии.

Клинические проявления гипокальциемии различаются в зависимости от степени снижения уровня кальция. Мышечная утомляемость, слабость, подергивание отдельных групп мышц, положительные симптомы Хвостека, Труссо, Люста отмечают при легкой степени гипокальциемии. Алкалоз увеличивает связанную с альбумином фракцию кальция, обостряя симптомы. Тяжелая гипокальциемия вызывает сонливость, спутанность сознания, отмечают спазмы гладкой мускулатуры, гипертонус и судороги, удлинение интервала QT на ЭКГ. Хроническая гипокальциемия может стать причиной катаракты и кальцификации базальных ганглиев.

Обмен кальция в организме тесным образом связан с обменом фосфора. К основным факторам, регулирующим метаболизм фосфатов и кальция, относятся ПТГ, кальцитонин и витамин D. При возникновении гипокальциемии происходит увеличение синтеза ПТГ, который обеспечивает усиление канальцевой реабсорбции и снижение выделения кальция с мочой. Одновременно под влиянием ПТГ повышается экскреция фосфора почками, что приводит к снижению концентрации фосфора в сыворотке крови и внеклеточной жидкости и последующему увеличению уровня кальция в крови. Гиперфосфатемия сопровождается снижением концентрации кальция, что приводит к стимуляции выброса ПТГ, снижению канальцевой реабсорбции фосфата и увеличению его экскреции почками.

Содержание Са в сыворотке крови и моче изменяется при дисфункции паращитовидных и щитовидной желез, новообразованиях разной локализации, особенно при метастазировании в кости, почечной недостаточности. Длительная гиперкальциемия в сочетании как с гипер-, так и с нормофосфатемией может быть причиной отложения фосфата кальция в стенке кровеносных сосудов, соединительной ткани, слизистой оболочке желудка, других органах и тканях.

Кальций в крови

В сыворотке крови примерно половина ионов кальция находится в ионизированной (свободной) форме, остальные присутствуют в комплексе с

белками или в составе различных солей. Хотя именно уровень биологически активного, ионизированного кальция отражает состояние кальциевого обмена, в лабораторной практике используется определение концентрации как свободного, так и общего кальция в крови. Снижение концентрации общего кальция в сыворотке (гипокальциемия) может быть обусловлено уменьшением количества кальция, связанного с альбумином, или ионизированной фракции, либо их сочетанием. Наиболее распространенной причиной низкого уровня кальция в крови является гипоальбуминемия, при которой снижается содержание общего кальция в крови, но концентрация ионизированного кальция остается нормальной. Измерение уровня ионизированного кальция параллельно с определением уровня общего кальция дает более полную диагностическую информацию.

Именно уровень ионизированного кальция в крови регулируется ПТГ, кальцитонином, активной формой витамина D₃, продукция которых зависит от концентрации кальция в крови. Снижение концентрации свободных ионов кальция приводит к повышению нейромышечной возбудимости и появлению синдрома тетании, вызывает судороги, бронхоспазм и ларингоспазм, удлинение интервала Q–T на электрокардиограмме. Концентрация ионизированного кальция меняется в течение суток: максимальная концентрация в 20 ч, минимальная в 2–4 ч ночи. Уровень свободного кальция в крови зависит от концентрации в крови магния, существенно меняется при нарушениях КОР: алкалоз увеличивает связывание и снижает концентрацию, тогда как ацидоз, напротив, снижает связывание и увеличивает концентрацию ионизированного кальция в крови. Определение свободного кальция необходимо для оценки состояния кальциевого обмена у пациентов при хирургических операциях, в реанимации, при приеме препаратов, содержащих кальций, магний, гепарин.

Показания к исследованию

Кальций общий

- Судорожный синдром, парестезии;
- гипотония мышц;
- боли в костях;
- аритмии и нарушение сосудистого тонуса;
- диагностика и скрининг остеопороза;
- патология почек;
- злокачественные новообразования, метастазы, заболевания крови;
- нарушения функционирования паращитовидных или щитовидной желез;
- язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, панкреатит;
- гранулематозные заболевания.

Кальций ионизированный:

- Гипер- и гипокальциемия, особенно в сочетании с диспротеинемией;
- состояние после переливаний цитратной крови, введения гепарина;
- обширные травмы, хирургическое вмешательство, сепсис, ожоги;

- хроническая почечная недостаточность;
- нефротический синдром;
- мальабсорбция;
- множественная миелома;
- нарушения КОР.

Особенности взятия и хранения образца

Кальций общий

Сыворотка или плазма (гепарин), тщательно и быстро отделенные от клеточных элементов крови. Не использовать в качестве антикоагулянтов оксалат, цитрат или ЭДТА. Взятие крови проводить с минимальным пережатием вены, без мышечной нагрузки.

Кальций ионизированный

Сыворотка или плазма (гепарин), тщательно и быстро отделенные от клеточных элементов крови. Проба крови должна быть взята в анаэробных условиях. Не использовать в качестве антикоагулянтов оксалат, цитрат или ЭДТА. Образцы хранить в тщательно закупоренной посуде.

Метод исследования

Кальций общий

Наибольшее распространение в современной лабораторной практике приобрели колориметрические методы, основанные на взаимодействии кальция сыворотки крови с реагентами, дающими окрашенные соединения с четким спектром поглощения.

Кальций ионизированный

Определение концентрации ионизированного кальция в крови в настоящее время проводят преимущественно ионоселективным методом.

Референсный интервал, ммоль/л

Общий кальций – 2,15-2,5.

Ионизированный кальций – 1,15-1,27.

Повышенные значения

Кальций общий

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • эндокринные заболевания (гипер- и гипотиреоз, гиперпаратиреоз, акромегалия, феохромоцитомы, снижение продукции кальцитонина); • гипервитаминоз D₃; • злокачественные новообразования, метастазы в костную ткань; заболевания крови; • иммобилизационная гиперкальциемия (травмы, болезнь Педжета, туберкулез и т.п.); | <ul style="list-style-type: none"> • увеличение концентрации белка; • язвенная болезнь желудка; • острая почечная недостаточность; • семейная доброкачественная гиперкальциемия, идиопатическая гиперкальциемия новорожденных (синдром Вильямса); • ацидоз; • ятрогенные влияния. |
|---|---|

Кальций ионизированный

- первичный гиперпаратиреоз, псевдогиперпаратиреоз;
- гиповитаминоз D₃;
- злокачественные новообразования, метастазы в костную ткань, заболевания крови;
- ацидоз;
- прием тиазидных диуретиков, андрогенов, препаратов лития.

Пониженные значения

Кальций общий

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Гипопаратиреоз первичный, вторичный, псевдогипопаратиреоз; • гиповитаминоз витамина D₃; • заболевания тонкого кишечника (энтериты); острый панкреатит; | <ul style="list-style-type: none"> • хронические заболевания почек (нефрозы, нефриты); • гипоальбуминемия (печеночная недостаточность, цирроз печени); • гипомагниемия, гиперфосфатемия; • алкалоз. |
|---|---|

Кальций ионизированный

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • первичный гипопаратиреоз, псевдогипопаратиреоз; • гиповитаминоз витамина D₃; • хронические заболевания почек, почечная недостаточность; • тяжелые поражения скелетных мышц, состояние после обширных травм, хирургических вмешательств, ожогов; | <ul style="list-style-type: none"> • сепсис; • острый панкреатит; • гипомагниемия, гиперфосфатемия; • алкалоз. |
|---|--|

Кальций в моче

Са из организма удаляется преимущественно с мочой. Количество выводимого с мочой Са определяется эффективностью всасывания его в кишечнике, активностью процессов выведения из костной ткани и, конечно, интенсивностью почечной фильтрации (в норме фильтруется примерно 60% Са сыворотки крови) и реабсорбции (реабсорбируется примерно 87-98% профильтрованного Са). На экскрецию Са с мочой влияет экскреция других электролитов: содержание Са в моче обычно пропорционально содержанию в ней Na, ионы сульфата увеличивают экскрецию Са.

Гиперкальциурия может наблюдаться как при нормальном, так и при повышенном уровне ионов Са в крови. Наиболее частые причины нормокальциемической гиперкальциурии – идиопатическая гиперкальциурия, известны две ее формы. Абсорбтивная гиперкальциурия вызывается повышенным синтезом активной формы витамина D-1,25-гидроксикальциферола или интенсивной абсорбцией кальция из тонкой кишки. Ренальная гиперкальциурия обусловлена снижением тубулярной реабсорбции Са и сопровождается компенсаторным повышением абсорбции Са из ЖКТ. На реналь-

ную гиперкальциурию не влияет уменьшение количества Са в пище. При злокачественных новообразованиях гиперкальциурия может протекать как на фоне гиперкальциемии, так и при нормальном содержании Са в крови.

Гипокальциурия – снижение концентрации Са в моче – возникает при нефритах, выраженном гипопаратиреозе, гиповитаминозе D, гипотиреозе.

Показания к исследованию

- Диагностика гипо- и гиперпаратиреоза;
- остеопороз, болезни костей, патологические переломы костей;
- эндокринные заболевания (патология щитовидной железы, гипофиза);
- диагностика и мониторинг терапии рахита;
- заболевания почек и почечнокаменная болезнь;
- злокачественные новообразования.

Особенности взятия и хранения образца

Моча суточная, после сбора подкислить 6 М HCl до pH<2,0.

Метод исследования

Наибольшее распространение в современной лабораторной практике приобрели колориметрические методы, основанные на взаимодействии кальция с реагентами, дающими окрашенные соединения с четким спектром поглощения.

Референсный интервал

2,5-7,5 ммоль/сутки

Пониженные значения

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Гипопаратиреоз, псевдогипопаратиреоз; • гиповитаминоз D3; • рахит, остеомалация; • гипотиреоз; • нефриты; | <ul style="list-style-type: none"> • злокачественные новообразования, метастазы; • гипомагниемия; • стеаторея, острый панкреатит, заболевания тонкого кишечника; • поздние сроки беременности. |
|---|--|

Повышенные значения

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Идиопатическая гиперкальциурия; • эндокринные заболевания (гиперпаратиреоз; тиреотоксикоз, акромегалия, феохромоцитома, недостаточность надпочечников, гипофункция С-клеток щитовидной железы, болезнь Иценко-Кушинга); • гипервитаминоз D; | <ul style="list-style-type: none"> • злокачественные новообразования, метастазы; множественная миелома; • иммобилизационная гиперкальциемия; • остеопороз; • метаболические, в т.ч. тубулярные ацидозы; • синдром Фанкони; • прием диуретиков. |
|---|--|

Магний

Mg присутствует во всех тканях организма, более половины его находится в костной ткани. Общее содержание магния в организме человека составляет около 25 г, наибольшую концентрацию иона отмечают в тканях с интенсивным обменом веществ. Ионы магния преимущественно содержатся внутри клетки, где они связаны с белками; присутствуют в ядре, митохондриях, цитоплазматическом ретикулуме; в цитоплазме около 80% магния находится в комплексе с АТФ. Внеклеточный магний (в т. ч. магний плазмы крови) составляет лишь 1% от общего количества, содержащегося в организме.

Магний является облигатным кофактором многих ферментативных реакций: необходим для реакций гликолиза, для образования АТФ при окислительном фосфорилировании в митохондриях. Магний выступает в роли физиологического регулятора клеточного роста, поддерживая адекватный запас пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, необходимых для синтеза ДНК и РНК. Истощение запасов Mg^{2+} в клетке приводит к снижению синтеза белка; магний необходим на всех этапах синтеза белковой молекулы. Активация и ингибирование системы ц-АМФ, медиатора многих физиологически активных веществ, связаны с магнием: он повышает активность аденилатциклазы и формирование циклического АМФ.

Магний поступает в организм с пищей и водой. Сбалансированная диета содержит 300-350 мг/сут, недостаток магния в пище может быть причиной дефицита элемента в организме. Главным источником магния являются орехи, овес, зелень, мясо. Большая часть магния абсорбируется в тонком кишечнике. Витамин D и его метаболиты повышают абсорбцию Mg, но в меньшей степени, чем Ca. Избыток в пище органических кислот связывает Mg, нарушая его всасывание. При усиленном поступлении Mg с пищей, при парентеральном введении, избыток катиона быстро экскретируется почками, которые являются основным регулятором поддержания постоянной концентрации Mg в организме. При истощении запасов Mg его экскреция снижается или прекращается вообще.

Активное участие Mg в различных физиологических процессах является основой многообразия клинической симптоматики при гипо- и гипермагниемии. Расстройства, связанные с дефицитом магния, имеют сложный характер и обычно сопровождаются множественными нарушениями обмена веществ. Клинические симптомы недостаточности Mg носят преимущественно неврологический характер: сонливость, слабость, раздражительность, тетания, тремор и фасцикуляции (подергивания) мышц, также отмечают тошноту и рвоту. Неврологические симптомы, особенно тетания, коррелируют с развитием гипокальциемии и гипокалиемии.

Недостаток магния в организме человека выявляют при многих ССЗ. Магний оказывает влияние на функциональное состояние эндотелия, уча-

ствующего в регуляции сосудистого тонуса, гемостаза, иммунного ответа, миграции клеток крови в сосудистую стенку, синтеза факторов воспаления и их ингибиторов. Неблагоприятные эффекты дефицита магния отмечают в виде повышения тонуса коронарных сосудов, увеличения чувствительности к вазоконстрикторным агентам (серотонин, ангиотензин, норадреналин, ацетилхолин), развития гипертензии и аритмии. У больных ИБС содержание Mg в сыворотке крови часто понижено; резкое падение концентрации Mg в крови может быть одной из причин внезапной смерти. При гипомагниемии отмечают изменения данных ЭКГ: удлинение интервала Q-T и PR(Q); депрессия сегмента ST; инверсия зубца T и др.

Гипомагниемия наблюдается при разнообразной эндокринологической патологии: тиреотоксикоз, первичный гипоальдостеронизм, около 30% больных СД имеют разную степень гипомагниемии. Концентрация магния оказывает влияние на уровень ПТГ: как повышенное, так и пониженное содержание иона в крови угнетает секрецию гормона. При значительном снижении содержания магния в крови часто наблюдают выраженную гипокальциемию, что, по мнению многих исследователей, является следствием развития острого гипопаратиреоза, вызванного торможением секреции ПТГ. Неэффективность лечения гипокальциемии витамином D в ряде случаев обусловлена именно гипомагниемией; инъекции сульфата магния способствуют нормализации уровня кальция.

Физиологически магнием выступает как антагонист кальция; его дефицит сопровождается накоплением кальция в сыворотке крови. Гиперкальциемия, понижая реабсорбцию Mg в почечных канальцах, в свою очередь способствует гипомагниемии.

При гипермагниемии, наряду с неврологической симптоматикой (параличи, атаксия, сонливость, нарушения сознания), отмечают расстройства функционирования ЖКТ (тошнота и рвота), гипотензию, брадикардию, изменения данных ЭКГ (удлинение интервалов P-R и QT, расширение комплексов QRS). Значительное увеличение концентрации магния может быть причиной комы, остановки сердца и дыхания.

Гипермагниемия может быть вызвана избытком поступления иона, нарушением работы почек, наблюдается также при гипотиреозе, лактацидозе, гепатите, злокачественных новообразованиях.

Магний в крови

В сыворотке крови примерно половина ионов магния, как и кальция, находится в ионизированной (свободной) форме, другая половина находится в комплексе с белками или в форме различных солей. Причинами изменения концентрации магния в крови главным образом являются нарушения поступления иона через ЖКТ и/или расстройство работы почек.

Гипомагниемия часто развивается вследствие потери или недостаточного поступления Mg через ЖКТ. Потери Mg велики при острой и хронической диспепсии, энтеритах, язвенном колите, наличии кишечной

фистулы. 20% выраженных гипомагниемий приходится на острую непроходимость кишечника и отечный панкреатит. Снижено содержание Mg в крови при алкоголизме. Повышенная экскреция магния, вызванная поражением почечных канальцев, гормональными нарушениями, интоксикацией, ятрогенными влияниями также является распространенной причиной гипомагниемий. Гиперкальциемия, понижая реабсорбцию Mg в канальцах, способствует гипомагниемии.

Физиологическое понижение концентрации магния в крови может происходить при повышенной потребности организма в макроэлементе в период активного роста, при беременности, при значительной физической нагрузке.

Повышение уровня магния в крови обнаруживается при нарушениях функции почек, обезвоживании, тяжелом диабетическом ацидозе и болезни Аддисона. Гипермагниемия отмечают при гипотериозе, лактацидозе, гепатите, злокачественных новообразованиях, почечной недостаточности.

Показания к исследованию

- Неврологическая патология;
- гипертония, аритмия;
- заболевания почек;
- заболевания эндокринной системы (гипер- и гипотиреоз, акромегалия, феохромоцитома, недостаточность надпочечников, гипофункция С-клеток щитовидной железы, сахарный диабет и др.);
- прием диуретиков и других лекарственных препаратов, действие или побочные эффекты которых включают изменения уровня магния (аминогликозиды, циклоспорин и др.).

Особенности взятия и хранения образца

Взятие крови проводить с минимальным пережатием вены, без мышечной нагрузки. Не использовать в качестве антикоагулянтов оксалат, цитрат или ЭДТА. Сыворотку или плазму (гепарин) следует тщательно и быстро отделить от клеточных элементов крови.

Метод исследования

Наиболее распространенными в современной лабораторной практике являются колориметрические методы определения содержания ионов магния, основанные на образовании окрашенных комплексов, специфичных для магния.

Референсный интервал

0,85-1,15 ммоль/л.

Повышенные значения

- Почечная недостаточность;
- недостаточность надпочечников;
- передозировка препаратов магния, лития, слабительных препаратов, антацидов;
- обезвоживание.

Пониженные значения

- Недостаточное поступление магния с пищей;
- нарушения всасывания магния (синдром мальабсорбции, диарея и др.);
- заболевания почек;
- эндокринные заболевания (гипертиреоз, первичный альдостеронизм, диабет и др.);
- длительная терапия диуретиками, применение цитостатиков, иммунодепрессантов, циклоспорина;
- хронический алкоголизм;
- гиперкальциемия;
- 2-й и 3-й триместры беременности, избыточная лактация;
- первичная гипомagneмия;
- гиповолемия, стресс, острые инфекционные заболевания.

Магний в моче

Магний выводится из организма преимущественно с мочой. После фильтрации в почечных клубочках, 10% катиона реабсорбируется в проксимальных канальцах, 70% – в кортикальной толстой части восходящей ветви петли Генле, 10% – в дистальных канальцах. Повышенное выведение с мочой натрия и кальция приводит к увеличению количества теряемого с мочой магния. Глюкагон и кальцитонин способствуют снижению экскреции магния с мочой.

Уровень магния в моче понижается значительно раньше развития гипомagneмии, поэтому данный тест важен для раннего выявления нарушений обмена магния. При отсутствии патологии почек избыток магния выводится из организма с мочой, при дефиците магния его экскреция значительно снижается. Повреждения канальцев почек, снижающие реабсорбцию, приводят к усиленному выведению магния с мочой.

Избыточное выведение магния с мочой и развитие его дефицита может быть следствием алкоголизма, СД (осмотический диурез), гиперкальциемии, приема петлевых диуретиков, аминогликозидных антибиотиков.

Показания к исследованию

- Заболевания почек;
- неврологическая патология;
- гипертония, аритмия;
- заболевания эндокринной системы (гипер- и гипотиреоз, акромегалия, феохромоцитомы, недостаточность надпочечников, гипофункция С-клеток щитовидной железы, СД и др.);
- прием диуретиков и других лекарственных препаратов, действие или побочные эффекты которых включают изменения уровня магния (аминогликозиды, циклоспорин, и др.).

Особенности взятия и хранение образца

Моча суточная, после сбора подкислить 6 М HCl до pH 1,0.

Метод исследования

Наиболее распространенными в современной лабораторной практике являются колориметрические методы определения содержания магния, осно-

ванные на образовании окрашенных комплексов, специфичных для магния.

Референсный интервал

3-5 ммоль/сут.

Повышенные значения

- Заболевания почек, сопровождаемые усиленной экскрецией магния с мочой (хронический пиелонефрит, интерстициальный нефрит, гломерулонефрит, диуретическая фаза острого тубулярного некроза, постобструктивная нефропатия, почечноканальцевый ацидоз, посттрансплантационный период пересадки почки);
- заболевания эндокринной системы (гипер- и гипотиреоз, акромегалия, феохромоцитомы, острая надпочечниковая недостаточность, первичный гипoadостеронизм, гипофункция С-клеток щитовидной железы);
- осмотический диурез (глюкозурия у больных сахарным диабетом, терапия маннитолом, повышенный синтез мочевины);
- метаболический ацидоз (голодание, кетоацидоз, алкоголизм);
- гиперкальциемия;
- парентеральная инфузионная терапия;
- прием диуретиков, цитостатиков, иммунодепрессантов, препаратов лития и др.;
- метаболический ацидоз (голодание, кетоацидоз, алкоголизм);
- злокачественные новообразования;
- гепатиты.

Пониженные значения

- Нарушения работы ЖКТ (синдром мальабсорбции; резекция части кишечника; острая и хроническая диарея; кишечный или желчный свищ; недостаток белковой пищи; острый геморрагический панкреатит);
- почечная недостаточность;
- первичная неонатальная гипомагниемия.

Натрий

В организме взрослого человека содержится приблизительно 100 г Na, около половины (40-45%) присутствует в костной ткани. Na – основной катион внеклеточной жидкости, где содержится примерно 50% иона, концентрация его в клетке существенно меньше. Различия в концентрациях электролитов в клетке и внеклеточной жидкости поддерживаются с помощью механизма активного транспорта ионов, который осуществляется при участии так называемого натриево-калиевого насоса. Эта энергозависимая система, локализованная на клеточных мембранах клеток всех типов, выводит из клеток Na^+ в обмен на K^+ . Изменение соотношения Na во внеклеточном и внутриклеточном пространстве влечет за собой перераспределение объемов внутри- и внеклеточной жидкости, изменение осмо-

тического давления, развитие отеков и обезвоживания. Повышенное или пониженное содержание Na во внутрисосудистом пространстве определяет соотношение потоков жидкости: увеличение объема циркулирующей крови или выход воды в межклеточное пространство (отеки).

Натрий необходим для проведения нервных импульсов и образования костной ткани, обладает рядом регуляторных влияний: увеличение внутриклеточной концентрации Na усиливает транспорт глюкозы в клетку; транспорт аминокислот в клетки также является Na-зависимым.

Ионы Na поступают в организм с пищей, их всасывание происходит преимущественно в тонком кишечнике. Удаление Na из организма осуществляется главным образом с мочой, незначительная часть выделяется с потом, 2-3% – с калом. В почках ион после клубочковой фильтрации реабсорбируется в канальцах. Экскреция натрия почками зависит от скорости клубочковой фильтрации: ее повышение увеличивает выведение натрия, уменьшение – снижает. На активность реабсорбции ионов Na существенное влияние оказывает концентрация альдостерона в организме, секреция которого корой надпочечников находится под контролем ренин-ангиотензиновой системы.

Баланс натрия зависит главным образом от функции почек, секреции альдостерона корой надпочечников, функционирования ЖКТ. Основные проявления гипернатриемии обусловлены вовлечением в процесс ЦНС. При острой гипернатриемии могут наблюдаться неврологические симптомы, а также тошнота, рвота, судороги, кома, нарушения терморегуляции. При гипонатриемии появляется тошнота, рвота, судороги, в тяжелых случаях – кома, отек мозга.

Натрий в крови

Для Na колебания значений в пределах референсного интервала (136-145 ммоль/л) составляют 7% его содержания, т.е. его концентрация в крови в сравнении с другими анализатами поддерживается в существенно более узком пределе. Поддержание концентрации Na в плазме крови является результатом сочетанного действия многих регуляторных факторов: гипоталамус, гипофиз и эпифиз, надпочечники, почки, стенка предсердий.

Накопление Na в крови может быть следствием как снижения содержания в организме воды, так и избытка натрия. Гипернатриемия наблюдается при ограничении приема воды, нарушении функции почек, продолжительных рвоте и поносе без возмещения жидкости, состоянии сильного потоотделения, недостатке калия, некоторых эндокринных патологиях (болезнь Иценко-Кушинга, синдром Кушинга, недостаток антидиуретического гормона (АДГ) или резистентность к нему, нарушение процессов в гипоталамической области мозга).

Гипонатриемия развивается при разнообразных патологических состояниях: обширные ожоги, заболевания почек, сопровождающиеся потерей натрия, СД, недостаточность коры надпочечников. Частой причиной гипонатриемии является применение диуретиков: большинство этих препа-

ратов активирует экскрецию Na с мочой, последствием может быть снижение общего содержания Na в организме и уменьшение внеклеточного водного пространства.

Гипонатриемия характерна для застойной сердечной недостаточности, поскольку вследствие снижения сердечного выброса происходит падение скорости тока крови через почки и активация секреции АДГ.

Снижение концентрации Na отмечают при патологии ЖКТ: продолжительная диарея, наличие илеостомы. Причиной гипонатриемии может быть и недостаточное (менее 8-6 г в сут) поступление натрия в организм вследствие голодания или при бессолевой диете.

Первичная недостаточность надпочечников (болезнь Аддисона) сопровождается очень низкой секрецией всех кортикоидных гормонов, включая альдостерон. В этих условиях значительное количество Na экскретируется с мочой. При СД наличие кетоацидоза сопровождается усиленной потерей Na, результатом является развитие гипонатриемии и снижение общего содержания Na в организме. Гипонатриемия сопровождается и выраженную гипергликемию.

Показания к исследованию

- Заболевания почек;
- признаки обезвоживания или отеки;
- нарушения работы ЖКТ (диарея, рвота);
- эндокринные нарушения (изменение функции надпочечников, гипоталамуса, гипофиза и др.);
- применение диуретиков.

Особенности взятия и хранения образца

Взятие крови проводить с минимальным пережатием вены без мышечной нагрузки. Хранить образец не более 3 ч при комнатной температуре.

Метод исследования

Определение концентрации натрия в крови в настоящее время проводят преимущественно ионоселективным методом.

Референсный интервал

136-145 ммоль/л.

Повышенные значения

- Избыточное поступление натрия (введение натрийсодержащих растворов, повышенное потребление натрия с пищей);
- недостаток поступления воды в организм, дегидратация;
- заболевания почек, сопровождающиеся снижением гломерулярной фильтрации, активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, (гломерулонефрит, пиелонефрит, обструкция мочевых путей);
- хроническая почечная недостаточность;
- эндокринные заболевания (гиперальдостеронизм первичный и вторичный; гиперкортицизм, дефицит АДГ или резистентность почек к его воз-

действию);

- гормональная терапия (кортикостероиды, андрогены, эстрогены, АКТГ).

Пониженные значения

- Недостаток натрия в пище;
- длительная рвота, диарея, избыточное потоотделение;
- заболевания почек (почечная недостаточность, поликистоз, хронический пиелонефрит, почечный канальцевый ацидоз, обессоливающий нефрит, нефротический синдром);
- применение диуретиков;
- эндокринные заболевания (гипокортицизм, нарушения секреции АДГ, неконтролируемый СД);
- цирроз печени, печеночная недостаточность, хроническая сердечная недостаточность.

Натрий в моче

Содержание натрия в моче определяется его поступлением с пищей, работой почек и состоянием обмена воды в организме. Снижение концентрации натрия в моче отмечается при низком содержании в пище, интенсивном потоотделении, хроническом нефрите, приеме стероидных препаратов, увеличение – при гиперальдостеронизме, СД, нефритах с потерей солей, рассасывании отеков.

Выведение натрия из организма осуществляется преимущественно через почки, даже частичная почечная недостаточность ведет к нарушению гомеостаза натрия. Натрий относится к пороговым веществам, увеличение его концентрации в крови приводит к повышению экскреции. Гормоны коры надпочечников и задней доли гипофиза оказывают существенное влияние на уровень выделения натрия. Альдостерон вызывает задержку натрия в организме, при первичной недостаточности надпочечников количество Na, выделяемого с мочой, значительно возрастает. При СД кетоацидоз сопровождается усиленной потерей Na через почки.

Показания к исследованию

- Заболевания почек;
- признаки обезвоживания или отеки;
- нарушения работы ЖКТ (диарея, рвота);
- эндокринные нарушения (изменение функции надпочечников, гипоталамуса, гипофиза и др.);
- применение диуретиков.

Метод исследования

Определение концентрации ионов натрия в моче в настоящее время проводят преимущественно ионоселективным методом.

Референсный интервал

40-220 ммоль/сут.

Повышенные значения

- Избыточное поступление натрия (введение натрийсодержащих растворов, повышенное потребление натрия с пищей);
- заболевания почек (почечная недостаточность, поликистоз, хронический пиелонефрит и др.);
- эндокринные заболевания (гипоальдостеронизм, первичный и вторичный, гипокортицизм, неконтролируемый СД, синдром неадекватной секреции АДГ);
- применение диуретиков.

Пониженные значения

- Недостаточное потребление натрия;
- продолжительная рвота, диарея;
- заболевания почек (гломерулонефрит, пиелонефрит);
- эндокринные заболевания (гиперкортицизм, дефицит АДГ или резистентность почек к его воздействию);
- застойная сердечная недостаточность.

Фосфор

Фосфор содержится в большом спектре органических и неорганических соединений, является одним из обязательных элементов состава всех клеток и тканей животных и растений. В организме взрослого человека содержится примерно 600 г фосфора, 85% этого количества присутствует в костной ткани, где фосфор, наряду с кальцием, в составе гидроксилапатита представляет минеральную фазу. Фосфор костной ткани может переходить во внутри- и внеклеточный пул организма. В клетках других тканей фосфор находится в составе разнообразных органических молекул – нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), фосфолипидов, макроэргических соединений (АТФ, АДФ, креатинфосфат), коферментов, участвующих в крайне важных процессах метаболизма. Внутриклеточный фосфор – важнейший компонент, необходимый для регуляции метаболизма белков, жиров и углеводов, клеточного роста и транскрипции генов. В сыворотке крови присутствуют преимущественно неорганические соединения фосфора в виде моновалентных (H_2PO_4^-) и дивалентных анионов (HPO_4^{2-}) в свободной и связанной с белками форме, а также находятся в форме солей натрия, кальция и магния. Наибольшее диагностическое значение имеет определение неорганического фосфора.

Ежедневная потребность в фосфоре у взрослых составляет 1000-2000 мг; дефицит фосфора в пище практически не наблюдается. Абсорбция фосфора в наибольшей степени происходит в тощей кишке. Снижение активности этого процесса отмечено в условиях повышенной кислотности желудочного сока, приеме некоторых лекарственных препаратов (гидроксид алюминия), при увеличении содержания в пище кальция вследствие образования нерастворимых соединений с фосфором в кишечнике.

У здоровых взрослых лиц большая часть фосфора, абсорбированного в кишечнике, элиминируют почки. Около 90% фосфора в крови проходит через гломерулярную мембрану, оказываясь в первичной моче, затем фосфаты фактически полностью реабсорбируются в проксимальных канальцах нефрона, в дистальных канальцах происходит дополнительная секреция фосфатов.

Обмен фосфора в организме тесным образом связан с обменом кальция. К основным факторам, регулирующим метаболизм фосфатов и кальция, относятся паратиреоидный гормон (ПТГ), кальцитонин и витамин D.

ПТГ снижает количество неорганического фосфора в крови, активируя его выведение почками. При гиперпродукции ПТГ отмечают ингибирование реабсорбции фосфора и, следовательно, возрастание его экскреции. Первичный гипопаратиреоз характеризуется гиперфосфатемией.

1,25-дигидроксиолекальциферол – активная форма витамина D₃, увеличивает всасывание неорганических фосфатов в кишечнике и реабсорбцию фосфора в почечных канальцах.

Физиологическая роль кальцитонина определяется участием в регуляции обмена кальция и фосфатов в организме; его действие осуществляется при участии паратгормона и активной формы витамина D.

В диагностике нарушений обмена неорганического фосфора рекомендуется одновременное определение его концентрации в крови и моче.

Неорганический фосфор в крови

В сыворотке крови неорганический фосфор представлен преимущественно ионами HPO_4^{2-} и H_2PO_4^- . В связи с невозможностью оценить соотношение анионов с разным зарядом, концентрацию неорганического фосфата было принято выражать не в миллиэквивалентах, а в единицах массовой или молярной концентрации – мг/л или ммоль/л фосфора.

Концентрация неорганического фосфора в крови зависит от реабсорбции фосфатов в канальцах почек, соотношения процессов синтеза и резорбции в костной ткани, в меньшей степени – от выхода фосфатов из клеток других тканей и процессов всасывания и выделения в ЖКТ.

Выраженная гипофосфатемия возникает при синдроме первичного гиперпаратиреоза, развивается при недостатке витамина D₃. Гипофосфатемия является симптомом почечного тубулярного ацидоза как наследственного, так и приобретенного, для которых характерно развитие метаболического ацидоза и повышение экскреции с мочой фосфора и кальция. Снижение уровня неорганического фосфора ведет к дефициту АТФ и креатинфосфата в клетках, и, следовательно, нарушению их энергетического обеспечения. Гипофосфатемия проявляется расстройствами нервной деятельности (заторможенность, быстрая утомляемость, потеря сознания), гипокинезией, дыхательной и сердечной недостаточностью. Снижение уровня фосфора и кальция в крови способствует развитию остеопороза и остеомаляции.

Гиперфосфатемию отмечают при первичном гипопаратиреозе, псев-

догипопаратиреозе, хронической почечной недостаточности, метастазах в костной ткани. Увеличение уровня фосфатов в крови стимулирует механизмы выведения Ca^{2+} из организма, перераспределение его в тканях, тормозит всасывание в кишечнике. Гипокальциемия, развивающаяся при увеличении уровня фосфатов в крови, способствует развитию артериальной гипотензии и сердечной недостаточности.

В отличие от специфичных форм выраженной гипофосфатемии, умеренное снижение фосфора в крови можно отметить при многих заболеваниях почек и развитии тубулопатий. В условиях почечного тубулярного ацидоза в качестве компенсаторного механизма активируется секреция ПТГ, что усложняет дифференциальную диагностику первичного и вторичного гиперпаратиреоза.

Показания к исследованию

- Заболевания почек;
- заболевания костной ткани;
- эндокринные заболевания.

Метод исследования

Широкое распространение в лабораторной практике получил метод, основанный на способности неорганических фосфатов реагировать с молибдатом в кислой среде с образованием фосфомолибдата аммония; измерение оптической плотности продукта реакции выполняют при 340 нм (без применения восстановителей).

Референсный интервал

0,78-1,42 ммоль/л.

Повышенные значения

- Снижение выведения фосфатов почками:
 - острая и хроническая почечная недостаточность;
 - гипопаратиреоз, псевдогипопаратиреоз, акромегалия;
- выход фосфатов из клетки во внеклеточный пул:
 - ацидозы различного генеза;
 - рабдомиолиз, внутрисосудистый гемолиз, терапия цитостатиками;
- гипервитаминоз D_3 ;
- избыточное поступление фосфатов в организм (лекарственные препараты, продукты питания, отравление фосфорсодержащими веществами).

Пониженные значения

- Переход фосфатов из внеклеточного пространства внутрь клетки:
 - преобладание углеводов в пище, внутривенное введение глюкозы или инсулина;
 - респираторный алкалоз;
- повышенное выведение фосфатов с мочой:
 - первичный и вторичный гиперпаратиреоз;
 - заболевания почек с нарушением реабсорбции фосфатов в канальцах (ту-

- булярные ацидозы, синдром Фанкони, последствия пересадки почки);
- остеомалация, наследственная гипофосфатемия, сцепленная с X-хромосомой;
- алкоголизм;
- последствия ожогов;
- снижение всасывания фосфатов в ЖКТ:
 - рвота, диарея, приемом антацидов, содержащих соли алюминия и магния, синдром мальабсорбции;
 - гиповитаминоз D₃;
 - алкоголизм;
- потеря внутриклеточного фосфата:
 - диабетический кетоацидоз;
- сепсис.

Неорганический фосфор в моче

Нормально работающие почки фильтруют примерно 6,5 гр (210 ммоль) неорганического фосфата в сутки; при отсутствии патологии 85-90% этого количества реабсорбируются в почечных канальцах. ПТГ, вырабатываемый паращитовидными железами, является основным регулятором уровня реабсорбции фосфатов в канальцах, а, следовательно, и концентрации фосфатов в крови.

Гиперфосфатурия наблюдается при гиперпаратиреозе, заболеваниях почек, нарушающих реабсорбцию фосфора в проксимальных канальцах. Основная причина замедленного выведения фосфата – хроническая почечная недостаточность. К развитию гипофосфатурии приводят: рахит (при высоком содержании кальция в пище), остеопороз, гипопаратиреоз, нарушение всасывания фосфатов в кишечнике. Гипофосфатурия и гиперфосфатемия, наблюдаемые в детском возрасте, обусловлены увеличением реабсорбции фосфата под влиянием гормона роста.

Выделение фосфата с мочой изменяется в широких пределах в зависимости от содержания фосфата в пище. К физиологическим факторам, влияющим на уровень фосфатов в моче, относят возраст, мышечную массу, время суток.

Показания к исследованию

- Заболевания почек;
- заболевания костной ткани;
- эндокринные заболевания.

Метод исследования

Широкое распространение в лабораторной практике получил метод, основанный на способности неорганических фосфатов реагировать с молибдатом в кислой среде с образованием фосфомолибдата аммония; измерение оптической плотности продукта реакции выполняют при 340 нм (без применения восстановителей).

Референсный интервал

12,9-42,0 ммоль/сутки.

Повышенные значения

- Снижение тубулярной реабсорбции:
 - первичный и вторичный гиперпаратиреоз;
 - заболевания почек с нарушением тубулярной реабсорбции фосфатов (тубулярные ацидозы, синдром Фанкони, последствия пересадки почки);
 - остеомалация, наследственная гипофосфатемия, сцепленная с X-хромосомой;
 - алкоголизм;
 - последствия ожогов;
- переход фосфатов из клетки во внеклеточный пул:
 - ацидозы различного генеза;
 - рабдомиолиз, внутрисосудистый гемолиз, терапия цитостатиками;
- избыточное поступление фосфатов в организм, отравление фосфорсодержащими веществами;
- гипервитаминоз D₃;
- рахит.

Пониженные значения

- Дефицит фосфора в пище;
- снижение выведения фосфатов почками:
 - острая и хроническая почечная недостаточность;
 - гипопаратиреоз, псевдогипопаратиреоз, акромегалия;
- снижение всасывания фосфатов в ЖКТ:
 - рвота, диарея, приемом антацидов, содержащих соли алюминия и магния, синдром мальабсорбции;
 - дефицит витамина D;
 - алкоголизм;
- остеопороз;
- туберкулез;
- рахит (при высоком содержании кальция в пище).

Хлор

Хлор (Cl⁻) – постоянный компонент тканей растений и животных, присутствует преимущественно в виде иона вследствие диссоциации солей натрия, калия, кальция, магния и т.д. Хлор – основной анион внеклеточной жидкости, его концентрация составляет в клетке 3-4 ммоль/л, в межклеточной жидкости (в т. ч. в плазме крови) около 100 ммоль/л. Хлор играет важную роль в поддержании КОР, осмотического равновесия плазмы крови, лимфы, СМЖ и некоторых тканей, баланса воды в организме, является компонентом желудочного сока. Ионы хлора, наряду с натрием и калием, формируют мем-

бранный потенциал клеток, активируют ряд ферментов. При потере хлоридов развивается алкалоз, при избыточном потреблении – ацидоз.

Ионы хлора поступают в организм с пищей в виде хлорида натрия и, в меньшей степени, хлорида калия. Обычная диета покрывает суточную потребность взрослого человека в хлоре. Особенно богаты хлором хлеб, мясные и молочные продукты. Всасывание Cl^- происходит преимущественно в тонкой кишке, однако часть ионов секретируется в желудке вместе с ионами водорода и повторно всасываются в последующих отделах ЖКТ. Выделение хлора из организма происходит главным образом с мочой (90%) и потом (6%). Содержание хлора в организме зависит от баланса поступления хлора с пищей; распределения в тканях и жидкостях организма и выведения с мочой.

Проявления гипо- и гиперхлоремии не имеют выраженной специфики. Расстройства обмена хлора вторичны по отношению к нарушениям обмена натрия, водорода, бикарбонатов. Снижение хлора вызывает характерные для нарушений обмена натрия мышечную слабость и подергивания мышц, резкое уменьшение содержания хлора в организме может привести к тяжелому состоянию, вплоть до смертельного исхода. При гиперхлоремии наблюдают возбуждение, учащенное сердцебиение, повышение кровяного давления, отечность, затрудненное дыхание, в тяжелых случаях – кома. Общую картину баланса хлора в организме можно получить при комплексном обследовании с определением уровня хлоридов в крови и моче.

Повышение концентрации Cl^- в крови наступает при обезвоживании организма, а также при нарушении выделительной функции почек. Содержание хлора в моче зависит, в основном, от его содержания в пище.

Хлор в крови

Снижение концентрации хлоридов в крови возникает при избыточном потоотделении, рвоте, респираторном и метаболическом ацидозе, применении диуретиков, появлении отеков. Снижение концентрации хлора в крови вызывают заболевания почек, в ходе которых нарушается способность канальцев к реабсорбции, хроническая и острая почечная недостаточность, неконтролируемое применение диуретиков.

К гипохлоремии ведет состояние ацидоза различного происхождения, сопровождаемое переходом ионов хлора из крови в ткани. Снижение концентрации хлора в крови отмечают при гиперальдостеронизме.

Повышение концентрации хлора в крови наступает при обезвоживании организма, нарушении выделительной функции почек, несахарном диабете, респираторном алкалозе, недостаточности коры надпочечников.

Гиперхлоремии разделяют на абсолютные, развивающиеся при нарушении выделительной функции почек, и относительные, связанные с обезвоживанием организма и сгущением крови. К развитию относительной гиперхлоремии приводят недостаточное поступление воды в организм, понос, рвота, потеря жидкостей и солей при ожогах.

Гиперхлоремия может иметь место при сердечной недостаточности, развитии отеков, выходе хлора из тканей, вызванном разными причинами, в т. ч. алкалозами, а также при рассасывании отеков, экссудатов и транссудатов. Поступление с пищей больших количеств хлорида натрия может привести к гиперхлоремии.

Показания к исследованию

- Заболевания почек;
- несахарный диабет;
- патология надпочечников;
- мониторинг расстройств кислотно-основного состояния (КОС).

Особенности взятия и хранения образца

Сыворотка крови без признаков гемолиза. Взятие крови проводить с минимальным пережатием вены без мышечной нагрузки.

Метод исследования

Определение концентрации ионов хлора в крови в настоящее время проводят преимущественно ионоселективным методом.

Референсный интервал

98-107 ммоль/л.

Повышенные значения

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Избыток поступления хлоридов с пищей; • дегидратация; • длительная диарея, ассоциированная с метаболическим ацидозом и потерей бикарбоната натрия; • заболевания почек (нефрозы, нефриты, нефросклерозы); | <ul style="list-style-type: none"> • сердечная недостаточность; • эндокринные заболевания (первичный гиперпаратиреоз, гиперфункция коры надпочечников, несахарный диабет), лечение стероидами; • респираторный алкалоз. |
|--|--|

Пониженные значения

- Недостаток поступления хлоридов с пищей;
- внепочечные потери хлора (обильное потоотделение, диарея, рвота);
- заболевания почек с поражением канальцев;
- диабетический кетоацидоз.

Хлор в моче

Суточное выведение хлоридов отражает функцию почек и надпочечников, участвующих в поддержании водно-электролитного баланса. Повышенное выведение Cl^- с мочой (гиперхлорурия) отмечается при недостаточности коры надпочечников, истощении запасов натрия, хроническом нефрите; уменьшенное выведение (гипохлорурия) – при развитии отеков, голодании, рвоте, усиленном потоотделении.

При патологических состояниях гипохлорурия является следствием выделения повышенного количества хлора с потом, рвотными массами, при ди-

арее. Гипохлорурия, как правило, сопровождается гипохлоремией при поносе и рвоте различной этиологии, при лихорадочных состояниях. В качестве причин гипохлорурии называют также задержку хлора в организме, выделяют отмечаемую при пневмониях «сухую» задержку хлора (переход хлора в ткани) и «влажную» (переход хлора в экстрацеллюлярную жидкость), которая сопровождается сердечно-сосудистой недостаточностью с развитием отеков, воспалительные выпоты, образование отеков при заболеваниях почек и т.п.

Показания к исследованию

- Патология почек и надпочечников;
- контроль лечения диуретиками.

Метод исследования

Определение концентрации ионов хлора в моче в настоящее время проводят преимущественно ионоселективным методом.

Референсный интервал

110-250 ммоль/сут.

Повышенные значения

- Повышенное потребление поваренной соли;
- гиперхлоремия различного генеза;
- усиленный диурез любого происхождения;
- заболевания почек с поражением канальцев;
- рассасывание отеков, экссудатов и трансудатов;
- недостаточность коры надпочечников;
- период восстановления при инфекционных заболеваниях;
- усиленный диурез любого происхождения;
- истощение запасов калия.

Пониженные значения

- Недостаточное потребление поваренной соли;
- внепочечная потеря хлоридов (с потом, рвотными массами, калом);
- отеки различной этиологии (сердечно-сосудистая недостаточность, заболевания почек);
- гиперфункция коры надпочечников и гипофиза.

Субстраты

В клинической биохимии субстратами именуют группу аналитов, которые по своим химическим свойствам не могут быть включены в группы ферментов или ионов. К субстратам относят вещества, разные по своим физико-химическим свойствам (строению, молекулярной массе, химическому составу) и биологическим функциям. Субстратами называют белки, метаболиты пигментов и азотсодержащих соединений, вещества, играющие существенную роль в обеспечении организма энергией (глюкоза, липиды) или

переносе кислорода (железо). Оценка концентрации субстратов имеет важное значение в лабораторной диагностике многих патологических состояний, а в диагностике некоторых играет ведущую роль – определение глюкозы в диагностике диабета, креатинина – в диагностике заболеваний почек, липидов – в диагностике наследственных патологий липидного обмена.

Белки крови

Белки – макромолекулы, состоящие из аминокислот – основная составляющая всех живых организмов. Плазма крови человека содержит около 150 белков, функции которых разнообразны и многочисленны. Белки поддерживают стабильность клеток, осуществляют транспорт соединений, необходимых для функционирования организма (липиды, гормоны, кислород, ионы), участвуют в обеспечении его энергией (распад аминокислот обеспечивает до 18% потребляемой человеком энергии). Белковую природу имеют множество соединений, участвующих в метаболических процессах (ферменты, рецепторы, гормоны), группы белков образуют функционально значимые системы, такие, как белки острой фазы или белки системы гемостаза.

Общий белок

Большинство белков плазмы крови синтезируется в гепатоцитах. Содержание белков в кровяном русле (общий белок) является результатом равновесия между синтезом и секрецией их в кровь, поглощением клетками, процессами катаболизма и экскрецией низкомолекулярных белков с мочой, т. е. определяется преимущественно интенсивностью синтеза в печени и потери его с мочой. Некоторое снижение белка может быть вызвано недостаточным поступлением с пищей или нарушением пищеварения. Концентрация общего белка в сыворотке крови отличается у мужчин и женщин (у мужчин концентрация в среднем на 1 г/л выше), изменяется при беременности. Увеличение уровня общего белка сыворотки крови может быть следствием дегидратации, физической нагрузки; изменение положения тела с горизонтального на вертикальное может повысить содержание общего белка на 10%. Прием вегетарианской или богатой белком пищи не оказывает значительного влияния на концентрацию общего белка в сыворотке крови. Определение общего белка сыворотки крови не дает органотопической диагностики, это метод скрининга и профилактических осмотров.

Показания к исследованию

- Профилактический осмотр;
- патология печени и почек;
- онкологические заболевания;
- нарушения питания;
- термические ожоги.

Метод исследования

Известно несколько методов определения общего белка. Наиболее часто используемый в практике клинично-диагностических лабораторий основан на биуретовой реакции, в ходе которой атомы азота пептидной связи образуют с ионами меди комплекс, который, взаимодействуя в щелочной среде с биуретом (карбамилмочевинной), окрашивается в сиреневый цвет.

Референсный интервал

64-83 г/л

Повышенные значения

- Увеличение концентрации иммуноглобулинов;
- сильная дегидратация.

Пониженные значения

- Нарушение синтеза белка:
 - болезни печени (гепатиты, циррозы, липоидоз печени, первичный рак печени, метастазы рака в печень, амилоидоз);
 - злокачественные новообразования;
 - длительные заболевания, лихорадки, интоксикация;
 - лучевая болезнь;
 - застойная сердечная недостаточность;
- усиление процессов катаболизма белка:
 - тиреотоксикоз;
 - гиперсекреция глюкокортикоидов; осложнения терапии глюкокортикоидами;
- значительные потери белка:
 - нефротический синдром;
 - острые и хронические желудочно-кишечные инфекции, злокачественные новообразования желудка и кишечника;
 - обширные термические ожоги, распространенная экзема с экссудативным процессом;
 - острые и хронические массивные кровопотери;
- недостаток белка в пище (голодание, вегетарианство);
- нарушение переваривания белков и всасывания продуктов их расщепления:
 - болезни органов пищеварения (язвенная болезнь, стеноз привратника, панкреатиты, рак поджелудочной железы, атрофический гастрит);
 - синдром мальабсорбции (энтериты, панкреатиты);
- гипергидратация организма:
 - отечный синдром;
 - введение большого объема жидкости в сосудистое русло.

Белковые фракции

В патологических ситуациях меняется, главным образом, не общее со-

держание белка, а значительно увеличиваются или уменьшаются отдельные его составляющие с появлением в ряде случаев протеинов, не содержащихся в нормальных условиях. В сыворотке крови идентифицировано несколько десятков индивидуальных белков, имеющих диагностическое значение. Наиболее распространенным методом оценки качественного или полуколичественного состава белков сыворотки крови является электрофорез. Обладая разным зарядом, белки в буферном растворе движутся в электрическом поле к аноду со скоростью, пропорциональной величине их отрицательного заряда. Электрофорез на пластинах ацетата целлюлозы или в геле агарозы позволяет получить пять фракций белков, которые именуют по скорости их движения как альбумин, α -1, α -2, β - и γ -глобулины. Каждая из фракций глобулинов содержит несколько специфичных протеинов, обладающих разными функциями (табл. 16). Результаты электрофореза белков позволяют выявить:

- снижение содержания альбумина;
- увеличение* одной или нескольких фракций глобулинов;
- появление фракции глобулинов, которых нет в крови здорового человека (парапротеины).

Показания к исследованию

- Инфекционные, острые и хронические воспалительные заболевания;
- патология печени и почек;
- онкологические заболевания;
- термические ожоги, тяжелые травмы;
- заболевания органов ЖКТ (язвенная болезнь, гастрит, панкреатит, острые и хронические инфекции ЖКТ);
- ревматические заболевания.

Метод исследования

Разделение белковых фракций проводят методом электрофореза, в основе которого лежит способность белковых молекул перемещаться под действием электрического поля в разделяющей среде с разной скоростью, в зависимости от заряда молекул.

Референсные интервалы электрофорез на пластинах ацетат-целлюлозы

- Альбумины 53-66%;
- α_1 -Глобулины 2-5,5%;
- α_2 -Глобулины 6-12%;
- β -Глобулины 8-15%;
- γ -Глобулины 11-21%.

Альбумин

Альбумины – простые белки с ММ около 60 кДа, проявляют высокую связывающую способность по отношению к низкомолекулярным соединениям. У человека синтез альбуминов происходит в печени, это основная

* Для уточнения причин возрастания необходимо провести анализ индивидуальных белков, входящих в состав фракции

Характеристика белковых фракций

Фракции белков	Основные белки	Функции	Повышенные значения	Пониженные значения
Альбумины	Альбумин	Поддержание онкотического давления, транспорт ионов и биологически активных соединений	<ul style="list-style-type: none"> Сильная дегидратация; обширные ожоги; тяжелые травмы 	<ul style="list-style-type: none"> Снижение синтеза; повышение катаболизма; потери белка; гипергидратация
	Транстретин (преальбумин)	Транспорт тироксина (Т ₄), трийодтиронина (Т ₃), ретинола		
α ₁ -глобулины	α ₁ -Антитрипсин	Ингибирование трипсина и других протеаз. Белок острой фазы	<ul style="list-style-type: none"> Острые воспалительные процессы; повреждение и распад тканей (злокачественные новообразования, метастазы опухолей, тяжелые травмы, оперативные вмешательства, инфаркты) 	<ul style="list-style-type: none"> Тяжелые деструктивные процессы в печени; первичная деструктивная эмфизема легких; гипоальфа₁-липопротеинемия; дефицит α₁-антитрипсина
	α ₁ -антихимотрипсин	Белок острой фазы		
	Апопротеины А	Транспорт липидов		
	Протромбин	Система гемостаза		
	Транскортин	Транспорт кортизола, прогестерона, кортикостерона		
	α-кислый гликопротеин (орозомукоид)	Белок острой фазы		
α ₂ -глобулины	Тироксин связывающий глобулин	Транспорт тироксина и трийодтиронина	<ul style="list-style-type: none"> Острые воспалительные процессы; повреждение и распад тканей; заболевания соединительной ткани; нефротический синдром; беременность 	<ul style="list-style-type: none"> Патология поджелудочной железы (панкреатит, СД); токсический гепатит; механическая желтуха у новорожденных
	Церулоплазмин	Белок острой фазы		
	Антитромбин III	Система гемостаза		
	Гаптоглобин	Белок острой фазы		
	α ₂ -макроглобулин	Белок острой фазы		
	Ретинол-связывающий белок	Транспорт ретинола (витамин А)		
β-глобулины	Витамин D св. белок	Транспорт кальциферолов	<ul style="list-style-type: none"> Первичные и вторичные гиперлипидопроteinемии; заболевания печени; нефротический синдром; гипотиреоз; кровоточащая язва желудка 	<ul style="list-style-type: none"> Абеталипопротеинемия; атрансферринемия
	Апопротеин В-100	Транспорт липидов		
	С3-, С4-компоненты комплемента	Система комплемента		
	Трансферрин	Транспорт Fe ³⁺ ионов железа		
	Глобулин, связывающий половые гормоны	Транспорт тестостерона и эстрадиола		
	Транскобаламин	Транспорт витамина В ₁₂		
	С-реактивный белок	Белок острой фазы		
γ-глобулины	Фибриноген	Система гемостаза, белок острой фазы	<ul style="list-style-type: none"> Формирование гуморального иммунитета: вирусные и бактериальные инфекции, аллергические и аутоиммунные заболевания; хронические заболевания печени; коллагенозы; деструкция тканей и ожоги; злокачественные новообразования; парапротеинемии; миеломная болезнь; макроглобулинемия Вальденстрема; болезнь «тяжелых цепей» 	<ul style="list-style-type: none"> Истощение иммунной системы (хронические инфекции, злокачественные новообразования, болезни печени); лечение цитостатиками, иммунодепрессантами, глюкокортикоидами, лучевая терапия; иммунодефицитные заболевания; избыточная потеря белка (энтериты, нефротический синдром, обширные ожоги)
	Имуноглобулины (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE)	Формирование иммунной системы организма		

фракция (60%) белков крови человека. Альбумин осуществляет транспорт стероидных гормонов, витаминов, неэтерифицированных жирных кислот, билирубина, также переносит в крови ионы кальция, магния, многие лекарственные препараты. Благодаря своей высокой концентрации в крови и небольшим размерам альбумин играет важную роль в поддержании онкотической компоненты кровяного осмотического давления. Альбумин относят к «отрицательным» белкам острой фазы – его концентрация может снижаться на 30-60% в острой фазе воспаления.

Показания к исследованию

- Заболевания органов ЖКТ (язвенная болезнь, гастрит, панкреатит, острые и хронические инфекции ЖКТ, синдром мальабсорбции);
- онкологические заболевания;
- патология печени и почек;
- ревматические заболевания;
- термические ожоги, тяжелые травмы.

Метод исследования

Концентрацию альбумина в сыворотке крови определяют фотометрическим методом с использованием кислотно-основных индикаторов – бромкрезолового зеленого или бромкрезолового пурпурного.

Референсный интервал

35-52 г/л.

Повышенные значения

- Сильная дегидратация;
- обширные ожоги, тяжелые травмы.

Пониженные значения

- генетический обусловленный дефект биосинтеза альбуминов – альбуминемия;
- нарушение синтеза белка:
 - болезни печени (гепатиты, циррозы, липоидоз печени, первичный рак печени, метастазы рака в печень, амилоидоз);
 - злокачественные новообразования;
 - длительные заболевания, лихорадки, интоксикация;
 - лучевая болезнь;
 - застойная сердечная недостаточность;
- усиление процессов катаболизма белка:
 - тиреотоксикоз;
 - гиперсекреция глюкокортикоидов, осложнения терапии глюкокортикоидами;
- значительные потери белка:
 - нефротический синдром;
 - острые и хронические желудочно-кишечные инфекции, злокачественные новообразования желудка и кишечника;

- обширные термические ожоги, распространенная экзема с экссудативным процессом;
- острые и хронические массивные кровопотери;
- недостаток белка в пище (голодание, вегетарианство);
- нарушение переваривания белков и всасывания продуктов их расщепления:
 - болезнь органов пищеварения (язвенная болезнь, стеноз привратника, панкреатиты, рак поджелудочной железы, атрофический гастрит);
 - синдром мальабсорбции (энтериты, панкреатиты);
- гипергидратация организма:
 - отечный синдром;
 - введение большого объема жидкости в сосудистое русло;
 - гемодилюция при беременности.

α-2-макроглобулин

α-2-макроглобулин – гликопротеин, синтезируется в печени и поджелудочной железе. Белок имеет множество функций – ингибирование протеиназ, активация фибринолиза, инактивация компонентов комплемента и др. α-2-макроглобулин – белок острой фазы, также его концентрация в крови возрастает при заболеваниях и нарушениях функции печени, СД, беременности. При разделении белков методом электрофореза он составляет значительную часть фракции α-2-глобулинов, его доля возрастает при гипоальбуминемии. α-2-макроглобулин обладает высокой ММ – 725 кДа, поэтому его появление в моче свидетельствует о нарушении проницаемости гломерулярной мембраны.

Показания к исследованию

- Нефротический синдром;
- панкреатит, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки.

Метод исследования

Определение концентрации α-2-макроглобулина проводят методами иммунотурбидиметрии или иммунонефелометрии.

Референсный интервал, мг/дл, метод иммунотурбидиметрии

Мужчины 119-254.

Женщины 132-301.

Повышенные значения

- Нефротический синдром;
- острый панкреатит;
- сахарный диабет;
- острые и хронические гепатиты, цирроз печени;
- беременность;
- значительная физическая нагрузка.

Пониженные значения

- Заболевания легких;
- множественная миелома;
- ювенильный ревматоидный артрит;
- инфаркт миокарда.

С-реактивный белок

СРБ – белок плазмы крови, относится к семейству петраксинов. Он состоит из пяти идентичных негликолизированных полипептидных субъединиц, образующих циклическую дискообразную пентамерную структуру, ММ 115-135 кДа. Синтез СРБ имеет место в клетках печени и регулируется провоспалительными цитокинами. СРБ наиболее известный из числа принадлежащих к группе белков острой фазы. Особо значительное увеличение концентрации СРБ отмечают при бактериальных инфекциях (100 мг/л и выше), несколько менее выраженное повышение уровня СРБ проявляется при системных грибковых и вирусных инфекциях (10-30 мг/л). Концентрация СРБ повышается в крови пациентов при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях; некрозах, травмах; злокачественных новообразованиях.

В последние годы высказано предположение, что незначительное увеличение концентрации СРБ у лиц без признаков инфекционных или других заболеваний, названных выше, может отражать хроническое субклиническое воспаление сосудистой стенки, связанное с атеросклерозом. По современным представлениям, даже незначительное повышение концентрации СРБ является независимым проспективным фактором риска осложнений ССЗ.

В зависимости от цели исследования определение концентрации СРБ проводится классическими или высокочувствительными методами. Классические методы предназначены для выявления повышенного уровня СРБ при остром воспалении и тканевом повреждении в пределах диапазона концентраций 5-500 мг/л. Высокочувствительный анализ СРБ (hsСРБ) позволяет измерять концентрации СРБ ниже 5 мг/л и используется для оценки базального уровня hsСРБ и связанного с ним риска ССЗ.

Определение СРБ классическими методами является полезным тестом для скрининга поражения внутренних органов; оценки активности патологического процесса у больных с ревматическими и другими хроническими воспалительными заболеваниями, а также у больных с острым панкреатитом; мониторингования и контроля эффективности терапии бактериальных и вирусных инфекций, в т. ч. интеркуррентных инфекций при СКВ и др. заболеваниях с незначительным или отсутствующим острофазовым ответом; дифференциальной диагностики хронических воспалительных заболеваний. Определение базального уровня hsСРБ имеет важное значение для стратификации больных ревматическими заболеваниями по степени кардиоваскулярного риска.

Показания к исследованию

- Хронические воспалительные заболевания: оценка активности патологического процесса, контроль эффективности терапии;
- инфекционные заболевания: диагностика и контроль эффективности терапии;
- опухоли;
- повреждение тканей;
- определение риска сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с атеросклерозом, диабетом.

Метод исследования

Классические методы определения СРБ включают радиальную иммунодиффузию, иммунотурбидиметрию и иммунонефелометрию. Метод hsСРБ основан на усилении аналитической чувствительности иммунохимических методов с помощью специальных реагентов.

Референсный интервал

< 5 мг/л.

Повышенные значения

- Острые заболевания:
 - бактериальная инфекция;
 - сепсис новорожденных;
 - вирусная инфекция;
 - послеоперационные осложнения;
- некроз тканей:
 - инфаркт миокарда, легкого, почки и др. органов;
 - острый панкреатит;
 - онкологические заболевания, метастазы;
- хронические заболевания.

Гаптоглобин

Гаптоглобин – синтезируемый в печени $\alpha 2$ -гликопротеин, ММ разных фенотипов – 85-200 кДа. Основная функция этого белка определена его способностью обратимо связывать свободный гемоглобин, освобождаемый в результате внутрисосудистого гемолиза. Образованный комплекс быстро выводится из кровотока в результате захвата клетками ретикуло-эндотелиальной системы, благодаря чему предотвращается или минимизируется потеря гемоглобина и железа, поскольку после метаболизма белков атомы железа повторно используются организмом.

Гаптоглобин относят к положительным белкам острой фазы, его синтез стимулируют ИЛ. Однако увеличение его концентрации при воспалительных процессах может быть выражено недостаточно, поскольку, наряду с возрастанием синтеза, обусловленным реакцией воспаления, может иметь место повышенный захват комплекса гаптоглобин-гемоглобин клетками

ретикуло-эндотелиальной системы вследствие сопутствующего гемолиза.

Гаптоглобин обладает и другими биологически значимыми функциями: ингибирует катепсин В, секретируемый фагоцитами, регулирует активность и пролиферацию лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов. Отмечены его бактериостатические свойства по отношению к бактериям, метаболизм которых зависит от ионов железа (например *Escherichiacoli*).

Снижение концентрации гаптоглобина в крови может быть следствием гемолиза *in vivo* любого происхождения, неэффективного эритропоэза, острых и хронических заболеваний печени. Увеличение концентрации гаптоглобина сопровождает реакцию острой фазы воспаления при отсутствии гемолиза (состояния с повреждениями тканей, при развитии злокачественных новообразований); закупорке желчных протоков; кортикостероидной терапии.

Показания к исследованию

- Анемия;
- предполагаемый гемолиз;
- пре- и посттрансфузионный контроль реципиента;
- обследование пациентов с искусственными клапанами сердца.

Метод исследования

Определение концентрации гаптоглобина проводят методами иммуно-турбидиметрии или нефелометрии.

Референсный интервал, г/л

Мужчины – 0,14-2,58.

Женщины – 0,35-2,5.

Повышенные значения

- Реакция острой фазы (инфекция, травмы, некрозы, хирургические вмешательства, обострение ревматических заболеваний и др);
- злокачественные новообразования;
- терапия кортикостероидами;
- закупорка желчных протоков.

Пониженные значения

- Гемолиз аутоиммунный, изоиммунный (при переливании крови), механический (искусственные клапаны сердца, эндокардит, интенсивные занятия спортом);
- неэффективный эритропоэз;
- острые и хронические заболевания печени;
- генетические заболевания (агаптоглобинемия и гипогаптоглобинемия).

Миоглобин

МГ – хромопротеин низкой ММ (18 кДа) – транспортирует кислород в миоцитах скелетной мускулатуры и кардиомиоцитах. При повреждении миокарда и скелетных мышц МГ, присутствующий в цитозоле клеток, бы-

стро попадает в кровь. Локализация МГ в цитозоле клеток и малый размер молекулы определяют характер изменений его содержания в крови при повреждении миокарда и скелетных мышц; оно быстро повышается и быстро снижается (вследствие свободного прохождения молекулы через гломерулярный фильтр и экскреции с мочой). МГ при ИМ может повышаться в 4-10 и более раз, степень повышения зависит от площади повреждения миокарда. Нормализация уровня МГ отмечается у больных с ИМ на 1-2-е сут. Повторные повышения уровня МГ в крови на фоне уже начавшейся нормализации могут свидетельствовать о расширении зоны ИМ или образовании новых некротических очагов.

Повышение уровня МГ в крови может быть связано с повреждением не только кардиомиоцитов, но и клеток скелетной мускулатуры; он также увеличивается при тяжелом электрошоке, термических ожогах, вторичной токсической миоглобинурии, травмах, артериальной окклюзии с ишемией мышечной массы.

Показания к исследованию

- Ранняя диагностика и мониторинг острого инфаркта миокарда;
- мониторинг эффективности тромболитической терапии.

Метод исследования

Определение концентрации МГ в крови в настоящее время проводят иммунохимическими методами. Разработаны многочисленные наборы реагентов для определения уровня МГ при использовании иммунотурбидиметрии, ИХЛА, МИФА и др. Значения, полученные разными методами, могут различаться.

Референсный интервал метод иммунотурбидиметрии

Мужчины, женщины – 15-85 нг/мл.

Повышенные значения

- Острый ИМ, повторный ИМ;
- нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность, миокардит, операции и инвазивные исследования на сердце;
- травмы и поражения мышц, синдром длительного сдавливания, мышечные и нервно-мышечные заболевания;
- заболевания почек с потерей белка;
- интенсивная физическая нагрузка;
- тяжелый электрошок, ожоги.

Тропонины I и T

Комплекс тропонинов, обеспечивающий регуляцию сократительной системы клеток скелетной мускулатуры и кардиомиоцитов, включает три белка: тропонин T, тропонин I, тропонин C. Как тропонин I, так и тропонин T представлены тремя изоформами, каждая из которых локализована в разных видах мышечной ткани, в т. ч. в кардиомиоцитах. Значительные отличия в структуре и аминокислотном составе тропонинов I и T кар-

диомиоцитов (сердечные, кардиальные тропонины) от других изоформ позволило разработать иммунохимические методы их определения и использовать эти тесты в диагностике. Молекулы тропонина С, присутствующие в кардиомиоцитах и клетках скелетной мускулатуры, идентичны по структуре, поэтому тропонин С не имеет значения как кардиомаркер. Тропонины Т и I обладают сходной диагностической чувствительностью и специфичностью для диагностики ОИМ.

Особенности внутриклеточного распределения тропонинов определяют особенности их выхода в кровь из поврежденных кардиомиоцитов. Повышение уровня тропонинов в крови начинается через 4-6 ч после приступа и достигает максимума на 2-е сутки. Увеличение уровня тропонинов определяется до 8-10 дней после начала ИМ, что предоставляет возможность высокоспецифичной поздней диагностики ИМ. Длительное присутствие тропонинов в крови (у здоровых лиц тропонины в крови не обнаруживаются) некоторые эксперты считают недостатком – в отличие от «быстрых» кардиомаркеров (КК-МВ и миоглобин), определение тропонинов не позволяет диагностировать повторный ИМ. Тропонины Т и I обладают сходной диагностической чувствительностью и специфичностью для диагностики острого ИМ.

Группами экспертов Европейского общества кардиологов и Американского общества кардиологов разработаны и опубликованы «консенсусные» рекомендации по выявлению ИМ, где характерное возрастание и падение концентрации тропонинов названо основными критериями выявления ИМ наряду с характерными изменениями ЭКГ и клинической симптоматикой.

Показания к исследованию

- Ранняя диагностика и мониторинг острого ИМ;
- заболевания сердца и состояния, сопровождаемые повреждением кардиомиоцитов: стенокардия, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность, миокардит, хирургические вмешательства и инвазивные исследования на сердце;
- дифференциальная диагностика повреждения миокарда и повреждения скелетных мышц.

Метод исследования

Для определения тропонинов разработаны наборы реагентов с использованием различных иммунохимических методов. В настоящее время референсные пределы для тропонина I и их клиническая интерпретация должны быть установлены отдельно для реагентов разных производителей.

Референсный интервал, нг/мл

Мужчины – < 0,022.

Женщины – < 0,009.

Повышенные значения

- Инфаркт миокарда;

- заболевания сердца и состояния, сопровождаемые повреждением кардиомиоцитов: (стенокардия, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность, миокардит), хирургические операции и инвазивные исследования на сердце, травматические повреждения сердечной мышцы;
- коронарный вазоспазм, в т. ч. шарообразное расширение верхушки сердца;
- васкулопатия трансплантата сердца;
- рабдомиолиз с повреждениями сердца;
- применение токсичных лекарственных препаратов.

Церулоплазмин

Церулоплазмин (ЦП) – медьсодержащий белок, относится к фракции α_2 -глобулинов, одна молекула церулоплазмينا может связать 6-8 атомов меди. Церулоплазмин содержит 95% меди сыворотки крови, однако его функцией является не транспорт, а депонирование меди. Транспорт меди осуществляется в основном альбумином. ЦП – белок острой фазы, синтезируется преимущественно клетками паренхимы печени, небольшое количество белка продуцируется макрофагами и лимфоцитами.

ЦП обладает ферментативными свойствами (ферроксидаза, К.Ф 1.16.3.1), участвует в ряде окислительно-восстановительных реакций. Важнейшая роль ЦП как фермента – участие в реакции окисления Fe^{2+} до Fe^{3+} , необходимой для нормального транспорта и метаболизма железа в организме. Подтверждением тесной зависимости обмена железа от ЦП у человека является ацерулоплазминемия, заболевание, вызванное мутацией в гене ЦП. При этой мутации резко снижена оксидазная активность белка, что вызывает гемохроматоз с обширными отложениями железа в тканях различных органов.

Отсутствие или снижение ЦП, вызванное, в большинстве случаев, генетическими аномалиями, приводит к отложению меди в клетках почек, печени, нервной ткани, вызывая тяжелые поражения органов и тканей (синдром Менкеса, ацерулоплазминемия). Сочетанное поражение печени и нервной ткани носит название гепатоцеребральная дистрофия, или гепатолентикулярная дегенерация, отмечается при врожденном нарушении метаболизма меди – болезни Вильсона-Коновалова.

Показания к исследованию

- Заболевания центральной нервной системы неизвестной этиологии;
- диагностика наследственной патологии (болезнь Вильсона-Коновалова, синдром Менкеса, ацерулоплазминемия);
- необъяснимый гепатит или цирроз;
- выявление вторичного дефицита церулоплазмينا.

Метод исследования

Количественное определение церулоплазмينا в сыворотке крови проводится методами иммунотурбидиметрии или иммунонефелометрии.

Референсный интервал

0,2-0,6 г/л.

Повышенные значения

- Реакция острой фазы (острые и хронические инфекционные заболевания, ИМ, инсульт, хирургические вмешательства и др.);
- системные и аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования, метастазы;
- прием эстрогенов;
- беременность;
- шизофрения.

Пониженные значения

- Болезнь Вильсона-Коновалова (гепатолентикулярная дегенерация);
- болезнь Менкеса («болезнь курчавых волос»);
- ацерулоплазминемия;
- вторичный дефицит церулоплазмينا (недостаточное поступление меди с продуктами питания, синдром мальабсорбции, длительное парентеральное питание, нефротический синдром);
- заболевания печени с нарушением синтеза белка.

Белки мочи

Протеинурия – повышенное выделение белка с мочой – является важнейшим показателем заболевания почек. У здоровых лиц большая часть белков крови задерживается в почечных фильтрах и не попадает в мочу. Клубочковый фильтрационный барьер пропускает белки в зависимости от их мол.массы, размера и заряда. В норме гломерулярные базальные мембраны нефрона способны пропускать белки, размер которых не превышает 4 нм, а ММ не более 70 кДа. Количество экскретируемого с мочой белка, кроме того, зависит от эффективности реабсорбции в почечных канальцах белков, попавших в первичную мочу. Поражение любого отдела нефрона может приводить к повышенной экскреции белка с мочой.

Общий белок в моче

В норме белок выводится с мочой в незначительном количестве (20-150 мг/сутки), такие концентрации находятся за пределами чувствительности общепринятых рутинных методов, поэтому в моче здорового человека белок, как правило, не обнаруживается. Протеинурия считается установленной, если выделение белка превышает 300 мг/сутки.

Различают физиологическую и патологическую протеинурию. При физиологической (функциональной) протеинурии повышенное выделение белка с мочой может быть обусловлено некоторыми заболеваниями и определенными физиологическими состояниями. Содержание белка в моче у пациентов нормализуется после устранения причины такой про-

теинурии, к которым относят физическую нагрузку, стресс, гипертермию, охлаждение, застойную сердечную недостаточность, беременность.

Патологическая протеинурия не всегда связана с заболеваниями почек, различают преренальную, ренальную и постренальную формы (табл. 17).

Таблица 17

Патологические формы протеинурии

Название		Причина	Белки в моче
Преренальная форма Протеинурия переполнения		Высокие уровни синтеза парапротеинов (миеломная болезнь и др. амилоидозы)	Белок Бенс-Джонса и др. парапротеины
		Усиление распада белка тканей (выраженный гемолиз, рабдомиолиз, миопатии, лейкоз)	Гемоглобин, миоглобин, лизоцим
Ренальная форма	Гломерулярная или клубочковая	Нарушение избирательной проницаемости гломерулярного фильтра	Селективная протеинурия – белки с ММ только менее 150 кДа; неселективная протеинурия – любые белки, в т.ч. с ММ более 150 кДа
	Тубулярная или канальцевая	Нарушение реабсорбции в канальцах	Выделение низкомолекулярных белков (ММ менее 40 кДа)
	Смешанная	Нарушение избирательной проницаемости гломерулярного фильтра и реабсорбции в канальцах	Выделение низко- и высокомолекулярных белков
Постренальная форма		Попадание воспалительного экссудата в мочу при заболеваниях мочевыводящих путей мочевого пузыря, половых органов	Белок Тамма-Хорсвалла, IgA, белки плазмы крови

Преренальная протеинурия возникает вследствие поступления в мочу через неповрежденный почечный фильтр циркулирующих в крови в относительно высокой концентрации патологических белков с низкой ММ. Увеличение концентрации таких белков в крови наблюдается при повышенном синтезе легких цепей иммуноглобулинов, внутрисосудистом гемолизе, разрушении тканей.

Ренальная протеинурия обусловлена поражением клубочков и/или канальцев почек.

Гломерулярная (клубочковая) протеинурия развивается вследствие повреждения клубочкового фильтра, в результате нарушается фильтрация и диффузия в клубочках. В зависимости от степени нарушения функции клубочков различают селективную и неселективную протеинурии, при последней в моче, наряду с низкомолекулярными, появляются практически все высокомолекулярные белки.

При *тубулярной (канальцевой) протеинурии* в моче возрастает количество низкомолекулярных белков из-за нарушения механизмов их реабсорбции в проксимальных канальцах. Характерным является выведение с мочой белков низкой ММ (менее 40 КДа). Помимо острых и хронических заболеваний почек, эта форма встречается при отравлении тяжелыми металлами, токсическими соединениями, приеме нефротоксических препаратов. Основным маркером развития тубулярной протеинурии является

повышенное содержание в моче β_2 -микроглобулина.

Постренальная протеинурия проявляется при наличии воспалительных процессов в мочевыводящих путях и половых органах (при циститах, пиелитах, простатитах, уретритах, вульвовагинитах) или при злокачественных процессах с той же локализацией. Данный тип протеинурии диагностируется с помощью микроскопических методов, позволяющих выявить в моче опухолевые или воспалительные клетки.

Определение концентрации белка в моче представляет определенные трудности: неоднородный состав белков диктует необходимость выбора метода, позволяющего одновременно определять все белки мочи. Определение общего белка является некоторым компромиссом, так как пока не существует метода, который позволил бы определить весь спектр уропротеинов, в состав которого могут входить различные белки сыворотки крови и тканей. В настоящее время для лабораторной диагностики протеинурии используют качественные, полуколичественные и количественные методы.

Показания к исследованию

- Скрининг поражения почек (после трансплантации почки, при гломерулонефрите, пиелонефрите и др.);
- СД;
- артериальная гипертензия;
- отравление тяжелыми металлами, нефротоксичными препаратами;
- системные заболевания (цирроз, саркоидоз и др.);
- инфекционные заболевания;
- беременность.

Метод исследования

Качественные методы для обнаружения белка в моче основаны на способности белков к денатурации под влиянием различных физических и химических факторов. К качественным методам определения белка в моче относятся: кольцевая проба Геллера, проба с 15–20% сульфосалициловой кислотой, проба с кипячением. Методы качественного определения белка в моче не позволяют получать надежные и воспроизводимые результаты.

Полуколичественные методы в настоящее время реализованы преимущественно методами сухой химии в форме диагностических полосок (тест-полосок) с оценкой результата визуально или с помощью анализаторов мочи. Для полуколичественного определения белка в моче в качестве индикатора чаще всего используется краситель бромфеноловый синий, обладающий большей чувствительностью по отношению к альбумину по сравнению с другими белками – глобулинами, мукопротеинами, гемоглобином и белком Бенс-Джонсона. Это свойство полосок делает их пригодными к обнаружению селективной протеинурии, когда практически весь белок представлен альбумином, но обуславливает получение ложноотрицательных результатов при других видах протеинурии.

Количественные методы определения общего белка в моче включают *турбидиметрические и нефелометрические, а также колориметрические.*

Турбидиметрические и нефелометрические методы основаны на снижении растворимости белков мочи вследствие образования суспензии взвешенных частиц под воздействием преципитирующих агентов. О содержании белка в исследуемой пробе судят либо по интенсивности светорассеяния (нефелометрия), либо по ослаблению светового потока образовавшейся суспензией (турбидиметрия).

Колориметрические методы основаны на специфических реакциях белков с хромогенами, интенсивность образуемой окраски пропорциональна концентрации исследуемого вещества.

При получении повышенных значений белка в моче с использованием качественных или полуколичественных методов для определения тяжести и установления механизма возникновения протеинурии целесообразно не только определить его количественное содержание, но и оценить изменения белкового спектра мочи, используя метод электрофореза или определить концентрацию отдельных белков мочи иммунохимическими методами.

Референсный интервал

< 300 мг/сутки.

Повышенные значения

- Нарушение гломерулярной фильтрации;
- нарушение тубулярной реабсорбции;
- миеломная болезнь, амилоидоз;
- макроглобулинемия Вальденстрема;
- моноцитарный лейкоз;
- ожоги, внутрисосудистый гемолиз, рабдомиолиз;
- инфекционные процессы, повышенная температура тела;
- острый панкреатит, цирроз, гепатиты;
- системные заболевания;
- злокачественные новообразования или воспаление мочевыводящих путей, половых органов;
- застойная сердечная недостаточность;
- отравление тяжелыми металлами;
- применение аминогликозидов, нефротоксичных препаратов;
- повышенная физическая нагрузка;
- переохлаждение.

Альбумин (микроальбумин)

Для обозначения низких концентраций альбумина, выделяющегося с мочой, долгое время использовали термин «микроальбумин». В начальной стадии протеинурии увеличение концентрации белка в моче может быть незначительным и потому не диагностировано при использовании стан-

дартных методов определения. Выделение альбумина с мочой в минимальных количествах имеет место и у здоровых лиц, в норме с мочой в течение суток выделяется не более 30 мг этого белка. Микроальбуминурией называют состояние, которое характеризуется повышенной экскрецией с мочой альбумина (в пределах 30-300 мг/сутки или 20-200 мкг/мин). Для выявления микроальбуминурии разработаны специальные лабораторные методы определения альбумина, обладающие существенно более высокой аналитической чувствительностью, чем стандартные методы определения белка в моче. Выявление микроальбуминурии имеет особое значение у больных СД – стойкая микроальбуминурия является предиктором развития в ближайшие пять лет выраженной диабетической нефропатии. Согласно рекомендациям ВОЗ, больным СД при отсутствии протеинурии необходимо проводить выявление микроальбуминурии: больным СД 1 типа при установлении диагноза в детском возрасте – до возраста 12 лет ежегодно, при возникновении заболевания после полового созревания – ежегодно спустя 5 лет от начала заболевания; больным СД 2 типа не реже 1 раза в год с момента установления диагноза. Физическая нагрузка, инфекционные процессы, повышенная температура тела, застойная сердечная недостаточность, стойкая гипергликемия, стойкая гипертензия могут повышать выведение альбумина с мочой.

Показания к исследованию

- Сахарный диабет;
- артериальная гипертензия;
- мониторинг трансплантации почек;
- заболевания почек.

Метод исследования

Количественное измерение альбумина в моче проводится методом иммунотурбидиметрии.

Референсный интервал

<30 мг/сутки.

Повышенные значения

- Воспалительные заболевания почек, гломерулонефрит, нефропатия;
- отторжение почечного трансплантата;
- инфекционные процессы, повышенная температура тела;
- застойная сердечная недостаточность;
- повышенная физическая нагрузка.

Билирубин

Билирубин – тетрапиррольный пигмент желтого цвета, образуемый преимущественно из гемовой части гемоглобина эритроцитов по окончании их 120-дневного жизненного цикла и, в существенно меньших количествах, при катаболизме других гемосодержащих белков (миоглобин, каталаза, перокси-

даза, цитохромы). Образование билирубина происходит в клетках ретикулоэндотелиальной системы селезенки, лимфатических узлов, костного мозга и печени, откуда они попадают в сыворотку крови. Молекулы билирубина нерастворимы в воде, поэтому, в сыворотке крови они транспортируются только в комплексе с альбумином, с которым связаны электростатически. Эта фракция носит название неконъюгированного (свободного, непрямого) билирубина. Неконъюгированный билирубин токсичен для нервных клеток.

В гепатоцитах под действием фермента уридиндифосфат глюкозилтрансферазы (К.Ф. 2.4.1.17) билирубин взаимодействует с глюконовыми кислотами, формируя эфиры. В результате реакции образуется хорошо растворимые в воде конъюгаты – моно- и диглюкурониды билирубина (конъюгированный, связанный, прямой билирубин).

Конъюгированный билирубин экскретируется с желчью, накапливается в желчном пузыре, выделяется в тонкий кишечник, где при действии микробной флоры восстанавливается с образованием бесцветных уробилиногенов. Большинство образованных уробилиногенов окисляется в уробилины и покидает организм с калом или мочой. Если уровень конъюгированного билирубина в сыворотке крови достаточно высок, он проходит через гломерулярную мембрану и экскретируется с мочой. Неконъюгированный билирубин, прочно связанный с альбумином в сыворотке крови, не проходит через гломерулярную мембрану. Накопление билирубина в крови и тканях приводит к развитию желтухи.

В лабораторной диагностике используют определение общего и прямого билирубина. Содержание непрямого билирубина рассчитывают как разность между общим содержанием билирубина и концентрацией прямого билирубина. В норме в крови 75-80% приходится на долю непрямого билирубина и 20-25% – на долю прямого. Исследование прямого билирубина малоинформативно при нормальной концентрации общего билирубина, однако при увеличении его уровня определение фракций необходимо для интерпретации результатов. Гипербилирубинемия имеет печеночное происхождение, если более 80% общего билирубина составляет прямой билирубин. Если же более 80% общего билирубина составляет непрямой, то говорят о гемолитической гипербилирубинемии.

Известны наследственные заболевания, при которых гипербилирубинемия обусловлена врожденной недостаточностью ферментов метаболизма билирубина – синдром Криглера-Нажара и синдром Жильбера (повышение содержания непрямого билирубина), синдром Добин-Джонсона и синдром Ротора (повышение содержания прямого билирубина).

Показания к исследованию

- Патология печени;
- гемолитическая анемия;
- холестаз;
- желтуха.

Особенности хранения образца

Образцы стабильны при хранении в темноте.

Метод исследования

Определение общего билирубина включает две стадии: растворение неконъюгированного билирубина и/или отщеплению его от молекулы альбумина при действии «акселератора» и взаимодействие растворенного билирубина (прямого и непрямого, т.е. общего) с диазореагентом (реактива Эрлиха) с образованием окрашенного продукта. Эти реакции дают представление о содержании в сыворотке крови общего, конъюгированного и неконъюгированного (прямого и непрямого) билирубина.

Наиболее распространенный метод определения *прямого билирубина* – колориметрический с использованием диазореагента (реактива Эрлиха). В реакцию с диазореактивом вступает только растворимый, конъюгированный (прямой) билирубин.

Исследование прямого билирубина малоинформативно при нормальной концентрации общего билирубина.

Референсный интервал, мкмоль/л

Общий
5-21

Прямой
< 8,6

Повышенные значения

Непрямой билирубин

- Интенсивный гемолиз (гемолитические или V_{12} -дефицитные анемии, малярия, массивные кровоизлияния, и др.);
- наследственные или приобретенные нарушения активности фермента, обеспечивающего биосинтез глюкуронидов билирубина.

Прямой билирубин:

- Поражение паренхимы печени;
- нарушение оттока желчи;
- нарушение секреции прямого билирубина в желчь.

Витамины

Витамин V_{12}

Витамин V_{12} или цианокобаламин имеет сложную структуру, в составе которой имеются нуклеотиды и ион кобальта. V_{12} , как и большинство витаминов группы В, – кофермент физиологически значимых ферментативных реакций. Он является кофактором реакции синтеза метионина из гомоцистеина, а также принимает участие в превращениях производных фолиевой кислоты, необходимых для синтеза нуклеотидов.

В наибольшей степени чувствителен к недостатку витамина V_{12} процесс

кроветворения, гиповитаминоз проявляется мегалобластной (пернициозной) анемией. Помимо нарушений функции кроветворения, при дефиците витамина B_{12} имеют место нарушения синтеза миелина, что находит отражение в дегенеративных изменениях в периферической нервной системе и головном мозге. Неврологическая симптоматика проявляется в парестезиях, ощущении онемения кистей и стоп, неустойчивости походки, ослаблении памяти вплоть до спутанности сознания.

Как и все витамины, B_{12} не синтезируется в организме человека. Основные источники витамина – печень, мясо, рыба и морские продукты. У строгих вегетарианцев, исключая из пищи не только мясные, но и молочные продукты, рано или поздно развивается B_{12} -дефицитная анемия. Поступая в ЖКТ, витамин B_{12} связывается с вырабатываемым обкладочными клетками слизистой желудка белком, получившим название внутреннего фактора Касла. Этот комплекс в подвздошной кишке взаимодействует со специфическими рецепторами мембран энтероцитов и всасывается путем эндоцитоза, после чего витамин освобождается в кровь воротной вены. При заболеваниях желудка, сопровождающихся нарушением синтеза внутреннего фактора, всасывания кобаламина не происходит что является причиной гиповитаминоза.

В кровяном русле транспорт кобаламина в костный мозг и другие ткани осуществляется в комплексе со специфическими белками – транскобаламинами. Запасы витамина B_{12} находятся, главным образом, в печени.

Недостаточность кобаламинов возникает вследствие низкого содержания их в пище (при вегетарианской диете, голодании), нарушения всасывания витамина в ЖКТ, наследственных дефектах транскобаламинов.

Показания к исследованию

- Дифференциальная диагностика мегалобластных анемий;
- атрофический гастрит, гастрэктомия, воспаления или другие нарушения тонкого кишечника;
- вегетарианская диета;
- диагностики врожденного дефицита B_{12} .

Метод исследования

Определение концентрации витамина B_{12} в сыворотке крови проводят иммунохимическими методами.

Референсный интервал

179-1162 пг/мл.

Повышенные значения

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Заболевания печени (острый гепатит, цирроз, печеночная кома, метастазы рака в печень); • почечная недостаточность; • сердечная недостаточность; | <ul style="list-style-type: none"> • миелопролиферативные заболевания (острый и хронический миелолейкоз, эритромиелоз, моноцитарный лейкоз, лимфолейкоз); • недостаточность белкового питания. |
|---|--|

Пониженные значения

- Мегалобластная анемия;
- дефицит витамина В₁₂ в пище, вегетарианство;
- дефицит внутреннего фактора Касла (атрофия слизистой желудка, гастрэктомия);
- энтериты, дизентерия, спру, целиакия, резекция кишечника, болезнь Крона, рак слепой кишки и др;
- врожденные нарушения метаболизма кобаламинов;
- беременность;
- алкоголизм;
- миеломная болезнь;
- дефицит железа;
- прием цитостатиков, аминосалициловой кислоты, аминогликозидов, аскорбиновой кислоты, фенитоина, фенобарбитала, оральных контрацептивов.

Фолиевая кислота

Фолиевая кислота (витамин В₉, фолат) – один из водорастворимым витаминов группы В. При участии витамина В₁₂ фолиевая кислота преобразуется в тетрагидрофолиевую кислоту, кофермент, участвующий во многих важнейших реакциях – синтезе и взаимопревращениях пуриновых нуклеотидов, аминокислот, белков. Недостаток фолиевой кислоты приводит к многочисленным изменениям метаболизма, в том числе нарушениям синтеза ДНК и РНК из-за недостатка их предшественников, от чего в первую очередь страдают быстроделяющиеся клетки, такие, как кроветворные клетки костного мозга. Дефицит фолиевой кислоты, также как и дефицит витамина В₁₂, вызывает снижение скорости эритропоэза и развитие мегалобластной анемии, характеризующейся снижением числа циркулирующих эритроцитов, увеличением их размера и снижением концентрации гемоглобина. При недостатке фолиевой кислоты нарушается регенерация эпителиальных клеток, функции слизистой ЖКТ. Дефицит фолата при беременности может вызвать дефекты нервной трубки плода.

Человек не синтезирует фолиевую кислоту, получает ее с пищей (зеленые овощи, бобовые, мука грубого помола), некоторое количество витамина синтезируется микрофлорой кишечника. Всасывание фолиевой кислоты происходит в двенадцатиперстной кишке и проксимальных участках тонкого кишечника. Поступив в кровь, фолиевая кислота в свободном виде или в комплексе с альбумином транспортируется к костному мозгу и другим тканям. В кровяном русле более 80% фолатов содержатся в эритроцитах, остальная часть – в сыворотке крови. Депонирование и метаболизм фолиевой кислоты осуществляется в печени. При отсутствии витамина в пище запаса фолата в печени хватает на несколько месяцев. Минимальная ежедневная потребность в фолиевой кислоте составляет 150 мкг, однако из-за плохой всасываемости рекомендуемая суточная доза фолиевой кислоты – 400 мкг. Фолат элиминируется из организма примерно в равных долях с мочой и с калом.

Метод исследования

Определение концентрации фолиевой кислоты в сыворотке крови проводят иммунохимическими методами.

Особенности хранения образца

Образцы стабильны при хранении в темноте.

Показания к исследованию

- Диагностика анемий, дифференциальная диагностика мегалобластных анемий;
- оценка запасов фолиевой кислоты у беременных.

Референсный интервал

5,3-14,4 нг/мл.

Повышенные значения

- Бесконтрольный прием фолатов.

Пониженные значения

- Недостаточное поступление фолатов с пищей (диета, излишняя тепловая обработка);
- заболевания ЖКТ (энтериты, дизентерия, спру, целиакия, резекция кишечника, болезнь Крона и др.);
- алкоголизм;
- беременность;
- прием оральных контрацептивов;
- заболевания печени;
- дефицит витамина В₁₂;
- злокачественные новообразования;
- миелофиброз;
- витамин В₆-дефицитная анемия;
- сидеробластная анемия.

Гомоцистеин

Гомоцистеин (ГЦ) – производное эссенциальной аминокислоты метионина. В метаболизме ГЦ принимают участие витамины группы В. Дисбаланс процессов формирования и катаболизма ГЦ приводит к увеличению его концентрации в кровяном русле. В экспериментальных исследованиях отмечено, что ГЦ усиливает синтез тромбосана А₂ и агрегацию тромбоцитов, повышает связывание ЛП(а) с фибрином, обладает прокоагулянтной активностью, может способствовать нарушению функции эндотелия, пролиферации гладких мышечных клеток.

Связь гипергомоцистеинемии с атеро- и тромбогенезом впервые была обнаружена у больных с гомоцистеинурией, наследственным ауто-сомно-рецессивным заболеванием, обусловленным дефицитом цистатионин-синтетазы. При этом заболевании наблюдают крайне высокий

уровень гомоцистеина в крови (десятикратно превышает таковой в популяции здоровых лиц), отмечают развитие ССЗ в раннем возрасте.

В ходе нескольких одномоментных эпидемиологических исследований была выявлена независимая связь между наличием легкой или умеренной гипергомоцистеинемии и развитием ИБС, ИМ, заболеваний периферических сосудов и сосудов мозга, инсульта. Однако результаты проспективных когортных исследований не были однозначны: после внесения поправок на другие факторы риска статистически значимая связь между уровнем гомоцистеина и развитием ССЗ выявлялась не во всех случаях. Вторичная профилактика – снижение уровня ГЦ у больных ССЗ продемонстрировала отсутствие клинической эффективности. Согласно рекомендациям третьего доклада экспертов Национальной программы по холестерину, США (NCEP ATR III), исследование ГЦ целесообразно у пациентов с ранним развитием ИБС при отсутствии классических факторов риска.

Гипергомоцистеинемия часто встречается среди пациентов с хронической почечной недостаточностью, у больных СД с гипергомоцистеинемией отмечают увеличение сосудистых осложнений (нефропатии, ретинопатии и др.). Повышенные уровни ГЦ при беременности связывают с нарушениями маточного и фетоплацентарного кровообращения, что может быть причиной бесплодия и невынашивания беременности. Увеличение содержания ГЦ связывают с нарушениями когнитивной функции, психическими расстройствами, увеличению риска возникновения болезни Альцгеймера.

Показания к исследованию

- Диагностика гомоцистеинурии;
- диагностика дефицита фолиевой кислоты и витаминов В₆ и В₁₂;
- сахарный диабет;
- беременные женщины с отмеченными ранее акушерскими осложнениями или отягощенным семейным анамнезом (инсульты, инфаркты у родственников в возрасте до 45-50 лет).

Особенности хранения образца

Необходимо использование специальных стабилизаторов или хранение образца во льду до момента центрифугирования, отделение клеточных компонентов крови от сыворотки или плазмы как можно быстрее после взятия образца.

Метод исследования

Определение концентрации гомоцистеина в крови проводят иммунохимическими методами.

Референсный интервал

5,0-12,0 мкмоль/л.

Повышенные значения

- Гомоцистеинурия (генетический дефект ферментов, участвующих в метаболизме ГЦ);
- дефицит фолиевой кислоты, витаминов В₆ и В₁₂;
- неопластический процесс при раке молочной железы, яичников, поджелудочной железы;
- гипотиреоз;
- псориаз с тяжелым течением;
- применение препаратов теофиллина, эстрогенсодержащих контрацептивов, цитостатиков, противоэпилептических препаратов (фенитоин, карбамазепин);
- курение, употребление кофе в большом количестве, злоупотребление алкоголем.

Лабораторные показатели обмена глюкозы

Глюкоза – моносахарид альдогексоза – присутствует в большинстве органов и тканей. Окисление глюкозы – один из главных источников энергии организма. Помимо этого, глюкоза является материалом для синтеза гликогена (основной формы запаса энергии в организме животных и человека), моносахаридов пентоз, входящих в состав ДНК, РНК и многих ферментов, ее остаток присутствует в гликопротеинах, гликолипидах, липополисахаридах.

В физиологических условиях концентрация глюкозы в крови повышается после приема пищи, уменьшается при голодании, физических нагрузках, стрессе. Концентрация глюкозы в крови является производной активности процессов гликогенеза (синтез гликогена), гликогенолиза (распад гликогена), глюконеогенеза (синтез углеводов из неуглеводных компонентов – белков, липидов) и катаболизма в ферментативных реакциях гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Существенное изменение нормальной концентрации глюкозы в крови приводит к серьезным нарушениям метаболизма и может быть фатальным. Выраженная гипогликемия способствует возникновению энергетического голода в нейронах головного мозга и в результате развитию острой гипоксии и гипогликемической комы. При длительной гипергликемии отмечают нарушения катаболизма углеводов и липидов, приводящие к накоплению кетонов (диабетический кетоацидоз) и развитию гипергликемической комы.

Уровень глюкозы в крови находится под контролем ЦНС и эндокринной системы. Инсулин является основным гипогликемическим фактором, другие гормоны вызывают гипергликемию (контринсулярное действие) (табл. 18).

Гормоны, регулирующие уровень глюкозы в крови

Гормон	Место синтеза	Стимул для увеличения концентрации	Влияние на уровень глюкозы крови	Влияние на метаболизм глюкозы
Инсулин	Поджелудочная железа (β -клетки)	Повышенный уровень глюкозы в крови	Понижает	Способствует проникновению глюкозы из крови в клетки (кроме клеток печени и ЦНС). Стимулирует гликолиз, гликогенез в печени. Ингибирует глюконеогенез
Глюкагон	Поджелудочная железа (α -клетки)	Пониженный уровень глюкозы в крови	Повышает	Стимулирует гликогенолиз в печени, глюконеогенез
Адреналин	Мозговое вещество надпочечников	Эмоциональный и физический стресс	Повышает	Стимулирует гликогенолиз в печени, снижает расход глюкозы
Кортизол	Кора надпочечников	Пониженный уровень глюкозы в крови, стресс	Повышает	Стимулирует глюконеогенез

Абсолютная или относительная недостаточность инсулина является причиной развития СД – заболевания, распространенность которого в мире удваивается каждые 10-15 лет. Классификации ВОЗ выделяет несколько типов СД, наиболее распространенными являются:

- СД 1 типа (*ранее – инсулинозависимый диабет*) – абсолютная недостаточность инсулина, обусловленная патологией β -клеток поджелудочной железы, проявляется преимущественно в молодом возрасте, требует заместительной гормональной терапии;
- СД 2 типа (*ранее – инсулинонезависимый диабет*) – относительная недостаточность инсулина, вызванная инсулинорезистентностью – нарушением биологического действия инсулина, сопровождающимся снижением инсулинзависимого потребления глюкозы тканями (преимущественно скелетными мышцами), приводящим к хронической компенсаторной гиперинсулинемии. Этот тип диабета проявляется, как правило, после 40 лет.

Остальные типы выделяются достаточно редко, за исключением СД беременных, который носит преходящий характер.

Для лабораторной диагностики нарушений углеводного обмена, помимо оценки уровня глюкозы в крови натощак и в моче, используют пероральный глюкозо-толерантный тест (ПГТТ) – определение концентрации глюкозы натощак и через 2 ч после приема per os 75 г сухой глюкозы, растворенной в 250 мл воды. По результатам этого теста, согласно критериям ВОЗ, определяют не только наличие или отсутствие диабета, но и промежуточную категорию лиц – пациентов с нарушением толерантности к глюкозе.

В настоящее время для выявления диабета используются диагностические критерии 1999 г., подтвержденные в рекомендациях ВОЗ 2006 г. (табл. 19).

Таблица 19

Рекомендации ВОЗ по диагностическим критериям диабета и промежуточных гипергликемий (2006 г.)

Состояние	Концентрация глюкозы в плазме венозной крови, ммоль/л	
	натощак	через 2 часа нагрузки глюкозой
СД	≥ 7,0	≥ 11,1
Нарушенная толерантность к глюкозе	< 7,0	7,8–11,1
Аномальный уровень глюкозы натощак	6,1–6,9	< 7,8

Глюкоза в крови

Определение глюкозы в крови – один из наиболее широко распространенных тестов в клинической лабораторной диагностике. Глюкозу определяют в плазме, сыворотке, цельной крови. Согласно Руководству по лабораторной диагностике диабета, представленному Американской Ассоциацией диабета (2011 г.), не рекомендуется измерять глюкозу в сыворотке крови при диагностике диабета, поскольку именно использование плазмы позволяет быстро центрифугировать образцы, чтобы предотвратить гликолиз, не дожидаясь образования сгустка.

Различия в концентрации глюкозы в цельной крови и плазме требуют особого внимания при трактовке результатов. Концентрация глюкозы в плазме выше, чем в цельной крови, причем различие повышения зависит от величины гематокрита, следовательно, использование некоего постоянного коэффициента для сопоставления уровня глюкозы в крови и плазме может привести к ошибочным результатам. Согласно рекомендациям ВОЗ, стандартным методом для определения концентрации глюкозы должен быть метод определения глюкозы в плазме венозной крови. Концентрация глюкозы в плазме венозной и капиллярной крови не отличается натощак, однако через 2 ч после нагрузки глюкозой отличия существенны (табл. 20).

Таблица 20

Диагностические критерии нарушений углеводного обмена (ВОЗ, 1999–2013 гг.)

	Концентрация глюкозы, ммоль/л			
	Цельная кровь		Плазма	
	венозная	капиллярная	венозная	капиллярная
Норма				
Натощак	3,3–5,5	3,3–5,5	4,0–6,1	4,0–6,1
Через 2 часа после ПГТТ	<6,7	<7,8	<7,8	<7,8
Нарушенная толерантность к глюкозе				
Натощак	<6,1	<6,1	<7,0	<7,0
Через 2 часа после ПГТТ	>6,7<10,0	>7,8<11,1	>7,8<11,1	>8,9<12,2
СД				
Натощак	>6,1	>6,1	>7,0	>7,0
Через 2 часа после ПГТТ	>10,0	>11,1	>11,1	>12,2

На уровень глюкозы в биологическом образце значительное влияние оказывает его хранение. При хранении образцов при комнатной температуре в результате гликолиза происходит существенное снижение содержания глюкозы. Для ингибирования процессов гликолиза и стабилизации уровня глюкозы в пробу крови добавляют фторид натрия (NaF). При взя-

тии образца крови, согласно докладу экспертов ВОЗ (2006 г.), если немедленное отделение плазмы невозможно, образец цельной крови должен быть помещен в пробирку, содержащую ингибитор гликолиза, которую следует хранить во льду до выделения плазмы или проведения анализа.

Показания к исследованию

- Диагностика и мониторинг СД;
- заболевания эндокринной системы (патология щитовидной железы, надпочечников, гипофиза);
- заболевания печени;
- ожирение;
- беременность.

Особенности взятия и хранения образца

Перед исследованием необходимо исключить повышенные психоэмоциональные и физические нагрузки.

Предпочтительно – плазма венозной крови. Образец следует отделить от форменных элементов не позднее, чем через 30 мин после взятия крови, избегать гемолиза.

Образцы стабильны не более 24 ч при 2-8 °С.

Метод исследования

В настоящее время в лабораторной практике наибольшее распространение получили ферментативные методы определения концентрации глюкозы – гексокиназный и глюкозооксидазный.

Референсный интервал

3,89-5,83 ммоль/л.

Повышенные значения

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • СД 1 или 2 типа; • диабет беременных; • заболевания эндокринной системы (акромегалия, феохромоцитомы, синдром Кушинга, тиреотоксикоз, глюкоганомы); • гемахроматоз; | <ul style="list-style-type: none"> • панкреатит острый и хронический; • кардиогенный шок; • хронические заболевания печени и почек; • физические упражнения, сильное эмоциональное напряжение, стресс. |
|--|--|

Пониженные значения

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Передозировка инсулина или гипогликемических препаратов у больных СД; • заболевания поджелудочной железы (гиперплазия, опухоли), вызывающие нарушение синтеза инсулина; • дефицит гормонов, обладающих контринсулярным действием; • гликогенозы; | <ul style="list-style-type: none"> • онкологические заболевания; • тяжелая печеночная недостаточность, поражения печени, вызванные отравлением; • заболевания ЖКТ, нарушающие всасывание углеводов. • алкоголизм; • интенсивная физическая нагрузка, лихорадочные состояния. |
|---|---|

Глюкоза в моче

У здоровых людей глюкоза, поступившая в клубочковый фильтрат, практически полностью реабсорбируется в проксимальных канальцах и с мочой не выводится. Глюкоза начинает появляться в моче при превышении почечного порога, (уровня глюкозы плазмы, до которого осуществляется реабсорбция). Величина почечного порога индивидуальна, в среднем составляет 10-12 ммоль/л.

Показания к исследованию

Диагностика и мониторинг СД.

Особенности взятия и хранения образца

Образцы стабильны не более 24 ч при 2-8 °С.

Метод исследования

Для определения концентрации глюкозы в моче рекомендуется использовать ферментативный гексокиназный метод.

Референсный интервал, ммоль/л

разовая моча – 0,1-0,8.

суточная моча – 0,0-2,8.

Гликированный гемоглобин

Гликированный (гликозилированный) гемоглобин представляет собой стабильное соединение гемоглобина с глюкозой, которое образуется в результате неферментативного гликозилирования гемоглобина. Гликированные формы гемоглобина представлены фракцией HbA_1 ($HbA_{1a} + HbA_{1b} + HbA_{1c}$), в которой 80% составляет гемоглобин HbA_{1c} .

Повышение уровня гликированного гемоглобина отражает гипергликемию, которая имела место в период времени, равный продолжительности жизни эритроцита (от 30 до 120 суток; в среднем 60 суток для большей части эритроцитов), т. е. уровень гликированного гемоглобина отражает средний уровень глюкозы на протяжении предшествующих 6–8 недель.

Предложенные в настоящее время методы определения выявляют разные субфракции гемоглобина: одни измеряют HbA_1 , другие – HbA_{1c} , третьи – тотальный гликогемоглобин (GHb). Содержание гликированного гемоглобина принято представлять в процентах от концентрации общего гемоглобина у пациента. Референсные интервалы для оценки содержания гликированного гемоглобина, приведенные в литературе и инструкциях к наборам реагентов разных производителей, варьируют в зависимости от типа метода (иммунохимический, ионообменная или аффинная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)). В качестве референсного метода международными профессиональными организациями выбран метод ВЭЖХ.

Ложное повышение результатов определения гликированного гемоглобина может быть получено в случаях присутствия у пациента патологи-

ческих фракций гемоглобина (HbS, HbC и др.), повышенного содержания фетального гемоглобина HbF и железодефицитных состояний, не сопровождающихся анемией. При железодефицитной анемии, потере большого количества крови, укорочении времени жизни эритроцитов, гемофилии, наличии карбамелированного гемоглобина (у пациентов с уреимией) получают ложно заниженный уровень HbA_{1c}. У больных СД с хронической почечной недостаточностью уровень HbA_{1c} снижен из-за почечной анемии и не может характеризовать гликемию. Таким больным рекомендовано следить за уровнем гликемии, определяя концентрацию в крови фруктозамина.

Показания к исследованию

- Диагностика СД;
- контроль гипергликемии и мониторинг эффективности терапии сахарного диабета 1 и 2 типа;
- беременность.

Особенности взятия и хранения образца

Цельная кровь с антикоагулянтом.

Результат исследования не зависит от приема пищи, физических нагрузок, психоэмоционального состояния пациента и других факторов, влияющих на содержание глюкозы в крови. Взятие крови может проводиться в любое время суток.

Метод исследования

Концентрацию гликированного гемоглобина в крови предпочтительно определять референсным методом – ВЭЖХ.

Референсный интервал,% от общего содержания гемоглобина

4-6%.

6-7% – компенсированный СД.

Повышенные значения

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • СД 1 и 2 типа; • диабет беременных; • вторичный СД; • нарушение толерантности к глюкозе; | <ul style="list-style-type: none"> • железодефицитные состояния; • повышенное содержание фетального гемоглобина или патологических форм гемоглобина HbS, HbC и др. |
|---|--|

Пониженные значения

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • потеря большого количества крови; • укорочение времени жизни эритроцитов; | <ul style="list-style-type: none"> • гемолитическая болезнь; • наличие карбамелированного гемоглобина (у пациентов с уреимией). |
|--|---|

Фруктозамин

Фруктозамин (ФА) – продукт неферментативного гликозилирования свободных аминокислот белков, преимущественно альбумина. Время полужизни альбумина составляет 20 дней, следовательно, концентрация ФА позволяет оценить уровень гликемии на протяжении последних 2–3 недель. Некоторые

исследователи считают ФА более быстрым и удобным маркером среднего уровня глюкозы, чем гликированный гемоглобин. Пациентам, страдающим железодефицитной анемией, потерявшим много крови, а также в случае гемолитической болезни и укорочения времени жизни эритроцитов, в целях предотвращения получения ложных результатов рекомендуется вместо концентрации гликированного гемоглобина определять содержание ФА в крови.

Уровень ФА в крови оценивают при мониторинге эффективности лечения гипергликемий и СД, а также при оценке риска развития возможных осложнений СД. Следует отметить, что при болезнях, сопровождаемых протеинурией и гипопроteinемией, результаты измерения ФА могут оказаться ложно заниженными.

Показания к исследованию

- Контроль гипергликемии и мониторинг эффективности терапии СД 1 и 2 типа;
- контроль гипергликемии у больных СД с хронической почечной недостаточностью;
- мониторинг гипергликемии у пациентов с анемией (гемолитической, железодефицитной);
- беременность;
- новорожденные.

Метод исследования

Для определения концентрации ФА используют химический колориметрический метод. ФА восстанавливает в щелочной среде тетразолий нитро-синий (NBT) в формазан. Интенсивность окрашивания при длине волны 550 нм прямо пропорциональна концентрации ФА в пробе.

Референтный интервал, мкмоль/л

<285.

280-320 – компенсированный СД

Повышенные значения

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • СД 1 и 2 типа; • диабет беременных; • нарушение толерантности к глюкозе; | <ul style="list-style-type: none"> • вторичный СД; • цирроз печени; • гипотиреоз; • почечная недостаточность. |
|--|---|

Лабораторные показатели обмена железа

Железо

В организме взрослого человека содержится примерно 4 грамма железа, которое находится в связанной с белками форме и не встречается в виде свободных катионов. Железосодержащие белки выполняют ряд важнейших функций:

- перенос кислорода – гемсодержащие белки гемоглобин и миоглобин. В

составе гемоглобина эритроцитов содержится 70% всего железа организма человека;

- депонирование и поддержание запасов железа в клетках организма – ферритин и гемосидерин. В этих белках запасено около 27% всего железа организма человека;
- транспорт железа в плазме крови – белок-переносчик трансферрин связывает примерно 1% железа, содержащегося в организме человека;
- участие в метаболических реакциях – ферменты и коферменты: цитохромы, пероксидазы, аконитаза, ферродоксин. На долю ферментов приходится 0,2% всего железа организма человека.

Обычная диета человека содержит в день 10-15 мг железа, из которых всасывается в кишечнике не более 10%. В природе железо существует в двух химических формах – закисное двухвалентное железо (Fe^{2+}), и окисное трехвалентное железо (Fe^{3+}). Гемовое железо (Fe^{2+}) существенно лучше всасывается в кишечнике, чем негемовое (Fe^{3+}). Наиболее богаты гемовым железом мясо и печень (особенно говядина); мясные продукты – основной источник железа в питании человека. Всасывание железа в кишечнике регулируется его запасами в организме: при недостатке железа, анемиях, неэффективном эритропоэзе, всасывание усиливается, и наоборот – избыток запасенного железа приводит к снижению всасывания в энтероцитах. Избыток железа, запасенный в виде ферритина в энтероцитах, выводится из организма с фекалиями при слущивании клеток кишечника (около 1 мг/сут). Экскреция железа с мочой колеблется в значительных пределах, составляя у здоровых людей 32-285 мкг/сут.

В результате абсорбции в 12-перстной, тощей и подвздошной кишке ионы железа поступают в сыворотку крови, связываясь с трансферрином. Сывороточный пул железа в большей части (до 80%) использован для формирования гемоглобина эритроцитов. Железо гемоглобина используется многократно: после распада эритроцитов железо гема поступает в новый цикл синтеза гемсодержащих белков или запасается в тканях в виде ферритина или гемосидерина. Таким образом, концентрация железа в сыворотке зависит от его всасывания в кишечнике, накопления в клетках кишечника, селезенки и красного костного мозга, интенсивности синтеза и распада гемоглобина и его потерь организмом.

Истощение запасов железа может приводить к развитию железодефицитной анемии, в этих случаях понижается насыщение железом трансферрина, в тканях и плазме крови снижается концентрация ферритина. Железодефицитная анемия характеризуется снижением продукции гемоглобина в каждой клетке – предшественнице эритроцита, что приводит к микроцитозу и гипохромии. Кроме того, происходит снижение пролиферации, способствуя уменьшению числа эритроцитов.

Избыточное накопление железа не менее опасно и может приводить к серьезным повреждениям органов и тканей. При хроническом избыточ-

ном накоплении железа поражаются поджелудочная железа, печень, сердце, гонады и суставы.

Определяемая в клинической практике концентрация железа сыворотки – это преимущественно Fe^{3+} , связанное с трансферрином и ферритином, она не включает в себя железо, присутствующее в крови в составе гемоглобина. Уровень железа сыворотки крови меняется в зависимости от времени суток (пик в утренние часы), возраста и пола. У женщин концентрация железа в среднем ниже, чем у мужчин, и связана с фазой менструального цикла. При беременности отмечается уменьшение содержания железа, особенно в III триместре.

Показания к исследованию

- Дифференциальная диагностика анемий;
- выявления избыточного накопления железа (гемохроматоз, гемосидероз, отравление железом);
- острые и хронические инфекционные заболевания, системные воспалительные заболевания;
- контроль терапии препаратами железа;
- беременность.

Особенности взятия и хранения образца

Образец для исследования без признаков гемолиза. Отделение эритроцитов от сыворотки крови должно быть проведено в максимально короткие сроки. За две недели до исследования желательно отменить прием железосодержащих препаратов.

Метод исследования

В лабораторной диагностике для определения концентрации железа сыворотки крови используют химические колориметрические методы, основанные на формировании окрашенных комплексов железа с разнообразными хромогенами. В кислой среде комплекс железо-трансферрин диссоциирует, ионы Fe^{3+} восстанавливаются аскорбиновой кислотой до ионов Fe^{2+} , которые образуют с хромогеном цветной комплекс, интенсивность окраски которого при определенной длине волны пропорциональна концентрации железа в исследуемом образце.

Референсный интервал, мкмоль/л, колориметрический метод, Ferene

Мужчины – 11,6-31,3.

Женщины – 9,0-30,4.

Повышенные значения

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • V_{12}- и фолиеводефицитные анемии; • гемолитические анемии; • апластические анемии; • сидеробластные анемии; • талассемия; • гемохроматоз; | <ul style="list-style-type: none"> • острый гепатит, другие заболевания печени; • избыточная терапия препаратами железа, повторные трансфузии крови; • нефрит. |
|---|---|

Пониженные значения

- Железодефицитная анемия;
 - дефицит железа в пище, в том числе при недостаточном поступлении железа у вегетарианцев;
 - нарушение всасывания железа вследствие заболеваний ЖКТ (тотальная и субтотальная гастрэктомия, сниженная кислотность и ахлоргидрия, хроническая диаррея и стеаторрея);
 - хроническая кровопотеря;
- острые и хронические инфекции, особенно гнойные и септические состояния;
 - воспалительные процессы;
 - хронический гепатит и цирроз печени;
 - злокачественные новообразования;
 - нефротический синдром;
 - повышенное потребление железа организмом (беременность, кормление грудью, подростковый период, физические нагрузки).

Трансферрин

Трансферрин переносит атомы железа из ЖКТ к клеткам органов, депонирующих железо, между эритроидными элементами костного мозга и макрофагами, регулирует транспорт железа в гепатоциты. Как и все транспортные белки, трансферрин синтезируется в печени, в небольших количествах также образуется в лимфоидной ткани, молочной железе, тестикулах и яичниках. Он представляет собой гликопротеид с ММ 76-77 кДа, обладает значительным генетическим полиморфизмом (более 20 вариантов нарушений первичной структуры). Каждая молекула трансферрина способна связать два атома железа, для связывания необходимо присутствие бикарбонатов.

Атомы железа транспортируются в клетку путем взаимодействия комплекса железо-трансферрин со специфичными рецепторами плазматической мембраны. Комплекс железо-трансферрин проникает в цитозоль, где освобождается атом железа, при этом трансферрин выходит из клетки в кровяное русло, оставаясь способным к повторному и многократному связыванию ионов железа. Ретикулоциты обладают наибольшей плотностью рецепторов к трансферрину на плазматической мембране. Железо в этих клетках связывается с протопорфирином с образованием гема, при соединении которого с глобином образуются гемоглобин или миоглобин.

Интенсивность синтеза трансферрина соотносится с общими запасами железа по принципу обратной связи – при истощении запасов железа синтез трансферрина активизируется, при увеличении – падает. При насыщении трансферрина ниже 16% поступление железа к эритроцитарному ростку костного мозга становится недостаточным для синтеза гемоглобина, что приводит к микроцитозу и гипохромии. Также происходит снижение клеточной пролиферации, что влечет за собой уменьшение числа эритроцитов. Следует помнить, что трансферрин является одним из «отрицательных» белков острой фазы, т.е. при различных воспалительных заболеваниях его концентрация снижается, что может приводить к ошибкам в диагностике дефицита железа.

Показания к исследованию

- Дифференциальная диагностика анемий;
- выявление гемохроматоза;
- злокачественные новообразования;
- хронические инфекционные и воспалительные заболевания;
- заболевания печени;
- заболевания почек;
- беременность.

Условия взятия и хранения образца

Образец без признаков гемолиза.

Метод исследования

Для определения концентрации трансферрина в сыворотке крови используют методы иммунотурбидиметрии или иммунонефелометрии.

Референсный интервал, г/л

Мужчины – 1,7-3,6.

Женщины – 1,8-3,8.

Повышенные значения

- Железодефицитная анемия;
- беременность (последний триместр);
- прием контрацептивов, терапия эстрогенами.

Пониженные значения

- Гипопластические, гемолитические, мегалобластные анемии, гемохроматоз, повторные переливания крови, терапия препаратами железа;
- состояния, характеризующиеся снижением концентрации железа в сыворотке крови и торможением синтетических процессов в гепатоцитах (белковое голодание, острые и хронические инфекции, хронический гепатит и цирроз печени, хирургические вмешательства, неопластические процессы);
- потеря белка при хронических нефропатиях, заболеваниях тонкой кишки.

Ферритин

Ферритин – основная форма депонирования железа, молекула состоит из белковой оболочки (апоферритин) и ядра, в котором накапливается железо – до 4500 атомов в форме гидроксилфосфата. Наибольшее количество ферритина содержат клетки печени, селезенки и костного мозга, где ферритин обеспечивает быстродоступный запас железа для формирования гемоглобина и других гемосодержащих белков. Незначительное количество ферритина присутствует в сыворотке крови, причем его концентрация пропорциональна общему запасу железа в организме. Понижение концентрации ферритина в крови является надежным маркером железодефицитных состояний и возникает значительно раньше появления признаков анемии. Следует помнить, что ферритин относится к белкам острой фазы и его уровень может возрастать не только при избыточном

накоплении железа в организме, но и при различных воспалениях.

Уровень ферритина – важный критерий в дифференциальной диагностике анемий. При железодефицитной анемии концентрация железа в сыворотке крови обычно снижена или находится на нижней границе нормы, железосвязывающая способность сыворотки повышена, концентрация ферритина значительно снижена.

Анемия, отмечаемая у многих больных с хроническими инфекционными или воспалительными процессами, а также с онкологическими заболеваниями, может быть не связана с дефицитом железа. В таких случаях наряду со снижением концентрации железа в сыворотке крови отмечают падение общей железосвязывающей способности сыворотки крови (ОЖСС) при нормальной или повышенной концентрации ферритина. Назначение препаратов железа в таких случаях не оправдано и даже опасно возможностью его избыточного накопления в организме пациента. При избыточном накоплении железа в организме, вызванном таким заболеванием, как наследственный гемохроматоз, или повторными переливаниями крови и неадекватной терапией железом, происходит повышение уровня ферритина и снижение ОЖСС.

Показания к исследованию

- Дифференциальная диагностика анемий;
- выявление гемохроматоза;
- злокачественные новообразования;
- хронические инфекционные и воспалительные заболевания.

Метод исследования

Определение концентрации ферритина в сыворотке крови проводят иммунохимическими методами: ИФА, иммунотурбидиметрия и др.

Референсный интервал, нг/мл

Мужчины – 22-275.

Женщины – 4,6-204.

Повышенные значения

- Избыточное накопление железа в организме;
- хронические инфекции и воспаления;
- острые и хронические заболевания печени;
- онкологические заболевания.

Пониженные значения

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Железодефицитная анемия; • недостаток железа в пище; • нарушение всасывания железа при заболеваниях ЖКТ, целиакия; | <ul style="list-style-type: none"> • хронические кровопотери; • повышенная потребность в железе при беременности и в период активного роста. |
|--|--|

Общая железосвязывающая способность сыворотки крови. Латентная (ненасыщенная) железосвязывающая способность сыворотки крови

Максимальное количество железа, которое может присоединить транс-

феррин до своего полного насыщения, называют общей железосвязывающей способностью сыворотки крови (ОЖСС). ОЖСС коррелирует с уровнем трансферрина в сыворотке, но соотношение между ними нелинейно и нарушается при заболеваниях, влияющих на связывающую способность трансферрина и других железосвязывающих белков. Дополнительное количество железа, которое может связаться с трансферрином, составляет ненасыщенную (латентную) железосвязывающую способность сыворотки (НЖСС). Таким образом, ОЖСС представляет сумму двух слагаемых: насыщенной железом части трансферрина (содержание железа в сыворотке) и ненасыщенной (НЖСС):

$$\text{ОЖСС} = \text{Железо сыворотки} + \text{НЖСС}$$

Отношение количества железа, связанного с трансферрином, к ОЖСС, дает представление о коэффициенте (степени) насыщения трансферрина:

$$\text{Коэффициент насыщения, \%} = \text{Железо сыворотки} / \text{ОЖСС} \times 100$$

Показания к исследованию

- Диагностика железодефицитных состояний;
- диагностика анемий;
- хронические кровопотери;
- заболевания ЖКТ;
- тяжелые заболевания, сопровождающиеся значительной потерей или усиленным потреблением белка;
- системные заболевания соединительной ткани, тяжелые хронические заболевания.

Метод исследования

При определении ОЖСС в пробу крови пациента добавляют избыток трехвалентного железа, ионы, оставшиеся в сыворотке после насыщения трансферрина, преципитируют карбонатом магния. Концентрация общего железа, определенная колориметрическим методом в супернатанте, отражает величину ОЖСС.

При определении НЖСС в сыворотку крови пациента добавляют раствор соли двухвалентного железа. Избыток железа, оставшийся в сыворотке после насыщения трансферрина, определяют по реакции с хромогеном колориметрическим методом. НЖСС рассчитывают как разность между общим количеством ионов железа, добавленного в пробу, и количеством ионов железа, определенных в ходе реакции, т. е. не связанных белками.

Референсный интервал, мкмоль/л

ОЖСС 44,8-80,6.

НЖСС 19,7-66,2.

Повышенные значения

- Железодефицитные состояния:
 - хроническая кровопотеря;
 - недостаточное поступлением железа с пищей;
 - нарушение всасывания железа, вызванное заболеваниями ЖКТ;
 - повышенные утилизация и потребление железа (поздние сроки бере-

менности, активный рост).

- истинная полицитемия.

Пониженные значения

- Тяжелые заболевания, сопровождающиеся значительной потерей или усиленным потреблением белка:
 - нефротический синдром;
 - хроническая почечная недостаточность;
 - тяжелые ожоги;
 - хронические инфекции и активные воспалительные процессы;
 - тяжелые заболевания печени с нарушением ее белковосинтетической функции;
- квашиоркор;
- гемохроматоз;
- атрансферринемия;
- гемолитическая анемия;
- мегалобластная анемия.
- атрансферринемия;
- избыточное насыщение железом (отравление железом, частые переливания крови, неадекватная терапия препаратами железа).

Креатинин

Креатинин – один из конечных продуктов белкового обмена, образуется в результате катаболизма креатина, вещества, играющего важную роль в формировании макроэргических соединений, необходимых для обеспечения мышечного сокращения. Большая часть креатинина образуется в мышечной ткани, он присутствует в сыворотке крови, поте, желчи, содержанием кишечника, цереброспинальной жидкости. Креатинин фильтруется через базальную мембрану гломерул и в норме не подвержен реабсорбции в тубулярном отделе нефрона. Измерение креатинина используется при диагностике заболеваний почек и мышечной ткани.

Креатинин в крови

Уровень креатинина в крови зависит от массы мышц и, в меньшей степени, от массы тела, концентрация креатинина в крови отличается у мужчин и женщин, меняется с возрастом. Увеличение креатинина в крови отмечают при повреждении мышечной ткани (рабдомиолиз, синдром длительного сдавливания, обширные ожоги и т. п.). Повышение уровня креатинина в крови является более надежным признаком почечной недостаточности, чем увеличение мочевины, поскольку происходит в более ранний период и не связано с метаболизмом экзогенного белка. Низкобелковая диета, полиурия не оказывают влияния на содержание креатинина в крови в отличие от мочевины. Все это делает креатинин предпочтительным тестом скрининга для выявления нарушений работы почек. Повышение уровня креатинина в сыворотке крови может свидетельствовать об остром или хроническом нарушении функции почек. Низкий уровень креатинина в крови отмечают при беременности, кахексии, у лиц пожилого возраста.

Показания к исследованию

- Патология почек;
- заболевания и повреждения мышц.

Метод исследования

Для определения креатинина в лабораторной практике используют химические колориметрические (многочисленные модификации метода Яффе) и ферментативные методы. Значения концентрации креатинина, полученные химическими и ферментативными методами, отличаются.

Референсный интервал, мкмоль/л, метод Яффе

Мужчины 62–115.

Женщины 53–97.

Повышенные значения

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Заболевания почек; • повреждение мышц, мышечная дистрофия, обширные ожоги, | <ul style="list-style-type: none"> • акромегалия, гигантизм; • гипертиреоз; • кишечная непроходимость. |
|---|---|

Пониженные значения

- Гиподинамия;
- беременность.

Креатинин в моче

Креатинин полностью выделяется из организма почками, причем преимущественно путем клубочковой фильтрации, не реабсорбируясь в почечных канальцах. Суточное выделение креатинина с мочой довольно постоянная величина для каждого человека, зависящая от общей мышечной массы и выделительной способности почек. Уменьшение экскреции креатинина с мочой и повышение креатинина в крови свидетельствуют о снижении уровня почечной фильтрации и наблюдаются у больных с различными видами патологии почек.

Показания к исследованию

Уровень креатинина в моче определяют при патологии почек и заболеваниях мышц.

Метод исследования

Определение концентрации креатинина в моче проводится с использованием усовершенствованного метода Яффе.

Референсный интервал, ммоль/сут

Мужчины 7,1–17,7.

Женщины 5,3–15,9.

Повышенные значения

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Повышенное содержание белка в пище; • физическая нагрузка; | <ul style="list-style-type: none"> • инфекции; • акромегалия, гигантизм. |
|---|--|

Пониженные значения

- Заболевания почек;
- повреждение мышц, мышечная дистрофия, обширные ожоги;
- анемия;
- лейкоз.
- гипертиреоз.

Проба Реберга

Уровень креатинина в крови определен его образованием и удалением через гломерулярный фильтр, т. е. клиренсом креатинина. Для более точной оценки функции почек целесообразно проводить оценку скорости клубочковой фильтрации, для чего для определения клиренса проводят определения креатинина в сыворотке крови и моче (проба Реберга). Для расчета скорости клубочковой фильтрации используют формулу:

$$F=(Cm/Cp) \times V, \text{ где}$$

F – скорость клубочковой фильтрации,

Cm – содержание креатинина в моче,

Cp – содержание креатинина в плазме (сыворотке) крови,

V – объем мочи, выделенной за одну минуту (минутный диурез).

Значение клиренса могут быть приведены к стандартной площади поверхности тела по формуле:

$$\text{Корригированный клиренс} = F/1,73$$

(у взрослого человека с массой 70 кг площадь поверхности тела равна 1,73 м²).

У здоровых людей снижение скорости клубочковой фильтрации происходит под влиянием тяжелой физической нагрузки и отрицательных эмоций; возрастает после питья жидкости и приема высококалорийной пищи. Скорость клубочковой фильтрации — чувствительный показатель функционального состояния почек, снижение которого происходит значительно раньше уменьшения концентрационной способности почек и накопления в крови азотистых шлаков при поражении клубочков. Благодаря этому снижение скорости клубочковой фильтрации является одним из ранних симптомов нарушения функции почек.

Исследование позволяет рассчитать также значение канальцевой реабсорбции (КР), которая отражает суммарную концентрационную функцию проксимальных и дистальных отделов канальцев почки:

$$КР = (F - V/F) \times 100\%, \text{ где}$$

F – скорость клубочковой фильтрации,

V – объем мочи (мл), выделенной за одну минуту (минутный диурез)

Снижение канальцевой реабсорбции рано наступает при тубулоинтерстициальных поражениях: метаболических, лекарственных, гидронефрозе, поликистозе, тогда как при заболеваниях почек с преимущественным поражением клубочков канальцевая реабсорбция уменьшается позже, чем клубочковая фильтрация.

Показания к исследованию

Оценка выделительной функции почек.

Референсный интервал

Скорость клубочковой фильтрации 80-160 мл/мин.

Канальцевая реабсорбция 95-99%.

Повышенные значения скорости клубочковой фильтрации

- Начальный период СД;
- гипертоническая болезнь.

Пониженные значения скорости клубочковой фильтрации

- Острые и хронические нефриты;
- гломерулосклероз;
- почечная недостаточность.

Понижение канальцевой реабсорбции

- Значительная водная нагрузка;
- тубулоинтерстициальные поражения почек.

Лабораторные показатели обмена липидов

Липиды (от греч. λίπος, lípos — жир) – разнородная группа углеводородсодержащих органических веществ. В крови человека присутствуют липиды нескольких классов, основными из них являются: холестерин (ХС) в свободной и этерифицированной форме (эфиры ХС), фосфолипиды (ФЛ), триглицериды (ТГ), а также неэтерифицированные или свободные жирные кислоты (НЭЖК или СЖК). Физиологические функции липидов важны и многообразны: ХС и ФЛ являются основными компонентами мембран клеток, ТГ представляют собой форму депонирования энергии, служат основным поставщиком и источником макроэргических связей, необходимых для метаболических реакций организма. Липиды являются предшественниками стероидных гормонов, желчных кислот, простагландинов, лейкотриенов и других метаболически активных соединений, участвуют в проведении нервных импульсов, свертывании крови, иммунологических реакциях. В кровяном русле липиды (ТГ, ХС и эфиры ХС, ФЛ) транспортируются в ассоциации со специфичными транспортными белками – апопротеинами (апо) в составе макромолекулярных комплексов липопротеидов (ЛП), формируя сложную липид-транспортную систему. НЭЖК не входят в состав ЛП, в крови они ассоциированы с альбумином.

Липопротеиды плазмы крови – уникальная форма транспорта экзогенных и эндогенных липидов в организме человека и животных. ЛП принято разделять на пять классов, каждый из которых определенным образом участвует в метаболизме липидов (табл. 21) Классификация ЛП основана на гидратированной плотности частиц или их подвижности при электрофорезе. Классы ЛП различаются по физико-химическим свойствам (гидратирован-

ной плотности, размерам) и составу (соотношению липидов и белков). Каждый класс ЛП представляет собой смесь частиц, состав, размер и плотность которых варьирует в определенных пределах. В клинической биохимии уровень ЛП в плазме (сыворотке) крови оценивают по содержанию в них ХС.

Таблица 21

Классы ЛП – функции и белковый состав

Класс ЛП	Функция	Апопротеины, основные и минорные
ХИЛОМИКРОНЫ ХМ	Транспорт экзогенных липидов	Апо B-48 Апо A-I, C-II, C-III, E
ЛП очень низкой плотности ЛПОНП, пре-β	Транспорт эндогенных ТГ	Апо B-100 Апо C-II, C-III, E
ЛП промежуточной плотности, ЛППП	Предшественник ЛПНП	Апо B-100 Апо E
ЛП низкой плотности ЛПНП, β	Транспорт ХС к периферическим тканям (прямой)	Апо B-100
ЛП высокой плотности ЛПВП, α	Транспорт ХС к печени (обратный)	Апо A-I , Апо A-II Апо C-II, C-III, E

Значение уровня ХС в крови и отдельных классах ЛП как факторов риска ССЗ определило особое отношение к этим лабораторным показателям в клинической практике. Из всего множества лабораторных тестов показатели липид-транспортной системы фактически единственные, для которых определяющими в диагностике являются не диапазоны референсных значений, а значения, определяемые индивидуально для пациента в зависимости от наличия или отсутствия факторов риска ССЗ. В разных документах значения ХС, при которых риск ССЗ для данной группы пациентов существенно уменьшается, определяют как оптимальные (optimal) или желательные (desirable), а также целевые – значения, которые следует получить в ходе гиполипидемической терапии (табл. 22).

Таблица 22

Оптимальные (желательные) значения показателей липид-транспортной системы для лиц старше 20 лет (European Atherosclerosis Society – European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2018)

Показатель липидтранспортной системы	Характеристика значений	Уровень показателя, ммоль/л
Общий ХС	желательные	< 5,0
ХС ЛПНП	Оптимальные, уровень риска • от низкого до умеренного • высокий • очень высокий	< 3,0 < 2,5 < 1,7
ХС ЛПВП	Оптимальные	≥ 1,0 (муж); ≥ 1,2 (жен)
ТГ (натошак)	Оптимальные	< 1,7

Нарушения липидного обмена сложны и многообразны. В клинической практике для их выявления обычно определяют уровень ХС и ТГ в сыворотке крови и уровень ХС в отдельных классах ЛП (ХС ЛПНП, ХС ЛПВП), при возможности – концентрацию апопротеинов А и В, а также ЛП(а). Определение в крови уровня общих ФЛ и НЭЖК не дает дополнительной диа-

гностической информации и в настоящее время в практике клинических лабораторий не используется.

В документах последних лет предложены новые расчетные тесты для характеристики липидного обмена. ХС апоВ ЛП (non-HDLcholesterol), расчет проводят по формуле (Общий ХС – ХС ЛПВП), сообщает концентрацию ХС во всех атерогенных, содержащих апо В классах ЛП – ХМ, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП. Этот показатель особо рекомендуется применять для оценки уровня рисков ССЗ и эффективности гиполипидемической терапии у лиц в гипертриглицеридемией, когда определение ХС ЛПНП представляет определенные трудности. Показатель, названный ХС ремнантов, определяют по формуле Общий ХС – ХС ЛПВП – ХС ЛПНП. Его значение показывает содержание ХС в классах ЛП, богатых ТГ – ХМ, ЛПНП, ЛППП. Эти показатели пока не вошли в широкую практику.

Холестерин

Холестерин – важнейший представитель стероидов, одной из групп, выделяемых среди стероидов, широко распространенных биологически активных соединений. ХС хорошо растворяется в органических растворителях и практически не растворим в воде. 80% холестерина в организме составляет свободный ХС, почти весь он является компонентом биологических мембран. В кровяном русле только часть ХС представлена свободным стеринном, $\frac{3}{4}$ ХС присутствует в форме эфиров с длинноцепочечными жирными кислотами.

ХС синтезируется практически во всех органах и тканях млекопитающих, однако основными местами его синтеза являются печень (80%), стенка тонкой кишки (10%) и кожа (5%). В сутки организм человека синтезирует около 1 гр ХС. Катаболизм ХС происходит посредством окисления в желчные кислоты (около 500 мг в сут) и превращения под влиянием микробной флоры толстой кишки в копростерин и другие нейтральные стерины (около 500 мг в сут), выводимые из организма с калом.

Основная функция ХС в организме млекопитающих (животных и человека) – формирование вместе с ФЛ и белками бислоя биологических мембран. Кроме того, ХС является источником образования желчных кислот и предшественником стероидных гормонов (альдостерона, прогестерона, кортизона, андрогенов и эстрогенов). ХС транспортируется в крови в составе макромолекулярных комплексов – липопротеидов.

Развитие гиперхолестеринемии (ГХС) может быть обусловлено генетическими аномалиями (первичные ГХС) или некоторыми заболеваниями – диабетом, нарушением функции печени или почек, гормональными нарушениями (вторичные ГХС). Концентрация ХС не несет диагностической информации относительно наличия определенного заболевания. При выявлении повышенной концентрации ХС необходимо провести дополнительные исследования для выявления заболеваний, обуславливающих развития вторичной ГХС.

Показания к исследованию

- Организация мероприятий по первичной и вторичной профилактике ССЗ с учетом индивидуальной категории риска пациента;
- контроль эффективности гиполипидемической терапии;
- выявление наследственной патологии липидного обмена;
- оценка степени нарушений липидтранспортной системы при вторичных гиперлипидемиях.

Особенности взятия и хранения образца

Образцы без признаков гемолиза. При использовании плазмы крови в качестве антикоагулянта допустима только ЭДТА.

Метод исследования

Для определения ХС используется ферментативный колориметрический метод.

Референсный интервал

В диагностике используются не диапазоны референсных значений ХС, а оптимальные (желательные) значения, определяемые индивидуально для пациента в зависимости от наличия или отсутствия факторов риска ССЗ (табл. 22).

Диапазон референсных значений для ХС, установленные по результатам эпидемиологических исследований в РФ, составляет 3,2–6,2 ммоль/л, т. е., как и во многих других популяциях, пределы референсных значений перекрываются с уровнем ХС, способствующим риску ИБС. Поскольку низкий уровень ХС отражает многочисленные и широко распространенные патологии (анемии, гипертиреоз, некроз клеток печени, онкологические заболевания и др.), нецелесообразно в бланке анализа указывать только верхние границы диапазона ($ХС < 5,0$ ммоль/л), полностью отказываясь от нижней границы.

Повышенные значения

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Наследственные заболевания:<ul style="list-style-type: none">• семейная гиперхолестеринемия;• семейная комбинированная гиперлипидемия;• полигенная гиперхолестеринемия;• семейная дисбеталипопротеинемия;• вторичные гиперхолестеринемии:<ul style="list-style-type: none">• заболевания печени, (холестаз; жировой гепатоз);• заболевания почек (нефротический синдром, гломерулонефриты, хроническая почечная недостаточность); | <ul style="list-style-type: none">• сахарный диабет;• гипотиреоз;• острая перемежающаяся порфирия;• ожирение;• алкоголизм;• прием гепатотоксичных препаратов, андрогенов, бета-блокаторов, оральных контрацептивов, кортикостероидов;• диета, богатая животными жирами. |
|--|---|

Пониженные значения

- Наследственные заболевания: (гипобеталиппротеинемия, абеталиппротеинемия);
- гипертиреоз;
- печеночная недостаточность;
- синдром мальабсорбции;
- длительное голодание, недостаточное питание, вегетарианство; кахексия;
- онкологические заболевания;

Холестерин липопротеидов низкой плотности

Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) у человека содержат большую часть циркулирующего ХС (65-75%) и транспортируют его к периферическим тканям для формирования мембран и процессов стероидогенеза. Основным и практически единственным видом апоЛП в составе ЛПНП является апо В-100, каждая частица ЛПНП содержит только одну молекулу. В клинической практике уровень ЛПНП в плазме (сыворотке) крови оценивают по содержанию в них ХС. В настоящее время можно считать доказанным, что увеличение ХС ЛПНП – фактор риска атеросклероза. В ряде современных документов рекомендуется использовать уровень ХС ЛПНП, а не общего ХС для оценки риска заболеваний ССЗ или эффективности гиполипидемической терапии.

Показания к исследованию

- Организация мероприятий по первичной и вторичной профилактике ССЗ с учетом индивидуальной категории риска пациента;
- контроль эффективности гиполипидемической терапии;
- выявление наследственной патологии липидного обмена;
- оценка степени нарушений липид-транспортной системы при вторичных гиперлипидемиях.

Особенности взятия и хранения образца

Образцы без признаков гемолиза. При использовании плазмы крови в качестве антикоагулянта допустима только ЭДТА.

Методы исследования

«Прямые» или гомогенные методы определения ХС ЛПНП получают все большее распространение в лабораторной практике, однако применяется и расчетный метод Фридвальда.

Референсный интервал

В диагностике используются не диапазоны референсных значений ХС ЛПНП, а оптимальные (желательные) значения, определяемые индивидуально для пациента в зависимости от наличия или отсутствия факторов риска ССЗ (см табл.).

Повышенные значения, пониженные значения (см. Холестерин).

Холестерин липопротеидов высокой плотности

Липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), в отличие от других классов

ЛП, участвуют в транспорте ХС от периферических тканей к печени. Этот процесс носит название обратного или афферентного транспорта ХС. Основными белками ЛПВП являются апопротеины А-I и А-II. Многочисленными клиническими и эпидемиологическими исследованиями показана отрицательная взаимосвязь между заболеваемостью ИБС и уровнем ХС ЛПВП.

Показания к исследованию

- Организация мероприятий по первичной и вторичной профилактике ССЗ с учетом индивидуальной категории риска пациента;
- контроль эффективности гиполипидемической терапии;
- выявление наследственной патологии липидного обмена;
- оценка степени нарушений липид-транспортной системы при вторичных гиперлипидемиях.

Особенности взятия и хранения образца

Образцы без признаков гемолиза. При использовании плазмы крови в качестве антикоагулянта допустима только ЭДТА.

Метод исследования

«Прямые» или гомогенные методы определения ХС ЛПВП получают все большее распространение в лабораторной практике, однако применяется и метод преципитации.

Референсный интервал

В диагностике используются не диапазоны референсных значений ХС ЛПВП, а оптимальные (желательные) значения (см. табл). Значения ХС ЛПВП $\leq 1,0$ ммоль/л (40 мг/дл) для мужчин, $\leq 1,2$ ммоль/л (46 мг/дл) для женщин – маркеры риска ССЗ.

Пониженные значения

- Наследственные заболевания;
- состояния острой фазы (острый период ИМ; хирургические вмешательства, острые воспалительные заболевания);
- прием анаболиков;
- курение;
- малоподвижный образ жизни;
- диета с низким содержанием жиров или с высокой долей полиненасыщенных ЖК.

Триглицериды

Триглицериды (ТГ или триацилглицерины) – эфиры трехатомного спирта глицерина и высших ЖК. В одной молекуле ТГ содержатся обычно остатки разных ЖК. Значительная часть всех ТГ организма депонирована в жировой ткани. В кровяном русле могут присутствовать экзогенные (пищевые) и эндогенные ТГ. Наряду с ТГ, в организме присутствуют продукты их гидролиза – ди- и моноглицериды.

Формирование ТГ имеет место в тонком кишечнике (ресинтез ТГ) и

в печени (эндогенные ТГ). Первой стадией катаболизма ТГ является гидролиз, катализируемый разными ферментами семейства липаз (панкреатическая, кишечная и гормонозависимая липазы, гепарин-зависимая липопроотеидлипаза, печеночная триглицеридлипаза и др.). Продукты гидролиза ТГ – глицерин и НЭЖК могут быть катаболизированы в клетках практически всех тканей организма. ТГ являются основным поставщиком и источником макроэргов, образуемых при β -окислении жирных кислот.

Концентрация ТГ в крови может меняться в значительных пределах. Различают физиологическую (возникает после приема пищи и продолжается до 14 часов) и патологическую гипертриглицеридемию, которая может быть обусловлена генетическими нарушениями или определенными заболеваниями (СД, гипотиреоз, нефротический синдром, жировая инфильтрация печени и др.). Выраженная гипертриглицеридемия (> 1000 мг%) способствует развитию заболеваний поджелудочной железы и зачастую осложняется панкреатитом, который считают одним из клинических проявлений наследственных форм гипертриглицеридемии. Концентрация ТГ не несет диагностической информации относительно наличия определенного заболевания. При выявлении повышенной концентрации ТГ необходимо провести дополнительные исследования для выявления заболеваний, обуславливающих развитие вторичной гипертриглицеридемии.

Показания к исследованию

- Организация мероприятий по первичной и вторичной профилактике ССЗ с учетом индивидуальной категории риска пациента;
- контроль эффективности гиполипидемической терапии;
- выявление наследственной патологии липидного обмена;
- оценка степени нарушений липид-транспортной системы при вторичных гиперлипидемиях.

Особенности взятия и хранения образца

Взятие крови для определения концентрации ТГ (определение эндогенных ТГ) следует проводить строго натощак (через 12-14 часов после последнего приема пищи).

Метод исследования

Для определения ТГ используется ферментативный колориметрический метод.

Референсный интервал

Уровень ТГ $> 1,7$ ммоль/л (>150 мг/дл) – увеличение риска ССЗ.

Повышенные значения

- Наследственные заболевания:
 - семейная гипертриглицеридемия;
 - семейная комбинированная гиперлипидемия;
 - семейная хиломикронемия;
- вторичные гипертриглицеридемии:

- СД;
- хроническая почечная недостаточность;
- наличии дис- или парапротеинемии;
- гликогенозы;
- системная красная волчанка;
- избыточное потребление углеводов;
- злоупотребление алкоголем;
- ожирение;
- беременность;
- побочное действие лекарственных препаратов (тиазидные диуретики, β -блокаторы, эстрогены и оральные контрацептивы, глюкокортикоиды, и др.);

Аполипопротеины

Аполипопротеины (апоЛП, апо) – специфические белки, входящие в состав макромолекулярных комплексов ЛП – являются частью липидтранспортной системы организма. АпоВ и апоА формируют мицеллярную структуру разных по составу и функции классов ЛП, они не присутствуют одновременно в длительно циркулирующих ЛП частицах. ЛП, содержащие апо В, являются участниками транспорта эндогенного ХС в составе ЛП частиц от печени к периферическим тканям, который принято называть прямым или эфферентным, тогда как ЛП, структурным белком которых являются апо А, участвуют в обратном или афферентном транспорте ХС – движении ХС от периферических тканей через компоненты плазмы крови к печени. Генетические нарушения синтеза этих апопротеинов являются причиной нарушения афферентного и эфферентного транспорта липидов. Из всех известных апоЛП в клинической практике в основном определяют концентрацию апо А-I и апо В.

Результаты нескольких проспективных эпидемиологических исследований, однозначно указывают на значимость апо А и апо В как предикторов риска ССЗ и их осложнений. Установлено, что апоВ является лучшим предиктором ССЗ, чем уровень общего ХС или ХС ЛПНП, а отношение апоВ/апоА-I – чем ХС ЛПНП/ХС ЛПВП. Также показано, что апо В и отношение апо В/апоА-I является более чувствительным индексом риска ССЗ и лучшим предиктором осложнений, чем уровень ХС ЛПНП, ХС апо В-ЛП и отношение ХС ЛПВП/ЛПНП.

Показания к исследованию

- Контроль эффективности гиполипидемической терапии;
- выявление редких наследственных заболеваний липидного обмена.

Метод исследования

Для определения концентрации апо А-I и апо В преимущественно используются иммунотурбидиметрия или иммунонефелометрия.

Референсный интервал, г/л

	Апо А-I	Апо В
Мужчины	0,95-1,86	0,49-1,73
Женщины	1,01-2,23	0,53-1,82

Повышенные значения, пониженные значения**Апо В – см. Холестерин.****Апо А-I – см. ХС ЛПВП****Липопротеид (а)**

Липопротеид (а) [ЛП(а), Lp (а)] – в отличие от ЛП других классов, не имеет определенной функции. Физиологическая роль этого ЛП не определена, даже полное отсутствие его в крови человека не сопровождается развитием каких-либо синдромов или заболеваний.

ЛП(а) – сходная с ЛПНП частица, содержит помимо апо В молекулу крупного гликопротеина, названного апо(а). Апо(а) имеет высокую степень гомологии с плазминогеном. Уровень ЛП(а) в крови широко варьирует (от 0 до 2000 мг/л). Установлено, что уровень ЛП(а) обусловлен генетически и мало подвержен влиянию пола, возраста и факторов среды.

Несмотря на интенсивное изучение, биологическое значение и механизм атерогенности ЛП(а) до сих пор не определены. В ряде исследований сообщалось о достоверной взаимосвязи между уровнем ЛП(а) и риском ССЗ, что подтверждено данными мета-анализа. Уровень ЛП(а) является независимым предиктором ССЗ, хотя не все проспективные исследования подтверждают эти данные. Частота проявления лиц с повышенным уровнем ЛП(а) существенно ниже, чем с классическими факторами риска ССЗ.

Показания для исследования

- Наследственная предрасположенность к ССЗ;
- повышенный риск ССЗ.

Метод исследования

Для определения ЛП(а) преимущественно используются иммунотурбидиметрия или иммунонефелометрия.

Референсный интервал

< 300 мг/л.

Мочевина

Мочевина – основной конечный продукт метаболизма белков и аминокислот. Синтезируется в печени, затем попадает в кровь и в итоге выводится с мочой. Сопоставление изменения уровня мочевины в крови и в моче способствует выявлению заболеваний или состояний (в т. ч. физиологических), вызвавших увеличение или уменьшение концентраций данного показателя в пробах биологической жидкости (табл. 23).

Причины изменение уровня мочевины в крови и моче

Изменение уровня мочевины		Причина
Мочевина в крови ↓	Мочевина в моче ↓ или N	Нарушение синтетической функции печени Сниженное потребление белка
Мочевина в крови ↑	Мочевина в моче ↓	Снижение выделительной функции почек
Мочевина в крови ↑	Мочевина в моче N	Нарушение почечной гемодинамики
Мочевина в крови ↑	Мочевина в моче ↑	Повышенное употребление белка Усиление катаболизма эндогенных белков

Мочевина в крови

Содержание мочевины в крови является одним из основных биохимических признаков нормального или нарушенного функционирования почек и печени. При патологии печени вследствие нарушения ее синтетической способности уровень мочевины в крови может снижаться, повышение уровня мочевины в крови является признаком почечной недостаточности.

На уровень мочевины в крови существенное значение оказывает метаболизм эндогенных белков – при заболеваниях или состояниях, сопровождающихся усилением распада белков, он возрастает. Уровень мочевины в крови в значительной мере обусловлен также метаболизмом экзогенного белка: низкобелковая диета его снижает, при употреблении богатой белком пищи уровень мочевины повышается. Концентрация мочевины в крови меняется с возрастом, при беременности, зависит от типа питания. Лихорадка, олигурия, дегидратация приведут к увеличению концентрации мочевины в крови, тогда как полиурия снижает ее уровень.

Показания к исследованию

- Патология почек;
- заболевания печени.

Метод исследования

Для определения концентрации мочевины в крови преимущественно используют ферментативные методы.

Референсный интервал

2,1-7,1 ммоль/л

Повышенные значения

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Снижение выделительной функции почек (острая и хроническая почечная недостаточность); • нарушение почечной гемодинамики (застойная сердечная недостаточность, сосудистая недостаточность); • обезвоживание организма; | <ul style="list-style-type: none"> • усиление катаболизма эндогенных белков (голодание, кахексия, лейкозы, лучевая болезнь, массивные ожоги, ранения, желудочно-кишечные кровотечения, гипертиреоз, лихорадочные состояния); • диета с повышенным содержанием белка. |
|---|--|

Пониженные значения

- Нарушение всасывания белков в тонком кишечнике;
- нарушение синтетической функции печени (цирроз, гепатит);
- беременность;
- диета с низким содержанием белка.

Мочевина в моче

В почках мочевина проходит гломерулярный фильтр и активно реабсорбируется в тубулярной части нефрона. Определение концентрации мочевины в моче при обнаружении повышенного уровня мочевины в крови позволяет оценить состояние выделительной функции почек, и, следовательно, определить (или предположить) причину гиперуремии. Повышение уровня мочевины в крови с одновременным снижением ее экскреции отмечают не только при нарушении выделительной функции почек но и при нарушении почечной гемодинамики, обусловленной гиповолемией или сердечной недостаточностью. Уровень мочевины в моче изменяется под действием физиологических факторов (характер питания, физическая нагрузка), при приеме лекарственных препаратов.

Показания к исследованию

- Патологии почек;
- заболевания печени;
- гиперуремия.

Метод исследования

Для определения концентрации мочевины в моче преимущественно используют ферментативные методы.

Референсный интервал

428-714 ммоль/сут.

Повышенные значения

- Диета с повышенным содержанием белка;
- усиление катаболизма эндогенных белков (голодание, кахексия, лейкозы, лучевая болезнь, массивные ожоги, ранения, желудочно-кишечные кровотечения, гипертиреоз).

Пониженные значения

- Нарушение синтетической функции печени (цирроз, гепатит);
- снижение выделительной функции почек (острая и хроническая почечная недостаточность);
- нарушение всасывания аминокислот в тонком кишечнике;
- беременность;
- диета с низким содержанием белка.

Мочевая кислота

Мочевая кислота (МК) – конечный продукт метаболизма пуриновых ос-

нований, входящих в состав нуклеотидов (РНК и ДНК) и нуклеопротеидов, синтезируется преимущественно в печени. Большая часть МК, поступившая из тканей в кровь, выделяется с мочой. Поскольку МК обладает низкой растворимостью в водных растворах, повышенное содержание МК в крови приводит к отложению солей МК (уратов) в органах и тканях (суставы, почки, подкожная клетчатка). Кристаллы уратов являются нормальным компонентом синовиальной жидкости, однако с их накоплением связывают развитие воспалительного процесса в суставах и клинического синдрома, именуемого подагрой. Болезнь квалифицируют как первичную подагру, если ее основной причиной являются врожденные нарушения метаболизма МК. Гиперпродукция МК, обусловленная наследственным увеличением синтеза пуринов, имеет место у 25% пациентов с гиперурикемией. Вторичное заболевание возникает, если гиперурикемия является следствием другого патологического процесса, например, усиленного распада клеток (лейкемия и лимфома), при применении цитостатиков. Подагра может быть следствием недостаточности естественных механизмов выделения МК почками: снижение гломерулярной фильтрации и уменьшение числа функционирующих нефронов при хроническом заболевании почек может провоцировать гиперурикемию. Продукты, богатые нуклеиновыми кислотами, такие как красное мясо, печень, почки, мозги, язык, бобовые, содержат большие количества пуринов.

Мочевая кислота в крови

Клинические проявления подагры значительно чаще отмечают у пациентов с наиболее высокой концентрацией МК в крови. У здоровых людей уровень МК несколько повышается при высоком содержании пуринов в пище и снижается при низкопуриновой диете. На концентрацию МК в крови влияет возраст человека и пол: уровень МК в крови у детей значительно ниже, чем у взрослых, у женщин концентрация ниже, чем у мужчин.

Показания к исследованию

- Подагра;
- заболевания почек;
- лимфопролиферативные заболевания;
- мочекаменная болезнь;
- эндокринные заболевания.

Метод исследования

Для определения концентрации МК в настоящее время преимущественно используют ферментативный колориметрический метод.

Референсный интервал, мкмоль/л, *ферментативный колориметрический метод*

Мужчины – 262-452

Женщины – 137-393

Повышенные значения

- Подагра;
- заболевания, сопровождающиеся усиленным распадом клеток и образованием нуклеопротеидов (лейкозы, полицитемия, V_{12} -дефицитные анемии, злокачественные новообразования, массивные ожоги, хроническая экзема, псориаз и др.);
- острые инфекционные заболевания (пневмония, рожистое воспаление, скарлатина, туберкулез);
- нарушение выделения МК почками (почечная недостаточность, свинцовая нефропатия, поликистоз почек, ацидоз, токсикоз беременности);
- заболевания печени и желчных путей;
- острая алкогольная интоксикация;
- синдром Леша-Нихена;
- дефицит глюкозо-6-фосфатазы (гликогеноз I типа);
- пища, богатая пуринами (мясо, печень, почки).

Пониженные значения

- Лимфогранулематоз;
- миеломная болезнь.

Мочевая кислота в моче

С мочой выводится 75% от общего количества мочевой кислоты, поступившей из тканей в кровь. МК проходит через гломерулярный фильтр, одновременно реабсорбируясь в канальцах. Эпителий проксимальных канальцев способен и секретировать МК в мочу, но и в этом случае МК реабсорбируется в их дистальных отделах. Около 10% МК, прошедшей через гломерулярную мембрану или секретированной канальцами, экскретируется с мочой. Повышенная экскреция МК наблюдается при лейкомии, полицитемии, подагре, гепатите, а также при приеме аспирина и кортикостероидов.

Референсный интервал

1,48-4,43 ммоль/сутки.

Повышенные значения

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Подагра; • лейкоз; • истинная полицитемия; • серповидноклеточная анемия; | <ul style="list-style-type: none"> • вирусный гепатит; • синдром Леша-Нихена; • цистиноз; • пища, богатая пуринами. |
|---|---|

Пониженные значения

- Нарушение выделения МК почками (почечная недостаточность, свинцовая нефропатия, поликистоз почек, ацидоз, токсикоз беременности);
- дефицит фолиевой кислоты;
- ксантинурия.

Исследования системы гемостаза

Система гемостаза представляет собой совокупность механизмов, обеспечивающих поддержание жидкого состояния крови, но в рамках сосудистого русла. В функционировании системы гемостаза принимают участие 5 основных компонентов:

- факторы свертывающей системы и тромбоциты, отвечающие за остановку кровотечений,
- сосудистая стенка, участвующая и в обеспечении текучести крови, и тромбообразовании,
- антикоагулянтная (противосвертывающая) система, предохраняющая сосудистое русло от избыточного тромбообразования,
- фибринолитическая система, устраняющая тромбы, выполнившие свои функции.

Все компоненты системы гемостаза тесно взаимодействуют посредством множества положительных и отрицательных обратных связей для достижения баланса системы на определенном уровне, зависящем от клинической ситуации. Изменение функционального состояния одного из звеньев сопровождается компенсаторными сдвигами в деятельности других, и нарушение этих функциональных взаимосвязей может привести к тяжелым патологическим последствиям, заключающихся или в повышенной кровоточивости (гипокоагуляция), или в тромбообразовании (гиперкоагуляция).

«Клеточно-ассоциированная» модель свертывания крови

Ранее для описания механизмов гемостаза использовали «каскадную» модель процесса свертывания крови. Она была предложена в 1964 г. двумя независимыми группами ученых (Davie E.W., Ratnoff O.D., Macfarlane R.G.), где процесс свертывания крови подразделяется на первичный, или сосудисто-тромбоцитарный, гемостаз и вторичный, или коагуляционный, гемостаз, с выделением в последнем «внешнего», «внутреннего» путей активации тромбина и «общего пути». Последним этапом свертывания крови являлся процесс лизиса кровяного сгустка – фибринолиз. В настоящее время эта модель сохраняет свое значение только как отражение процессов свертывания крови *in vitro*.

Согласно современной – клеточной (cell-base) – модели, предложенной Н. Hoffman в 2001 году и признанной описать и объяснить процесс гемокоагуляции не только *in vitro*, но и *in vivo*, процесс свертывания крови является единым и связан с гемостатическими реакциями тромбоцитов. Тромбоциты не только участвуют в активации коагуляционных факторов, но и выполняют функцию регуляции всего процесса свертывания крови. Клеточная модель свертывания не отрицает реакции взаимодействия и свойства факторов свертывающей, противосвертывающей и фибрино-

литической систем, представленных в «каскадной» модели свертывания. Она признает наличие «внешнего» и «внутреннего» пути свертывания, но существенно их модифицирует.

Коагуляционный процесс в физиологических условиях локализован зоной дефекта сосуда. Его нераспространению способствуют антикоагулянтная система и нормально функционирующие эндотелиоциты. Избыток тромбина в организме человека инактивируется антитромбином III, который также активен в отношении факторов XIIa, XIa, IXa, Xa. Интактный эндотелий обладает антитромботическими свойствами, так как выделяет такие вещества, как оксид азота (NO), простациклин, тканевой активатор плазминогена (t-PA), ингибитор тканевого фактора (TFPI). Основная структура, ответственная за тромборезистентность эндотелия – гликокаликс, который покрывает всю поверхность эндотелия.

Остановка кровотечения при повреждении стенки сосуда начинается с сосудисто-тромбоцитарных реакций. При возникновении дефекта эндотелия или изменении напряжения сдвига происходит высвобождение тромбогенных соединений, что запускает процессы гемостаза, включающие три перекрывающих друг друга фазы: *инициации, усиления и распространения.*

Фаза 1 – *инициация (initiation)* процесса свертывания крови – развивается на поверхности субэндотелия сосудистой стенки при ее повреждении и контакте с кровью субэндотелиальных клеток, имеющих в своем составе специфический белок – тканевой фактор (ТФ, TF). В физиологических условиях ТФ содержат фибробласты, гладкомышечные клетки сосудов; при воспалении ТФ-несущими становятся эндотелиальные клетки, моноциты; при ряде патологических состояний – нейтрофилы.

При повреждении сосудистой стенки клетки, несущие ТФ, начинают контактировать с плазмой, и одновременно обнажаются субэндотелиальные структуры – коллаген, что приводит к скоплению в этой области тромбоцитов (адгезия). ТФ связывается с фактором VII с образованием комплекса TF-VIIa. Этот комплекс локально на поверхности ТФ-несущих клеток активирует фактор X и фактор IX. Фактор IXa мигрирует и связывается с поверхностью тромбоцитов, в то время как фактор Xa остается на поверхности клеток, несущих тканевый фактор (ТФ), его переносу на поверхность тромбоцитов препятствуют плазменные ингибиторы (ИПТФ) и антитромбин III, которые мгновенно инактивируют фактор Xa. Согласно клеточной модели, фактор IXa не играет существенной роли в первую фазу коагуляции. Фактор Xa активирует фактор V. Активированный Xa фактор в комплексе с Va (Xa-Va) стимулирует переход протромбина (фактор II) в тромбин (фактор IIa), что приводит к образованию стартового количества тромбина, недостаточного для эффективного воздействия на фибриноген, но достаточного для активации тромбоцитов, которая подробнее будет рассмотрена ниже.

Фаза 2 – *усиление (amplification)* процесса свертывания крови – гене-

рация огромного количества тромбина, происходящая на поверхности тромбоцитов. Небольшое количество тромбина, образовавшегося в фазу инициации, активирует тромбоциты, факторы V, VIII и XI. Тромбин способствует высвобождению фактора VIII из комплекса с фактором Виллебранда, в результате образуется фактор VIIIa. Активированный фактор XI (XIa) приобретает способность связываться с поверхностью тромбоцитов. Активированные факторы в фазу распространения обеспечивают формирование на тромбоцитах огромного количества тромбина, которое способно перевести фибриноген в фибрин. Таким образом, вышедший из фазы инициации тромбин выступает в качестве мощного усилителя коагуляции за счет многократного повышения эффективности комплекса Ха-Va на поверхности «возбужденных» тромбоцитов.

Во время Фазы 3 – *распространения (prolongation)* – на поверхности активированных тромбоцитов формируются теназный (VIIIa+IXa+Ca²⁺) и протромбиназный (Va+Ха+Ca²⁺) комплексы. Фактор VIII активируется в фазу усиления и фиксируется на тромбоцитах. Фактор IXa переносится на поверхность тромбоцитов с места активации (поверхность ТФ-несущих клеток) еще в фазу инициации; дополнительное его количество образуется на тромбоцитах под действием образованного в фазу усиления фактора XIa. Теназный комплекс на поверхности тромбоцитов активирует фактор X, связанный со своим кофактором Va (пришедшим из фазы усиления). Образовавшийся протромбиназный комплекс обеспечивает *лавинообразное* нарастание уровня тромбина.

Тромбин переводит фибриноген (фактор I) в фибрин (фактор Ia), а также активирует фактор XIII, обеспечивающий стабилизацию фибриновых нитей и образование множества ковалентных перекрестных связей между ними, что приводит к образованию нерастворимого фибрина, необходимого для создания гемостатически активного сгустка. Важным обстоятельством является то, что помимо основной, рассмотренной выше прокоагулянтной функции, тромбин участвует и в активации антикоагулянтных механизмов, проявляет антифибринолитические свойства, что играет значительную роль в регуляции системы гемостаза.

Таким образом, по современным представлениям *in vivo* процесс свертывания крови является единым и связан с гемостатическими реакциями тромбоцитов. Благодаря их сложному рецепторному аппарату они не только участвуют в активации коагуляционных факторов, но и выполняют функцию регуляции всего процесса свертывания крови. Взаимосвязь тромбоцитов, факторов свертывания крови и сосудистой стенки постоянно уточняется. Рассмотрим более подробно процесс активации тромбоцитов, который важен для понимания принципов лабораторной оценки их функции.

Тромбоцит – маленькая, 2-4 мкм диаметром, безъядерная клетка, циркулирующая в кровотоке и отвечающая за ключевые этапы гемостаза. Функционально тромбоцит связан с сосудистой стенкой, прежде всего с эндо-

телием. Количество тромбоцитов у здоровых лиц составляет $150-400 \times 10^9$ /л, эритроциты на порядок превосходят тромбоциты и по концентрации, и по массе. Благодаря этому в сосуде происходит перераспределение клеток во время их движения: легкие и относительно малочисленные тромбоциты оказываются постоянно «вытеснены» на периферию сосуда так, что «локальная» концентрация тромбоцитов у стенки сосуда (там, где возможно возникновение повреждения) оказывается на порядок выше, чем «в среднем» в крови. Именно поэтому выраженная анемия создает эффект «внутренней дилуции» тромбоцитов, опасный в первую очередь тем, что его невозможно выявить большинством тестов контроля тромбоцитарного гемостаза. Из этого вытекает важность комплексного подхода к оценке состояния системы гемостаза.

Плазматическая мембрана тромбоцитов имеет двухслойную структуру, ее продолжением служит канальцевая система, связанная с поверхностью клетки. Цитоплазма клетки содержит многочисленные гранулы, главными из которых являются плотные гранулы, содержащие преимущественно низкомолекулярные вещества, такие как ионы кальция, серотонин и аденозиндифосфат (АДФ), и альфа-гранулы, содержащие белки – фибриноген, тромбоспондин, Р-селектин, фактор свертывания V, фактор фон Виллебранда и многие другие. Сеть мембранных каналов служит дополнительным источником мембранной поверхности при активации и способствует секреции гранул тромбоцитов.

Одно из главных качеств тромбоцита – способность к быстрой и в большинстве случаев необратимой активации. В исходном, неактивированном состоянии тромбоциты имеют дисковидную форму, циркулируют в крови, не прикрепляясь к эндотелию, свободно проходят через капилляры, так что форма их сохраняется постоянной. Меняется она только при активации, клетка при этом становится чаще всего амебовидной. Основными активаторами тромбоцитов являются коллаген, тромбин, АДФ, тромбоксан А₂. Действие каждого активатора опосредуется через специализированные рецепторы в мембране тромбоцита.

Первичное закрепление тромбоцита в месте повреждения сосуда происходит путем взаимодействия главного адгезионного рецептора тромбоцитов GP Ib-V-IX с молекулой-посредником фактором фон Виллебранда (vWf), закрепленным на обнажившемся при травме сосуда коллагене. Затем сигнальный рецептор тромбоцита GP VI связывается с коллагеном, что ведет к активации тромбоцитов. Активация агрегационных рецепторов интегринов $\alpha 2\beta 1$ (в неактивном состоянии не взаимодействующие с коллагеном) способствует закреплению активированного тромбоцита на коллагене и создает основу для дальнейшего роста тромба. Одновременно с адгезией происходит и агрегация тромбоцитов.

Прикрепление следующих слоев тромбоцитов происходит аналогичным образом: сначала клетки прочно садятся на фактор фон Виллебранда.

Происходит активация тромбоцитов, но уже путем контакта с коллагеном, который «закрыт» первым слоем клеток, а растворимыми активаторами, секретруемыми самими тромбоцитами (АДФ, тромбоксан А₂) или образующимися в ходе работы плазменной системы свертывания (тромбин).

В усилении агрегации тромбоцитов участвуют пуриновые Р₂У-рецепторы АДФ и активируемые протеазами рецепторы к тромбину (PAR). В организме человека обнаружено несколько типов АДФ-специфических рецепторов, экспрессируемых тромбоцитами. Активация Р₂У₁₂-рецепторов снижает активность аденилатциклазы (АЦ), в результате снижается количество цАМФ, происходит дегрануляция и активация тромбоцитов и в конечном счете формирование тромба.

В активированных тромбоцитах увеличивается активность фосфолипазы А₂ (ФЛ А₂), ключевого фермента метаболизма арахидоновой кислоты. Циклооксигеназа 1-го типа (ЦОГ-1) тромбоцитов катализирует превращение арахидоновой кислоты в простагландины, которые затем трансформируются в ТхА₂. Тромбоциты экспрессируют специфические рецепторы к тромбоксану (ТРА), стимуляция которых приводит к усилению первичной активации клеток, вызванной тромбином или коллагеном.

Тромбин взаимодействует с тромбоцитами посредством двух рецепторов, активируемых протеазами: PAR-1 и PAR-4. Стимуляция этих рецепторов через различные сигнальные молекулы приводит к активации фосфолипазы β и ингибированию АЦ.

Завершающий этап образования тромба опосредуется гликопротеиновыми рецепторами GP IIb/IIIa, которые относятся к классу интегринов (αIIbβ₃) и являются наиболее многочисленными мембранными рецепторами тромбоцитов. Взаимодействие активированных интегринов αIIbβ₃ с фибриногеном с формированием «фибриногеновых мостиков» и фактором фон Виллебранда обеспечивает необратимое надежное связывание тромбоцитов с чужеродными поверхностями и между собой, к стабилизации адгезии, агрегации и ретракции тромба.

Сохранение крови в жидком состоянии в условиях ее циркуляции обеспечивается функционированием противосвертывающей системы, включающей в себя эндогенные антикоагулянты и фибринолиз.

Система фибринолиза

Фибринолитическая или плазминовая система – ферментная система, вызывающая асимметричное расщепление фибрина/фибриногена на более мелкие фрагменты. В норме в крови обнаруживается спонтанная фибринолитическая активность. Она значительно колеблется даже у одного и того же индивидуума, в зависимости от его психического состояния, питания, времени суток.

Активация плазминогена заключается в ограниченном протеолизе одной

Арг-Вал-связи. Образовавшийся плазмин способен воздействовать на молекулу плазминогена и отщеплять от N-концевой области полипептид. Существуют два пути превращения неактивного плазминогена в активный плазмин – внешний (вне сосудистого русла) и внутренний (в сосудистом русле).

Внешняя активация фибринолиза осуществляется в основном синтезируемыми в сосудистом эндотелии белковыми активаторами тканевого типа. Идентичные или очень близкие к ним активаторы содержатся во многих тканях и жидкостях организма, но из эндотелия они легче всего поступают в кровь. Их интенсивный выброс происходит при всех видах закупорки сосудов, в том числе и при сжатии сосудов манжеткой тонометра, при физических нагрузках, под влиянием вазоактивных веществ и лекарственных препаратов. Мощные активаторы плазминогена содержатся также в клетках крови – эритроцитах, тромбоцитах, лейкоцитах. Кроме того, гранулоциты и макрофаги могут секретировать внутриклеточные киназы, которые сами по себе (без участия плазмина) расщепляют фибрин.

Внутренняя активация сложнее внешней. Плазминопластин переводит плазминоген в плазмин; однако в крови этот активатор встречается только в виде предшественника проплазминопластина. Превращение проактиватора происходит под действием лизокиназы, которая синтезируется эндотелиоцитами.

Активный плазмин вызывает последовательное асимметричное расщепление фибриногена/фибрина. Вначале от их α - и β -цепей отщепляются низкомолекулярные фрагменты, а в плазме остается крупномолекулярный фрагмент X, который еще сохраняет способность свертываться под воздействием тромбина. Затем плазмин расщепляет фрагмент X на фрагменты Y и D, а фрагмент Y – на D и E. Фрагменты X и Y представляют собой «ранние» или растворимые фибрин-мономерные комплексы, а фрагменты D и E – «поздние» и выявляются в виде D-димеров или D-тримеров.

Наиболее важным ингибитором фибринолиза является α_2 -антиплазмин. Он быстро инактивирует свободный плазмин. Ингибитор активатора плазминогена 1 типа (Plasminogen Activator Inhibitor type 1 – PAI-1) образует комплекс с тканевым активатором плазминогена и тем самым тормозит процесс фибринолиза. Тромбомодулин, находящийся на поверхности эндотелия, в комплексе с тромбином активирует прокарбокисипептидазу Y до активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (Thrombin Activated Fibrinolysis Inhibitor – TAFI), который тормозит фибринолитическую активность.

Система естественных антикоагулянтов

Ступенчатый механизм активации факторов свертывания крови, многократно усиливающийся на каждой стадии, ведет к образованию ключевого фермента коагуляции – тромбина, который трансформирует фибри-

ноген в фибрин. Ограничителями чрезмерного образования тромбина и, следовательно, фибрина, являются естественные антикоагулянты: анти-тромбин III, протеины С, S и Z, гепарин, α_2 -макроглобулин, α_1 -антитрипсин, антитромбопластины и другие.

Антитромбин III инактивирует сериновые протеазы – тромбин и все предшествующие его образованию активные факторы (за исключением факторов VIIa и Va) путем образования с ними неактивных комплексов.

Инактивация факторов VIIa и Va осуществляется другими белками – протеинами С и S, которые активируются комплексом «тромбин-тромбомодулин». Активированный этим комплексом протеин С в присутствии кофактора – протеина S – протеолитически расщепляет факторы VIIa и Va, и таким образом прерывается реакция образования активного фактора X и тромбина.

Гепарин, синтезируемый тучными клетками, вместе с фибриногеном, плазмином и адреналином образует комплексы, обладающие противосвертывающим и фибринолитическим действием. В малых концентрациях гепарин ингибирует реакции между факторами IXa, VIII и III, аутокаталитическую активацию тромбина и действие фактора Xa. В высоких концентрациях он ингибирует коагуляцию во всех фазах. Гепарин также тормозит некоторые функции тромбоцитов, в частности, высвобождение серотонина, ускоряет агрегацию кровяных пластинок, особенно в артериальном русле.

Лабораторная оценка состояния системы гемостаза

С клинических позиций все лабораторные тесты, оценивающие состояние системы гемостаза, целесообразно разделить на так называемые «локальные», выявляющие дефект какого-то одного звена системы, и «глобальные», оценивающие баланс компонентов системы гемостаза. К интегральным методам относятся такие исследования, как тест генерации тромбина (исследование кинетики образования тромбина), тест тромбодинамики (оценка динамики объемного роста сгустка), исследование вязко-эластических свойств тромба (классическая тромбоэластография (собственно ТЭГ) или тромбоэластометрия (РОТЕМ)).

По целям все исследования системы гемостаза можно условно разделить на скрининговые, диагностические, выполняемые для контроля за назначенной терапией, в том числе антикоагулянтной, гемостатической или, возможно, дезагрегантной.

В большинстве случаев диагностика нарушений системы гемостаза включает в себя только скрининговые исследования: определение протромбинового времени (ПТВ), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), концентрации фибриногена и количества тромбоцитов. Эти тесты позволяют выявить наличие большинства проблем в системе гемокоагуляции и тромбоцитопению, но они не дают

информации о сосудистой или тромбоцитарной функции, а также не отражают состояние системы фибринолиза.

Выполнение исследований, позволяющих обнаруживать дефекты в том или ином звене системы гемостаза, особенно актуально для пациентов, которым предстоит хирургическое лечение, когда исходная патология свертывающей системы крови в сочетании с ее нарушениями, возникающими во время операции, может обернуться катастрофой. Это может быть предотвращено путем правильного дооперационного лабораторного обследования больного.

Расширение спектра коагулологического обследования показано также пациентам, в анамнезе которых присутствуют данные о кровотечении не-травматической этиологии, массивной геморрагии после незначительной травмы или хирургического вмешательства.

Многообразие и стремительное развитие в последние годы методов исследований системы гемостаза, их различная диагностическая значимость, чувствительность и специфичность заставляют дифференцированно подходить к составлению программ и концепций обследования больных в разных клинических ситуациях.

Особенности взятия и хранения образцов для исследования

При выполнении коагулологических исследований необходимо обращать внимание на особенности получения проб плазмы для анализа, правильную работу с пробами, условия хранения проб и использование адекватных контролей и стандартов.

Наиболее распространенные технические ошибки, возникающие при исследовании системы гемостаза, связаны с:

- неправильным взятием проб крови;
- неправильным соотношением объемов крови и антикоагулянта;
- попаданием в пробу крови посторонних веществ (в первую очередь, гепарина), влияющих на систему свертывания крови;
- неверной температурой термостатирования при проведении тестов (практически исключено при использовании автоматических коагулометров);
- нарушением инструкции пользователя и многократным использованием пластиковой одноразовой посуды (например, кювет).

Взятие крови для коагулологических исследований должно быть организовано так, чтобы свести до минимума время хранения проб. Не следует проводить исследование непосредственно после физической нагрузки. Во время венепункции длительность венозного стаза должна быть не более 1 минуты, а сила сдавливания – ниже диастолического давления крови. При прокалывании иглой сосуда тканевый тромбопластин попадает с током крови в пробирку, поэтому первые 1,5–2,0 мл крови не годятся для проведения коагулологических исследований, в случае необходимости взятия

нескольких проб у одного пациента для этих целей следует использовать вторую пробу. В неотложных ситуациях, когда невозможно взятие крови из периферической вены, можно использовать кровь, полученную из центрального (подключичного) катетера, однако и в этом случае следует удалить первые 10–15 мл крови, а затем только забирать кровь для коагулологических исследований.

Материалом для коагулологических исследований является плазма, для ее получения в качестве антикоагулянта используют раствор цитрата натрия. Обязательным является соблюдение соотношения плазмы и антикоагулянта, которое зависит от величины гематокрита пациента.

Для исследования гемостаза используют плазму, бедную тромбоцитами, и плазму, богатую тромбоцитами. Плазму, богатую тромбоцитами, получают центрифугированием цитратной крови в течение 5-10 мин при ускорении 450-500 g. Плазму, бедную тромбоцитами, получают центрифугированием в течение 10-15 мин при ускорении 1200-2000 g. Важным моментом является проведение всех анализов не позднее, чем в течение 2 ч после взятия крови. Допускается для некоторых исследований однократное замораживание проб бедной тромбоцитами плазмы при температуре –20-40 °С до нескольких недель без значительной потери активности факторов свертывания крови, о чем всегда есть указания в инструкциях пользователя.

Методы исследования

Исследования показателей системы гемостаза возможно выполнять при применении полностью или частично автоматизированных коагулометров. Коагулометры по принципу своего действия делятся на 3 типа:

- механические,
- оптико-механические,
- оптические.

По степени автоматизации коагулометры делят на полностью автоматизированные и полуавтоматы.

Скрининговые методы оценки системы гемостаза

Диагностика патологии свертывания крови при обследовании больного начинается с выполнения скрининговых исследований с использованием «базовых» тестов (ПТВ, АЧТВ, концентрация фибриногена). В случае обнаружения патологических изменений показано проведение уточняющих тестов, позволяющих провести дифференциальную диагностику причин выявленных нарушений.

Протромбиновое время

ПТВ – время образования в плазме фибринового сгустка при добавлении к ней хлорида кальция и тромбопластина. Результаты теста отража-

ют активность факторов протромбинового комплекса – I, II, V, VII и X. Результат исследования может быть представлен в различных формах, в настоящее время при терапии непрямыми антикоагулянтами рекомендуется представление результата в форме МНО. Значения ПТВ представляют в секундах с указанием контрольных значений, полученных при исследовании контрольной нормальной плазмы.

Показания к исследованию

- патология системы свертывания крови;
- скрининговое исследование свертывающей системы крови;
- контроль свертываемости крови при лечении непрямыми антикоагулянтами (мониторинг обязателен, так как имеются рекомендации и методы подбора эффективной и безопасной дозы препарата, коррекции дозы в зависимости от результатов МНО);
- исследование функции печени;
- состояния, сопровождающиеся дефицитом витамина К.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма.

Методы исследования

Наиболее распространенный метод – определение ПТВ с автоматизированной регистрацией результатов. *In vivo* внешний путь свертывания запускается тканевым фактором, который попадает в кровь при повреждении сосудов (контактная активация). *In vitro* добавление тканевого тромбопластина и ионов кальция напрямую активирует внешний путь свертывания.

Референсный интервал

Ориентировочно 11-14 с (зависит от выбранного набора реагентов). Учет результата только в виде ПТВ (секунды) является нестандартизованным, маскирует активность используемого тромбопластина и не рекомендуется для оценки состояния системы гемостаза.

Протромбиновый индекс (ПИ)

$$\text{ПИ} = \frac{\text{ПТВ контрольной нормальной плазмы, сек}}{\text{ПТВ пациента, сек}} \times 100\%$$

Референсный интервал

90–105%.

Такая методика учета результатов маскирует активность используемого тромбопластина, поэтому в настоящее время представление результата только в виде ПИ не рекомендуется.

Протромбиновое отношение (ПО)

$$\text{ПО} = \frac{\text{ПТВ больного, сек}}{\text{ПТВ контрольной нормальной плазмы, сек}}$$

Референсный интервал

0,7-1,1.

Учет результатов определения ПТВ в виде ПО также маскирует активность используемого тромбопластина. В настоящее время представление результата только в виде ПО не рекомендуется.

Протромбин по Квику

Расчет активности факторов протромбинового комплекса с использованием калибровочной кривой, построенной по результатам измерения ПТВ в разведениях контрольной нормальной плазмы.

Референсный интервал

70-140%

Процент активности по Квику допустимо использовать для оценки состояния внешнего пути свертывания и для пациентов с заболеваниями печени. Однако отсутствие четких международных указаний по использованию теста, отсутствие стандартного калибратора, нелинейная зависимость времени образования сгустка от процента активности факторов и низкая точность для патологических образцов являются существенными ограничениями использования в клинической практике данной интерпретации результата ПТВ.

Международное нормализованное отношение (МНО или INR):

$$\text{МНО} = \text{ПО}^{\text{МИЧ}}$$

МИЧ – международный индекс чувствительности тромбопластина (значение указывается компанией производителем в паспорте к каждой серии реактива).

Референсный интервал

0,81-1,25.

Повышенные значения МНО (снижение активности протромбина)

- дефицит одного или нескольких факторов протромбинового комплекса (X, V);
- острый ДВС-синдром;
- наследственные коагулопатии: гипопроконвертинемия (дефицит фактора VII) и гипопротромбинемия (дефицит фактора II);
- афибриногенемия, гипофибриногенемия;
- избыточное содержание в крови гепарина;
- повышение уровня антитромбина (АТIII) или антитромбопластина;
- заболевания печени;
- дефицит витамина К;
- энтеропатия и кишечные дисбактериозы;
- лечение антикоагулянтами непрямого действия;
- амилоидоз (связанно с дефицитом фактора X);
- нефротический синдром;

- хронический панкреатит, рак поджелудочной железы и желчного пузыря;
- острые и хронические лейкозы;
- ятрогенное влияние: кумарины, ацетогексамид, анаболические стероиды, антибиотики, ацетилсалициловая кислота (в больших дозах), слабительные средства, метотрексат, никотиновая кислота, хинидин, хинин, тиазидные диуретики, толбутамид.

Пониженные значения МНО (увеличение активности протромбина)

- Последние месяцы беременности (физиологическое повышение);
- тромбоэмболические состояния (начальные стадии тромбоза);
- полицитемия;
- злокачественные опухоли.

Тромбиновое время

ТВ характеризует конечный этап процесса свертывания – превращения фибриногена в фибрин под действием тромбина. Его величина зависит только от концентрации фибриногена и активности ингибиторов тромбина (антитромбина III, гепарина, парапротеинов). Результат исследования позволяет оценить образование фибрина и состояние естественных и патологических антикоагулянтов. Определение ТВ является одним из наиболее распространенных методов контроля за гепаринотерапией и лечением фибринолитиками, также применяется для диагностики гиперфибринолитических состояний, афибриногенемии и дисфибриногенемии. Полная несвертываемость наблюдается сразу же после внутривенного введения большой дозы гепарина и в терминальной фазе острого ДВС-синдрома.

Показания к исследованию

- определение дефицита или дефектности фибриногена;
- оценка состояния при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови;
- патология печени;
- мониторинг терапии гепарином, фибринолитическими или тромболитическими препаратами;
- выявление присутствия в крови продуктов деградации фибрина/фибриногена;
- выявление врожденных или приобретенных форм дефицита фибриногена и дисфибриногенемий.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма.

Метод исследования

Регистрация времени образования сгустка в цитратной плазме пациента при добавлении тромбина известной активности.

Референсный интервал

12–18 с (зависит от набора реагентов).

Повышенные значения

- присутствие в крови быстродействующих антикоагулянтов (гепарин или прямые ингибиторы тромбина), но не антагонистов витамина К;
- гипофибриногенемия или дисфибриногенемия;
- образование и накопление продуктов деградации фибрина/фибриногена;
- амилоидоз;
- парапротеинемия.

Пониженные значения

- Гиперфибриногенемия.

Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время

АЧТВ/АПТВ представляет собой время, которое необходимо для образования сгустка фибрина в плазме после добавления к ней специального активатора (например, каолин-кефалинового реактива или эллаговой кислоты) и раствора кальция хлорида. Этот тест отражает дефицит или функциональную неполноценность одного или нескольких факторов свертывания – II, V, VIII, IX, X, XI, XII (исключая факторы VII и XIII) и воздействие на систему свертывания ингибиторов свертывания, особенно гепарина. АЧТВ является чувствительным тестом обнаружения в крови прямых антикоагулянтов, его широко используют для контроля эффективности и безопасности гепаринотерапии (в зависимости от времени выполнения исследования).

Показания к исследованию

- Скрининговое исследование состояния свертывающей системы крови;
- патология свертывания крови;
- контроль гепаринотерапии.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма.

Метод определения

Регистрация времени свертывания плазмы пациента при добавлении АЧТВ-реактива и раствора кальция хлорида. *In vivo* взаимодействие отрицательно заряженных поверхностей клеток с факторами контактной активации запускает внутренний путь плазменного гемостаза. *In vitro* добавление АЧТВ-реактива напрямую активирует внутренний путь свертывания, после преинкубации в реакционную смесь добавляется CaCl_2 , который запускает реакцию коагуляции. Фиксируется время, необходимое для образования сгустка.

Референсный интервал

Ориентировочно 27-39 сек (зависит от выбранного набора реагентов). Для более корректного учета результатов результат АЧТВ рекомендуется выдавать в виде Отношения АЧТВ (R). $R = \text{АЧТВ пациента} / \text{АЧТВ нормальной плазмы}$. При терапевтических дозах гепарина отношение АЧТВ должно находиться в пределах 1,5-2,5 R.

Повышенные значения

- Врожденный или приобретенный дефицит факторов XII, XI, X, IX, VIII, V, II или наличие в крови их ингибиторов;
- дефицит прекалликреина и/или высокомолекулярного кининогена;
- наличие патологических ингибиторов полимеризации фибрина;
- тяжелая дисфибриногенемия или афибриногенемия;
- присутствие в крови продуктов деградации фибрина;
- дефицит фактора Виллебранда;
- II и III фаза ДВС-синдрома;
- наличие волчаночного антикоагулянта (некоторые АЧТВ-реагенты могут быть чувствительны к присутствию ВА);
- терапия гепарином, гирудином или апротинином;
- нарушения функции печени.

Пониженные значения

- I фаза ДВС-синдрома;
- резистентность фактора V к активному протеину C;
- повышение уровня фактора VIII;
- повышение уровня активированных факторов свертывания;
- загрязнение пробы тканевым тромбопластином в результате травмы при венепункции (дефект забора крови).

Концентрация фибриногена

Фибриноген (фактор I) – белок, синтезирующийся в основном в печени. В крови фибриноген находится в растворенном состоянии, но в результате ферментативного процесса, под воздействием тромбина и фактора XIIIa, превращается в нерастворимый фибрин. Определение содержания фибриногена в плазме крови используется не только в диагностике нарушений системы гемостаза, но и в оценке тяжести воспалительных, иммунных, деструктивных и неопластических процессов. Фибриноген – положительный **белок острой фазы**, чувствительный маркер воспаления и некроза тканей, является основным белком плазмы крови, влияющим на величину СОЭ. Высокий уровень фибриногена считают предиктором развития сердечно-сосудистых осложнений, повышение концентрации фибриногена в плазме крови коррелирует с увеличением риска осложнений сердечно-сосудистых заболеваний.

Показания к исследованию

- Нарушение свертываемости крови;
- обследование перед оперативным вмешательством и в послеоперационный период;
- обследование беременных;
- сердечно-сосудистые заболевания;
- хронические заболевания печени;
- обширные ожоги и травмы

Наиболее распространенный метод определения фибриногена – метод определения по Клауссу, основанный на измерении времени, необходимого для образования нерастворимого фибрин-полимера в разведенной плазме крови после добавлении большого количества тромбина.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма.

Референсный интервал

2-4 г/л.

Повышенные значения

- Гиперкоагуляция (при различных стадиях тромбоза, инфаркте миокарда, в последние месяцы беременности, после родов, после хирургических операций, при инсульте в первые сутки);
- острое воспаление и инфекции;
- злокачественные новообразования;
- хроническая форма ДВС-синдрома и I стадия острого ДВС-синдрома;
- гипотиреоз;
- прием эстрогенов и оральных контрацептивов.

Пониженные значения

- Заболевания печени (гепатит, цирроз);
- наследственные афибриногемии и гипофибриногемии;
- первичный фибринолиз;
- II и III стадии ДВС-синдрома;
- лечение фибринолитиками.

Исследование тромбоцитарного гемостаза

Количество тромбоцитов (См. главу «Гематологические исследования»)

Исследование агрегационной способности тромбоцитов

В настоящее время определение функционального состояния тромбоцитов в большинстве случаев производится с помощью исследования агрегации. В мировой практике широко используются несколько методов агрегометрии, из которых в Российской Федерации доступны световая трансмиссионная агрегометрия, импедансная агрегометрия и метод, основанный на оптической детекции агглютинации тромбоцитов. С целью оценки эффективности и безопасности проводимой антиагрегантной терапии возможно также и определение стабильного метаболита ТХА₂-11-дегидротромбоксана В₂ в моче.

Согласно современным клиническим рекомендациям и консенсусам специалистов, тестирование агрегационной способности тромбоцитов (ФАТ) может быть рекомендовано пациентам, получающим двойную антиагрегантную терапию в ряде клинических ситуаций. Однако вопрос о возможности, необходимости и эффективности контроля ФАТ у всех без

исключения лиц, получающих антиагрегантную терапию, остается предметом изучения. Тем не менее данные исследования могут быть полезны для оценки функции тромбоцитов и в других клинических ситуациях.

Наиболее часто используются турбидиметрический метод Борна, основанный на регистрации изменений светопропускания богатой тромбоцитами плазмы (PRP). Оптическая агрегометрия – по-прежнему «золотой стандарт» оценки ФАТ, несмотря на трудоемкость, затратность и, увы, высокую вероятность получения несопоставимых результатов при использовании реагентов разных производителей или полученных разными операторами. Данный метод используется для оценки эффекта АСК, блокаторов P2Y₁₂ рецепторов и ингибиторов GP IIb/IIIa рецепторов. После добавления к ней того или иного активатора тромбоциты активируются, взаимодействуют друг с другом, происходит формирование агрегатов, которое можно зафиксировать по уменьшению мутности суспензии, вызванному уменьшением количества рассеивающих свет частиц. Исследование спонтанной агрегации возможно без добавления индуктора агрегации.

Материал для исследования

Цитратная богатая тромбоцитами плазма.

Метод исследования определяется порядком работы на том или ином типе агрегометра. В качестве индукторов наиболее часто используют растворы АДФ, ристоцетина, коллагена, адреналина, арахидоновой кислоты. Также могут использоваться растворы тромбина, серотонина и др.

Агрегация тромбоцитов с АДФ

Воздействие малых доз АДФ (обычно 1×10^{-7} моль) приводит к формированию двойной волны агрегации. Первая фаза (первичная волна) зависит от добавленного экзогенного АДФ, а вторая фаза (вторичная волна агрегации) возникает за счет реакции высвобождения собственных агонистов, содержащихся в гранулах тромбоцитов. Большие дозы АДФ (обычно 1×10^{-5} моль) приводят к слиянию первой и второй волн агрегации.

При анализе агрегатограмм обращают внимание на общий характер агрегации (одноволновая, двухволновая; полная, неполная; обратимая, необратимая) и скорость агрегации. Появление двухволновой агрегации при стимуляции АДФ в концентрациях, вызывающих в норме обратимую агрегацию (обычно 1-5 мкмоль), указывает на повышение чувствительности тромбоцитов, а развитие одноволновой неполной (а часто и обратной) агрегации при стимуляции АДФ в концентрациях 10 мкмоль и больше – на нарушение реакции высвобождения тромбоцитов.

Агрегация тромбоцитов с ристоцетином

Определение агрегации тромбоцитов с ристоцетином в плазме применяют для количественной оценки фактора фон Виллебранда. В основе метода лежит способность ристоцетина стимулировать *in vitro* взаимодействие фак-

тора фон Виллебранда с тромбоцитарным гликопротеидом Ib. В большинстве случаев болезни фон Виллебранда отмечается нарушение ристоцетин-агрегации при нормальном ответе на воздействие АДФ, коллагена и адреналина. Нарушение ристоцетин-агрегации выявляют и при болезни Бернара-Сулье. Для дифференциации применяют тест с добавлением нормальной плазмы: при болезни фон Виллебранда после добавления нормальной плазмы ристоцетин-агрегация нормализуется, в то время как при синдроме Бернара-Сулье этого не происходит. Индуцированная ристоцетином агглютинация тромбоцитов снижена при большинстве случаев болезни фон Виллебранда, кроме типа ПВ.

Агрегация тромбоцитов с коллагеном

Агрегация тромбоцитов с коллагеном имеет достаточно выраженную латентную фазу, во время которой происходит активация фосфолипазы С. В зависимости от концентрации используемого реагента продолжительность этой фазы может составлять 5-7 минут. После завершения этого периода в тромбоцитах происходят процессы, приводящие к образованию вторичных посредников, вследствие чего развивается секреция тромбоцитарных гранул и синтез тромбоксана A_2 , что сопровождается резким усилением межтромбоцитарного взаимодействия.

В клинко-лабораторной практике коллаген чаще всего используют в конечной концентрации 50 мкг/мл, однако коллагены разных фирм могут обладать различной активностью, что необходимо учитывать при их применении.

Агрегация тромбоцитов с адреналином

Адреналин при контакте с тромбоцитами взаимодействует с α_2 -адренорецепторами, что вызывает ингибирование аденилатциклазы. Не исключено, что механизм, лежащий в основе реализации эффекта адреналина и развития первой волны агрегации, не зависит от образования тромбоксана A_2 , реакции высвобождения или синтеза фактора агрегации тромбоцитов, а связан со способностью адреналина прямо изменять проницаемость клеточной мембраны для ионов кальция. Вторая волна агрегации возникает как результат реакции высвобождения и продукции тромбоксана A_2 .

Агрегация тромбоцитов с арахидоновой кислотой

Арахидоновая кислота – природный агонист агрегации, причем ее действие опосредовано эффектами простагландинов G_2 и H_2 , тромбоксана A_2 и включает активацию как фосфолипазы С с последующим образованием вторичных посредников, мобилизацией внутриклеточного кальция и расширением процесса активации клеток, так и фосфолипазы A_2 , что непосредственно приводит к освобождению эндогенной арахидоновой кислоты. Агрегация тромбоцитов с арахидоновой кислотой происходит достаточно быстро, поэтому кривая, характеризующая этот процесс, чаще носит одноволновый характер.

Для индукции агрегации кровяных пластинок арахидоновую кислоту используют в концентрациях 10^{-3} - 10^{-4} моль. При работе с арахидоновой кисло-

той следует учитывать, что на воздухе это вещество очень быстро окисляется.

Пробу на агрегацию с арахидоновой кислотой рекомендуют проводить в случаях использования лекарственных средств, влияющих на реакцию агрегации (например, ацетилсалициловая кислота, пенициллин, индометацин, делагил, диуретики), что нужно учитывать при оценке результатов исследований.

К основным преимуществам оптической агрегатометрии относится долгий опыт использования в клинической и научной практике. Однако серьезный непреодолимый недостаток данного метода кроется в том, что в исследовании используется плазма, обогащенная тромбоцитами, то есть в образце нет других форменных элементов крови, что далеко от физиологических условий «работы» тромбоцитов. Липемия и иктеричность плазмы искажают точность результатов даже при условии использования в качестве бланка аутологичной безтромбоцитарной (PPP) плазмы. Необходимость центрифугирования крови не только удлиняет процедуру исследования, но и вносит погрешность за счет возможной потери части тромбоцитов и/или их ранней активации. Исследование агрегации производится не на поверхности, что так же далеко от условий нормального физиологического процесса.

Поэтому в настоящее время главными (еще не разрешенными окончательно) проблемами практически всех методов оценки агрегации тромбоцитов остаются невысокая стандартизация методов и то, что ни один из лабораторных тестов не соответствует тому, что происходит при тромбообразовании *in vivo*. Именно поэтому усилия многих производителей лабораторного оборудования для оценки функции тромбоцитов направлены на то, чтобы максимально возможно стандартизовать методы и приблизить условия формирования тромба *in vitro* к условиям *in vivo*. Немаловажным является и возможность выполнения данных исследований максимально близко к больному – в режиме Point-of-Care, учитывая, насколько сильно могут преаналитические погрешности исказить интерпретацию результатов исследования функции тромбоцитов.

В настоящее время доступен метод исследования функции тромбоцитов, основанный на турбидиметрическом (оптическом) определении изменения светопропускания крови в результате агглютинации покрытых фибриногеном микрочастиц полистирола в образце цельной крови в присутствии индуктора (тест на аспирин с использованием арахидоновой кислоты, P2Y₁₂-тест с использованием АДФ и простагландина E₁ и тест для ингибиторов гликопротеиновых рецепторов IIb/IIIa). Преимуществами данного метода являются стандартизация методики, небольшой объем крови, необходимый для анализа, простота выполнения теста, возможность использования в режиме Point-of-Care.

Помимо оптического, возможны и другие принципы детекции формирующихся агрегатов, например, импедансный метод, который также делает возможным измерить агрегацию тромбоцитов в цельной крови, то есть в физиологическом окружении форменных элементов крови и без риска активации тромбоцитов при центрифугировании. Метод основан на ре-

гистрации изменения импеданса между двумя электродами при образовании агрегатов под действием индуктора. При инкубировании с цельной кровью на поверхности электродов образуется монослой неактивированных тромбоцитов. При активации тромбоцитов они начинают налипать на этот монослой и, таким образом, изменять электрическое сопротивление (импеданс) между электродами. Данный тест может использоваться для определения агрегации тромбоцитов, подготовленных разными способами, но возможность определения агрегации тромбоцитов в цельной крови является бесспорным преимуществом.

Еще один подход к исследованию функции тромбоцитов реализован на принципе оценки времени окклюзии мембраны, содержащей адреналин, АДФ или P2Y₁₂, цельной кровью. Образование первичного сгустка происходит динамически на микромембране из коллагена при прохождении через нее цельной крови под давлением, т.е. в условиях физиологических сдвиговых усилий; определяется время окклюзии мембраны и исследование фактически является стандартизованным аналогом теста на время кровотечения; исследование является глобальным тестом, так как затрагивает практически все аспекты агрегации/адгезии тромбоцитов, межклеточные взаимодействия и плазменные факторы.

Проточная цитометрия позволяет определить антигенный состав белков на поверхности тромбоцитов, что дает возможность более детально охарактеризовать функции тромбоцитов, однако этот метод еще не получил достаточного распространения.

Перспективным методом является метод оценки состояния фосфорилирования/дефосфорилирования стимулируемого вазодилататором фосфопротеина (VASP) – внутриклеточного протеина, регулирующего актин. Уровни фосфорилирования/дефосфорилирования VASP, которые могут быть оценены количественной проточной цитометрией после обработки (метки) клеток флуороресцирующими моноклональными антителами против фосфорилированного VASP, отражают состояние рецепторов P2Y₁₂.

Еще одна возможность оценки функционального состояния основных рецепторов тромбоцитов реализована в специальной методике ТЭГ – plateletmappingtest (PM-тест). Для получения результата параллельно исследуют 4 пробы. В первую добавляют активатор фибриногена (рептилаза), формирование максимальной амплитуды реакции происходит без участия тромбоцитов, что определяет нулевой уровень агрегации тромбоцитов. Во второй кювете к образцу добавляется каолин – в этом случае достигается максимальная стимуляция тромбоцитов (100% уровень). В третью и четвертую кюветы добавляются индукторы агрегации тромбоцитов – арахидоновая кислота и АДФ. Сравнивая полученные кривые с «0» и «100%» уровнями, легко и наглядно можно определить степень блока соответствующих рецепторов тромбоцитов, из чего следует возможность использования специального PM-теста методики тромбоэластографии для контроля эффективности и безопасности антиагрегантной терапии.

Таким образом, в настоящее время предлагается к использованию достаточно много методов оценки функции тромбоцитов, однако проблема стандартизации и выбора оптимального метода, доступного в рутинной практике, остается актуальной и на сегодняшний день. Также вопросы использования методов оценки функции тромбоцитов для персонализации антиагрегантной терапии требуют дальнейшего изучения, в том числе в крупномасштабных исследованиях.

Лабораторная оценка системы естественных антикоагулянтов

Антитромбин III

Антитромбин III – гликопротеин, синтезируется преимущественно в эндотелии сосудов и клетках печени. Это основной плазматический белок, задействованный в механизме инактивации тромбина (до 75% угнетающей тромбин способности плазмы). При самостоятельном воздействии антитромбина III инактивация тромбина протекает медленно. Гепарин связывает антитромбин III, что вызывает изменение его структуры и приводит к усилению связывания с факторами свертывания крови в 1000 и более раз. Антитромбин III также принимает активное участие в инактивации факторов VIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa.

Недостаточность антитромбина III может быть наследственной или приобретенной. Наиболее частым клиническим проявлением его наследственного дефицита является развитие тромбоза глубоких вен и, как следствие этого, тромбоемболии легочной артерии. Вероятность развития тромботических осложнений у больных с дефицитом антитромбина III увеличивается с возрастом. Низкий уровень антитромбина III в начале беременности может быть причиной развития тромботических поражений плаценты, нарушения плацентарной функции.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма.

Метод исследования

Определение антитромбина III выполняют клоттинговым методом или с использованием хромогенных субстратов.

Референсный интервал

80-129%.

Повышенные значения

- Воспалительные процессы;
- острый гепатит;
- холестаз;
- дефицит витамина K;
- прием антикоагулянтов;
- патология поджелудочной железы (тяжелый панкреатит, рак);
- применение анаболических препаратов.

Пониженные значения

- Врожденный дефицит синтеза антитромбина III;
- прием оральных контрацептивов;
- третий триместр беременности;
- потеря белка при нефротическом синдроме;
- введение гепарина;
- печеночная недостаточность, цирроз печени, хронический активный гепатит;
- ДВС-синдром;
- обширный тромбоз;
- повышенный уровень катаболизма белка.

Протеин С

Протеин С относится к витамин-К-зависимым сериновым протеазам, которые активируются под действием тромбина. При этом он превращается в активированный протеин С, который, связываясь с протеином S, расщепляет факторы свертывания Va (но не фактор V Лейден) и VIIIa. Активированный протеин С является основным ферментом каскадного пути протеина С, обеспечивающего физиологическую антитромботическую активность крови и обладает также выраженными противовоспалительной и антиапоптозной активностями. Дефицит протеина С является фактором, предрасполагающим к развитию венозных тромбозов, развивающихся при наличии других факторов риска (травмы, операции, иммобилизация больного, беременность, использование оральных контрацептивов). Активированный протеин С инактивирует ингибитор активатора плазминогена PAI-1, стимулируя тем самым фибринолиз. Дефицит протеина С может быть количественным (тип I) или качественным (тип II).

При дефиците протеина С тромбозы начинают появляться между 20 и 30 годами жизни. Характерны тромбозы глубоких вен и легочной артерии, могут возникать тромбозы нетипичной локализации. У больных с дефицитом протеина С в первые дни применения непрямых антикоагулянтов может возникнуть некроз кожи, что не наблюдается при дефиците антитромбина III. Повышение протеина С отмечается во время беременности.

Рекомендованы повторные определения активности протеина С после прекращения терапии оральными коагулянтами (предпочтительно через месяц после окончания терапии) а также обследования членов семьи пациента. У гетерозигот с дефицитом протеина С значения его активности могут не выходить за пределы референсного диапазона. Нарушение активации протеина С возникает при патологических состояниях, связанных с экспрессией тканевого фактора и подавлением транскрипции тромбомодулина эндотелиальными клетками (гипоксия, эндотоксинемия, высокий уровень интерлейкина-1, фактора некроза опухоли альфа, гипергомоцистеинемия). Показана информативность тестирования протеина С в прогностических целях при

сепсисе. Уровень активности протеина С < 40%, а также снижение более чем на 10% за 1 день при сепсисе коррелирует с неблагоприятным прогнозом.

Метод исследования

Для определения активности протеина С применяют клоттинговый метод или метод с использованием хромогенных субстратов.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма без признаков липемии или иктеричности.

Референсный интервал

70-130%.

Пониженные значения

- Наследственный дефицит или аномалии протеина С;
- геморрагическая болезнь новорожденных;
- заболевания печени с нарушением ее функции;
- ДВС-синдром;
- нефротический синдром;
- синдром острой дыхательной недостаточности;
- менингококковый сепсис;
- гемодиализ;
- лечении L-аспарагиназой;
- лечении пероральными (непрямыми) антикоагулянтами;
- послеродовый и послеоперационный период.

Протеин S

Протеин S – кофактор протеина С, усиливающий его антикоагулянтное и профибринолитическое действие. Это витамин К-зависимый белок, синтезирующийся в печени. В плазме крови он присутствует в двух формах – свободной и связанной с комплемент-С4b-связывающим белком. Биологическую активность проявляет только свободная форма, связанная форма функционально неактивна. Содержание протеина S зависит от пола, гормонального фона, меняется с возрастом. Дефицит свободного протеина S может быть врожденным или приобретенным. Выделяют:

- тип I – классический – снижение уровня общего и свободного протеина S, снижение функциональной активности протеина S;
- тип II – снижение функциональной активности при нормальном уровне общего и свободного протеина S;
- тип III – селективное снижение уровня свободной формы.

Подобно другим видам тромбофилий, гетерозиготный вариант дефицита протеина S манифестирует во взрослом возрасте в виде тромбоэмболий. Гомозиготные варианты и сочетания с другими тромбофилиями обычно проявляются в период новорожденности в виде фульминантной пурпуры. Приобретенный дефицит можно наблюдать во время беременности, на фоне приема оральных антикоагулянтов, при использовании оральных

контрацептивов, у пациентов с патологией печени, у новорожденных и при других клинических условиях. Снижение уровня свободного протеина S может быть связано с острофазным воспалительным ответом.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма.

Референсный интервал

80-110%.

Пониженные значения

- Наследственный дефицит протеина S, наследственное уменьшение свободной фракции протеина S;
- заболевания печени с нарушением ее функции;
- ДВС-синдром;
- нефротический синдром;
- системная красная волчанка;
- лечение L-аспарагиназой, непрямые антикоагулянтами;
- прием эстрогенов, пероральных контрацептивов;
- беременность, послеродовой период;
- наличие аутоантител к протеину S.

Лабораторная оценка системы фибринолиза

В ситуациях угнетения фибринолиза высоко информативны такие методы, как исследование фибринолитической активности (время лизиса эуглобулинового сгустка и его модификации), оценка активности плазминогена, однако для выявления гиперфибринолиза эти тесты не пригодны. При этом ряд патологических состояний характеризуется избыточной активацией фибринолиза – тяжелая травма, печеночная недостаточность, операции на легких, печени, простате, сосудах. Единственным методом, который способен выявить и количественно оценить это состояние на сегодняшний момент – это глобальный тест исследования системы гемостаза – определение вязко-эластичных свойств тромба (ТЭГ или РОТЕМ).

Определение XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза

Наиболее часто для суждения об активности фибринолитической системы используют определение времени XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза.

В основу метода положен факт ускорения лизиса эуглобулинов, полученных из обработанной каолином бедной тромбоцитами плазмы. Из исследуемой плазмы выделяют эуглобулиновую фракцию, в которой с помощью каолина активируется процесс «фактор XIIa → калликреин → плазминоген». Определяют *время эуглобулинового лизиса* при такой активации.

Замедление лизиса наблюдается при нарушении внутреннего XIIa-зависимого фибринолиза за счет снижения уровня или недостаточной акти-

вазии участвующих в реакции компонентов плазменных протеолитических систем: тромбозы, ДВС-синдром, заболевания печени, иммунные и иммунокомплексные болезни и др.

Удлинение лизиса (до 30-60 мин и более) чаще всего обусловлено наличием в высоком титре ингибиторов фибринолиза, либо дефицитом плазминогена, реже – фактора XII, плазменного прекалликреина или высокомолекулярного кининогена. Для разграничения этих нарушений проводят определение индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза. При дефиците плазминогена процесс лизиса существенного не ускоряется, а при дефиците остальных компонентов системы – нормализуется.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма

Референсный интервал

4-10 мин.

Плазминоген

Плазминоген является основным компонентом фибринолитической системы. Определение плазминогена используют для диагностики ДВС-синдрома и тромбофилий, выявления нарушений системы фибринолиза, контроля лечения фибринолитическими препаратами при тромбозах, тромбоэмболиях, инфарктах.

Материал для исследования

Цитратная бедная тромбоцитами плазма

Метод исследования

Определение концентрации плазминогена с использованием хромогенного субстрата. Результаты анализа выражают в процентах.

Референсный интервал

75-140%.

Повышенные значения

- Панкреатит, панкреонекроз;
- метастазы злокачественных новообразований;
- операции на легких, предстательной, поджелудочной железе;
- гиперкатехоламинемия (стресс, тиреотоксикоз, гипертонический криз, введение адреналина);
- терминальные и другие состояния, сопровождающиеся развитием ДВС-синдрома;
- цирроз печени.

Пониженные значения

- Рецидивирующие венозные тромбозы;
- системные васкулиты;
- сепсис;
- нефротический синдром.

D-димер

D-димеры – специфические продукты деградации фибрина, входящие в состав тромба. Они образуются в процессе лизиса сгустка крови под влиянием плазмина и некоторых неспецифических фибринолитиков. Концентрация D-димеров в сыворотке крови пропорциональна активности фибринолиза и количеству лизируемого фибрина. Этот тест позволяет судить об интенсивности процессов образования и разрушения фибриновых сгустков. D-димеры – показатель того, что в процессе фибринолиза расщепляется именно фибрин, а не фибриноген или фибрин-мономеры. Причины повышенного уровня D-димера – тромбозы глубоких вен и/или тромбоэмболия легочной артерии.

Уровень D-димера, не превышающий пороговое значение, – редкое явление у больных с тромбозом (менее 2% случаев). В основном это может быть обусловлено следующими причинами:

- малым размером тромба;
- запоздалым исследованием;
- ложноположительными результатами инструментального исследования;
- хранением образцов плазмы более 6 ч;
- снижением фибринолитической активности за счет дефицита тканевого активатора плазминогена или высокого уровня ингибитора активатора плазминогена.

Методы определения

ИФА, латексная агглютинация; иммунотурбидиметрия.

Референсный интервал

- Менее 0,255 нг/мл (зависит от выбранного набора реагентов, отсутствует международный стандарт).

Повышение уровня

- Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови;
- тромболитическая терапия;
- онкологические заболевания;
- инфекция,
- воспаление;
- болезни печени;
- обширные гематомы;
- возраст старше 80 лет;
- беременность.

Литература

1. Алан Г. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / 4-е изд. Пер. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2013. – 1254 с.
2. Александрова Е.Н., Новиков А.А. Лабораторная диагностика ревматических заболеваний. Ревматология: клинические рекомендации / Под ред. акад. РАМН Е.Л. Насонова. 2-е изд. испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 19-76.

3. Баркаган З.С., Момот А.П. Основные методы лабораторной диагностики нарушений системы гемостаза. Барнаул: Издательство АГМУ, 1998. – 110 с.
4. Берестовская В.С., Ребякова Е.Н., Козлов А.В. Методы определения активности лактатдегидрогеназы // Terra Medica Nova. 2008. № 1. URL: http://www.terramedica.spb.ru/ld1_2008/berestovska.htm (дата обращения: 28.10.2019).
5. Буланов А.Ю. Тромбоэластография в современной клинической практике. Атлас ТЭГ/ М:Ньюдиамед, 2015. – 114 с.
6. Вавилова Т.В. Гемостазиология в клинической практике: (пособие для врачей) / Санкт-Петербург: Издательство СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2005. – 92 с.
7. Васильев С.А., Мелкумян А.Л. Берковский А.Л и соавт. Методическое руководство/ М:Принт, 2013. – 76. с
8. Дементьева И.И., Чарная М.А., Морозов Ю.А. Патология системы гемостаза/ М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 288 с.
9. Дементьева И.И., Чарная М.А., Морозов Ю.А. Тромбозы в клинической практике/М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 224 с.
10. Клиническая биохимия / под редакцией В.А. Ткачука. М.: ГЭОТАР-Мед, 2004. – 512 с.
11. Клиническая лабораторная диагностика. Национальное руководство/ Гл. ред. Долгов В.В., Меньшиков В.В. Том 1. М: Гэотар-Медиа, 2012. – 928 с.
12. Клиническая лабораторная диагностика. Национальное руководство/ Гл. ред. Долгов В.В., Меньшиков В.В. Том 2. М: Гэотар-Медиа, 2012. – 792 с.
13. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник / под редакцией В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А Шипулина. – М.: Издательство БИНОМ, 2013. – 648 с.
14. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови/ М.: Триада, 2008. – 85 с.
15. Льюис С.М. Практическая и лабораторная гематология / пер. с англ. под ред. А.Г.Румянцева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 672 с.
16. Методики клинических лабораторных исследований. Том 2 / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабора, 2009. – 304 с.
17. Миронова И.И., Романова Л.А., Долгов В.В. Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, эякулят/ М.: Триада, 2005. – 206 с.
18. Основы интенсивной терапии и анестезиологии в схемах и таблицах. Учебное пособие/ под ред. Кирова М.Ю., Кузькова В.В. Архангельск: Северный государственный медицинский университет, 2014. – 192 с.
19. Пашинцева Л.П., Буданцева Т.А., Анциферов М.Б., Зубарев А.И. Международные требования к исследованию гликированного гемоглобина // Справочник заведующего КДЛ. – 2011. – № 3. – С. 16-21.
20. Приказ Минздрава РФ от 26.10.2017 № 869н «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения».
21. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В. Внутренние болезни: Лабораторная и инструментальная диагностика/ Учебное пособие. М.: МЕДпресс-информ, 2011. – 800 с.
22. Руководство по гематологии / под ред. Воробьева А.И. Том 3. М.: Ньюдиамед, 2005. – С. 148-302.
23. Сисла Б. Руководство по лабораторной гематологии / пер. с англ. под ред. А.И. Воробьева. М.: Практическая медицина, 2011. – С. 311-345.
24. Хиггинс К. Расшифровка клинических лабораторных анализов/ М.: Лаборатория зна-

- ний, 2016. – 589 с.
25. Храйчик Д.Е., Седор Д.Р., Ганц М.Б. Секреты нефрологии/ М.: Бином. СПб.: Невский диалект, 2001. – 302 с.
 26. Шевченко О.П., Долгов В.В., Олефиренко Г.А. Электрофорез в клинической лаборатории. Белки крови, ликвора, мочи/ М.: Реафарм, 2008. – 158 с.
 27. Шейман Д.А. Патофизиология почки/ М.: Бином. СПб.: Невский диалект, 2001. – 205 с.
 28. Aarsand A., Díaz-Garzón J., Pilar Fernandez-Calle P. et al. The EuBIVAS: within- and between-subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direct bilirubin, and glucose // *Clinical Chemistry*. – 2018. – Vol. 64. – P. 1380-1393.
 29. Bray C., Bell L., Liang H. et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine // *Wisconsin Medical Journal*. – 2016. – Vol.115. – P. 317-321.
 30. Carter J., Parker C., Stevens P. et al. Biological variation of plasma and urinary markers of acute kidney injury in patients with chronic kidney disease // *Clinical Chemistry*. – 2016. – Vol. 62. – P. 876-883.
 31. Ceriotti F., Henny J., Queralto J. et al. Common reference intervals for aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and γ -glutamyl transferase (GGT) in serum: results from an IFCC multicenter study // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2010. – Vol.48. – P.1593-1601.
 32. Chen C., Drechsler C., Suntharalingam P. et al. High glycated albumin and mortality in persons with diabetes mellitus on hemodialysis // *Clinical Chemistry*. – 2017. – Vol. 63. – P. 477-485.
 33. Collinson P., Saenger A., Apple F. High sensitivity, contemporary and point-of-care cardiac troponin assays: educational aids developed by the IFCC Committee on Clinical Application of Cardiac Bio-Markers // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2019. – Vol. 57. – P.623-632.
 34. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. Report of a WHO/IDF Consultation // WHO. 2006. URL: <http://www.who.int/diabetes/publications> (дата обращения: 12.08.2019).
 35. Eggers K., Jernberg T, Ljung L., Lindahl B. High-sensitivity cardiac troponin-based strategies for the assessment of chest pain patients – A review of validation and clinical implementation studies // *Clinical Chemistry*. – 2018. – Vol. 64. – P.1555-1557.
 36. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. Fourth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice // *European Heart Journal*. – 2007. – Vol. 28. – P. 2375-414.
 37. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults/ Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) // *JAMA*. – 2001. – Vol. 285. – P. 2486-2497.
 38. Fraser C., Benton S. Detection capability of quantitative faecal immunochemical tests for haemoglobin (FIT) and reporting of low faecal haemoglobin concentrations // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2019. – Vol. 57. – P. 611-616.
 39. Godber I., Todd L., Fraser C. et al. Use of a faecal immunochemical test for haemoglobin can aid in the investigation of patients with lower abdominal symptoms // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2016. – Vol.54. – P.595-602.

40. Jellinger P, Yehuda Handelsman Y, Rosenblit P. et al. American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology Guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease // *Endocrine practice*. – 2017. – Vol. 23 (Suppl 2). – P.1-87.
41. Jimenez K., Kulnigg-Dabsch S., Gasche C. Management of iron deficiency anemia // *Gastroenterology & Hepatology*. – 2015. – Vol. 11. – P. 241-250.
42. Koga M., Kasayama S. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker // *Endocrine Journal*. – 2010. – Vol. 57. – P. 751-762.
43. Krahn J., Lou H. Ionized calcium: whole blood, plasma or serum // *Clinical laboratory*. – 2008. – Vol. 54. – P. 185-189.
44. Kramer U., Kress M., Reinauer H. et al. Candidate reference measurement procedures for chloride, potassium, sodium, calcium, magnesium, and lithium by inductively coupled plasma (isotope dilution) sector field mass spectrometry (ICP-(ID) SFMS) in serum // *Clinical laboratory*. – 2013. – Vol.59. – P.1017-1029.
45. Langlois M., Chapman J., Cobbaert C. et al. Quantifying atherogenic lipoproteins: current and future challenges in the era of personalized medicine and very low concentrations of LDL cholesterol. A consensus statement from EAS and EFLM the European Atherosclerosis Society– European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine consensus // *Clinical Chemistry* – 2018. – Vol. 64. – P. 1006-1033.
46. Levey A., Eckfeldt J. Estimating glomerular filtration rate using serum creatinine // *Clinical Chemistry*. – 2017. – Vol. 63. – P.1161-1162.
47. Little R., Rohlfing C., Sacks D. The National glycohemoglobin standardization program: over 20 years of improving hemoglobin A1c measurement // *Clinical Chemistry*. – 2019. – Vol. 65. – P. 839-848.
48. de Maat M., van Schie M., Cornelis Klufft C. et al. Biological variation of hemostasis variables in thrombosis and bleeding: consequences for performance specifications // *Clinical Chemistry*. – 2016. – Vol. 62. – P. 1639-1646.
49. Miller W., Bachmann L., Delanghe J. et al. Optimal use of biomarkers for chronic kidney disease // *Clinical Chemistry*. – 2019. – Vol. 65. – P.949-955.
50. Morrow D., Cannon C., Jesse R. et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes // *Clinical Chemistry*. – 2007. – Vol. 53. – P. 552-574.
51. Panteghini M., Adeli K., Ceriotti F. et al. American liver Guidelines and cutoffs for «normal» ALT: a potential for overdiagnosis // *Clinical Chemistry*. – 2017. – Vol. 63. – P.1196-1198.
52. Pepys M.B, Hirschfield G.M. C-reactive protein: a critical update // *Journal of Clinical Investigation*. – 2003. – Vol. 111. – P. 1805-1812.
53. Ridker P. Cardiology Patient Page. C-reactive protein: a simple test to help predict risk of heart attack and stroke // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108. – P. 81-85.
54. Roffi M., Patrono C. , Collet J. et al. 015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC) // *European Heart Journal*. – 2016. – Vol. 37. – P. 267-315.
55. Sacks D., Arnold M., Bakris G. et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus // *Clinical Chemistry*. – 2011. – Vol. 57. – P. e1-e47.

56. Siller A., Whyte M. Alkaline phosphatase: discovery and naming of our favorite enzyme // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2018. – Vol. 33. – P. 362-364.
57. Sumner A., Duong M., Bingham B. et al. Glycated albumin identifies prediabetes not detected by hemoglobin A1c: the africans in america study // *Clinical Chemistry*. – 2016. – vol. 62. – P. 1524-1532.
58. The National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines Emerging Biomarkers for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke, 2008. www.aacc.org (дата обращения: 12.07.2020).
59. TIETZ Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics/ In: C.A. Burtis, E.R. Ashwood, D.E. Bruns editors. 4th ed.; ELSEVIER SAUNDERS, 2006. 2448 p.
60. Tripodi A. thrombin generation assay and its application in the clinical laboratory // *Clinical Chemistry*. – 2016. – Vol. 62. – P. 699-707.
61. WHO. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus // *Diabetes Care*. – 1999. – Vol. 23. – P. S4-S19.

■ Перечень терминов

Амплификация нуклеиновых кислот – многократное копирование (амплифицирование) определенного участка ДНК или Основной -РНК в условиях *in vitro* для синтеза большого количества копий молекул соответствующих нуклеиновых кислот с оригинальной матрицы

Аналит – компонент или характеристика образца биоматериала, которые необходимо определить. Характеристика включает в себя: концентрацию вещества, активность ферментов или признак (наличие или отсутствие определяемого показателя)

Антигены – вещества (преимущественно белки), присутствие которых вызывает иммунную реакцию организма – образование антител

Антитела – белки глобулиновой фракции биологических жидкостей (сыворотка крови, спинномозговая, синовиальная и др.), образующиеся в организме в ответ на проникновение белков бактерий, вирусов, белковых токсинов и других антигенов

Биологический материал (биоматериал) – образцы биологических жидкостей и тканей человека

Косвенные (непрямые) методы лабораторной диагностики инфекционных болезней – обнаружение в биологических жидкостях пациента (кровь, СМЖ) специфических антител к соответствующему возбудителю (серологические исследования). При применении таких способов лабораторной диагностики об этиологии заболевания судят не по выявлению конкретного возбудителя, а по ответу на него организма – обнаружению высокоспецифичных маркеров, антител к возбудителю инфекционных болезней

Методы исследований

Методы биохимических исследований

Колориметрический – определение концентрации аналита по интенсивности окраски реакционной смеси

Спектрофотометрический – определение концентрации аналита по интенсивности поглощения монохроматических (со строго определенной длиной волны) излучений реакционной смесью в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасных областях спектра

Кинетический (колориметрический, спектрофотометрический) – регистрация изменений оптической плотности реакционной смеси, пропорциональных концентрации или активности (в случае ферментов) аналита во времени

По конечной точке (колориметрический, спектрофотометрический) – регистрация изменений оптической плотности реакционной смеси, пропорциональных концентрации аналита, по истечении определенного интервала времени, определенного методикой исследования (время инкубации)

Сухой химии – использование полосок с нанесенными реагентами для качественной, полуколичественной или количественной оценки содержания аналитов

Флуориметрический – определение концентрации аналита по интенсивности флуоресценции реакционной смеси

Ион-селективный анализ – определение концентрации ионов с использованием ион-селективных электродов, позволяющих определять концентрацию одних ионов в присутствии других

Ферментативный – определение концентрации или активности аналита с использованием сложных многокомпонентных систем, представляющих цепь сопряженных ферментативных реакций

Химический – определение концентрации или активности аналита с использованием одной или нескольких последовательных химических реакций

Методы иммунологических исследований

Иммунологический – качественная, полуколичественная или количественная оценка содержания аналита с использованием реакции антиген-антитело

Иммунохимический – определение наличия или концентрации аналита с использованием реакции антиген-антитело, в которых антиген или антитело маркированы веществом, генерирующим сигнал, измеряемый для детекции образованного комплекса антиген-антитело (ИФА, ИХЛА, ЭХЛА и др.)

Иммуноферментный анализ (ИФА) – определение концентрации аналита с использованием реакции антиген-антитело, когда антиген или антитело маркированы ферментами, в результате действия которых на хромогенный субстрат развивается окрашивание, его интенсивность пропорциональна концентрации аналита

Иммунохемилюминесцентный анализ (ИХЛА) – определение концентрации аналита с использованием реакции антиген-антитело, когда антиген или антитело маркированы молекулами, генерирующими хемилюминесценцию, ее интенсивность пропорциональна концентрации аналита

Иммунохроматографический анализ (ИХА) – метод определения концентрации или обнаружения аналита, основанный на принципе тонкослойной хроматографии и включающий реакцию антиген-антитело

Метод флуоресцирующих антител (МФА) см Реакция иммунофлуоресценции

Реакция агглютинации (РА) – метод обнаружения и идентификации вирусов, основанный на наличии у некоторых вирусов способности избирательно агглютинировать эритроциты определенных видов животных или человека

Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА) – метод выявления антигенов и антител, основанный на способности эритроцитов, на поверхности которых предварительно адсорбированы специфические антигены или антитела, к агглютинации в присутствии соответствующих антител или антигенов

Реакция иммунофлуоресценции (РИФ) или метод флуоресцирующих антител (МФА) – метод выявления антител или антигенов при использовании флуоресцирующих красителей см. *Реакция прямой иммунофлуоресценции; Реакция непрямой иммунофлуоресценции*

Реакция нейтрализации – метод идентификации вируса, основанный на феномене потери им инфекционности в результате взаимодействия со специфическими антителами

Реакция прямой иммунофлуоресценции (РПИФ) – метод основан на связывании антигена с антителами, мечеными флуорохромом, используется для выявления антигенов. Результаты реакции оценивают с помощью люминесцентного микроскопа

Реакция непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) – метод основан на связывании антигена с антителами, комплексы антиген-антитело выявляются с помощью меченых флуорохромом антител к иммуноглобулинам, используется для выявления антител к известному антигену. Результаты реакции оценивают с помощью люминесцентного микроскопа

Реакция связывания комплемента (РСК) – метод выявления специфических антител к антигенам возбудителей инфекционных заболеваний. Метод основан на способности комплемента связываться комплексом антиген-антитело, который формируется при наличии антител в исследуемой пробе крови. Несвязавшийся комплемент определяют по лизису бараньих эритроцитов, предварительно сенсibilизированных специфическими гемолизинами

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) – используется для выявления антигенов вирусов. Метод основан на способности специфических антител связывать и нейтрализовать вирусы, лишая возможности агглютинировать эритроциты

Электрохемилюминесцентный анализ (ЭХЛА) – определение концентрации аналита с использованием реакции антиген-антитело, когда антиген или антитело маркированы молекулами органических соединений, генерирующих электрохимическое свечение

Методы молекулярно-биологических исследований

Методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) – группа методов для обнаружения или определения концентрации ДНК/РНК микроорганизмов и выявления мутаций, основаны на амплификации нуклеиновых кислот: ПЦР, НАСБА, ТМА и др.

НАСБА (NASBA, nucleic acids sequence-based amplification) и ТМА (transcription mediated amplification) – методы специфической амплификации РНК в изотермических условиях (при 41 °С) с использованием смеси ферментов (обратной транскриптазы, RNase H и T7 RNA полимеразы) и пары олигонуклеотидных праймеров

ПДРФ – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (restriction fragment length polymorphism, RFLP) – метод анализа геномной ДНК, вклю-

- чающий ее рестриктию с использованием специфической эндонуклеазы, разделение образующихся фрагментов ДНК и их идентификацию
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР, polymerase chain reaction, PCR)* – метод амплификации нуклеиновых кислот с использованием фермента термостабильной ДНК-зависимой ДНК-полимеразы. Для детекции продуктов амплификации используют метод электрофореза, при амплификации в присутствии флуоресцентно-меченых зондов оценивают интенсивность флуоресценции сигнала после окончания реакции (end point) или в процессе реакции (ПЦР в реальном времени)
- ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ, Real-Time PCR)* – амплификация НК в присутствии флуоресцентно-меченых зондов с детекцией сигнала в процессе реакции. Метод позволяет определить концентрацию ДНК/РНК
- ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР, reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)* – превращение РНК в комплементарную одноцепочечную ДНК с последующей амплификацией методом ПЦР, используется для амплификации РНК
- Пульс-электрофорез* – методика электрофоретического разделения ДНК в геле агарозы в условиях периодически меняющегося по направлению («пульсирующего») электрического поля
- bDNA (branched chain DNA)* – метод разветвленной ДНК, основан на амплификации сигнала гибридизации исследуемой нуклеиновой кислоты с синтетической разветвленной детектирующей молекулой ДНК
- DNA fingerprinting* – процедура определения структурных особенностей индивидуальной ДНК (ДНК-картирование, метод «отпечатков пальцев», метод пептидных карт, фингерпринт метод)
- LAMP – (LOOP-mediated amplification)* петлевая изотермическая амплификация – метод включает синтез цепи ДНК с помощью ДНК-зависимой ДНК-полимеразы при условии наличия в реакционной смеси двух пар специфических олигонуклеотидных праймеров, комплементарных искомой мишени
- MALDI-TOF MS* – методика идентификации микроорганизмов до рода и вида с помощью времяпролетного масс-спектрометра с матричной ионизацией (MALDI – Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация, ионизация вещества с помощью матрицы и лазерного излучения; TOF MS – Time Of Flight Mass-Spectrometry – времяпролетная масс-спектрометрия), масса молекулы оценивается по времени пролета от источника ионизации до детектора
- nested PCR* (гнездовая, вложенная ПЦР) – вариант ПЦР с использованием двух пар праймеров, вторая из которых амплифицирует участок ДНК внутри продукта первой реакции
- NGS (секвенирование нового поколения)* – общее название для ряда различных методов, позволяющих проводить одновременное (в одной реакции) определение последовательностей нуклеотидов в НК

RFLP (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов, restriction fragment length polymorphism, см. ПДРФ) – метод анализа геномной ДНК включающий ее рестрикцию с использованием специфической эндонуклеазы, разделение образующихся фрагментов ДНК и их идентификацию

Отрицательное предсказательное значение (ОПЗ, negative predictive value, NPV) – доля истинно отрицательных результатов теста среди всех отрицательных значений:

(истинно отрицательные)/(истинно отрицательные + ложноотрицательные).

ОШ – (отношение шансов, odds ratio, OR) термин математической статистики, применяемый для количественной оценки связи двух признаков в определенной популяции/группе

Парные сыворотки – две пробы крови, взятые у пациента через определенный промежуток времени для оценки динамики изменения уровня (титра) АТ

Положительное предсказательное значение (ППЗ, предсказательная значимость положительного результата (ПЗПР), положительная прогностическая значимость, positive predictive value, PPV) – доля истинно положительных результатов среди всех положительных значений теста: (истинно положительные)/(истинно положительные + ложноположительные)

Прямые методы лабораторной диагностики инфекционных болезней – методы, результаты которых позволяют обнаружить в биологических жидкостях и тканях пациента микроорганизм или его специфические фрагменты (визуальное обнаружение микроорганизма (микроскопия), изоляция микроорганизма в культуре клеток или на специальных средах (культуральные исследования, посев) выявление специфических белков-антигенов и фрагментов нуклеиновых кислот возбудителя)

ПЦР-исследование, ПЦР-анализ, ПЦР-диагностика – обнаружение или определение концентрации ДНК/РНК в биологических образцах пациента методом ПЦР

Научное издание
Коллектив авторов. Под ред. академика РАН, д.м.н., профессора
В.Г. Акимкина, д.б.н., профессора М.Г. Твороговой

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Художественное оформление: Н.Ю. Палочкина

Компьютерная верстка: Е.С. Иверская

Корректор: Е.В. Владимирова



Подписано в печать 12.08.2020.
Формат 70×100/16. Гарнитура Minion Pro.
Усл. печ. л. 30.

Издатель: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(495) 974-96-46. E-mail: crie@pcr.ru
Отпечатано в типографии
«Буки Веди». www.bukivedi.com.
E-mail: info@bukivedi.com.