

Т.И.Долгих

**СТРАТЕГИЯ И МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ
ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Пособие для врачей

Т.И.Долгих

СТРАТЕГИЯ И МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. Омск: 2007. – с. 57

В пособии обобщены современные литературные данные и многолетний опыт автора по изучению актуальных инфекций (цитомегаловирусной инфекции, герпетической инфекции, инфекционного мононуклеоза, токсоплазмоза, парвовирусной инфекции *B19*). Представлен комплексный подход к верификации диагноза при респираторных инфекциях, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, лимфаденопатиях неясного генеза. Освещены вопросы этиологии, эпидемиологии и клинико-иммунологические аспекты, предложена новая стратегия обследования пациентов из групп высокого риска при подозрении на моно- и микст-инфекцию. Особое внимание уделено стратегии обследования беременных женщин и новорожденных детей, а также пациентов с иммунодефицитами. Кроме того, в предлагаемом читателю пособии предложено оценить дифференциально-диагностическое значение нового поколения подтверждающих тестов - иммуноблотов (вестерн-блотов, лайн-блотов), используемых для диагностики герпесвирусных инфекций, парвовирусной инфекции *B19*, краснухи, токсоплазмоза, а также для диагностики сифилиса и боррелиоза.

Пособие рассчитано на инфекционистов, иммунологов, акушеров-гинекологов, неонатологов, педиатров, специалистов клинической лабораторной диагностики, терапевтов, дерматовенерологов, эпидемиологов, а также для студентов, интернов и преподавателей медицинских вузов.

Автор:

– *Долгих Татьяна Ивановна* – доктор медицинских наук, профессор, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией и руководитель Академического центра лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии

Рецензенты:

– *Теплова Светлана Николаевна* – заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Челябинской государственной медицинской академии;

– *Маркелова Елена Владимировна* - доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии с курсом иммунологии Владивостокского государственного медицинского университета;

– *Карбышева Нина Валентиновна* - доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней с курсом эпидемиологии Алтайского государственного медицинского университета.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
1. Представление о современных методах лабораторной диагностики инфекций	7
2. Особенности лабораторной диагностики внутриутробных инфекций.....	14
3. Лабораторная диагностика поражений ЦНС при токсоплазмозе, цитомегаловирусной инфекции, неонатальном герпесе, ВЭБ-инфекции	16
4. Лабораторная диагностика токсоплазмоза	17
5. Микст-инфекция: токсоплазмоз и цитомегаловирусная инфекция	22
6. Лабораторная диагностика цитомегаловирусной инфекции.....	23
7. Лабораторная диагностика герпетической инфекции.....	25
8. Лабораторная диагностика инфекционного мононуклеоза	27
9. Парвовирусная инфекция В19. Современные возможности лабораторной диагностики	29
10. Современные возможности лабораторной диагностики болезни Лайма (боррелиоза).....	31
11. Иммуноблот – новое поколение подтверждающих тестов на сифилис.....	32
12. Значение иммунологических методов в диагностике и мониторинге оппортунистических инфекций.....	33
Методическое обеспечение диагностического процесса и мониторинга (диагностика инфекций у взрослых и детей) <i>(приложение 1)</i>	36
Тактика врача при интерпретации результатов обследования матери и ребенка на токсоплазмоз, герпетическую инфекцию, ВЭБ-инфекцию и ЦМВИ <i>(приложение 2)</i>	48
Методическое обеспечение диагностического процесса и мониторинга (заболевания желудочно-кишечного тракта у взрослых и детей) <i>(приложение 3)</i>	50

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в России на фоне роста иммунодефицитов, аллергических и аутоиммунных заболеваний наблюдается рост социально-значимых инфекций (ВИЧ-инфекции, туберкулеза, вирусных гепатитов) и оппортунистических инфекций бактериальной, вирусной, грибковой и паразитарной природы. Наряду с появлением новых инфекций (ВИЧ-инфекции, парвовирусной инфекции *B19*) отмечается возврат «старых» инфекций, но уже с измененным генотипом возбудителя.

Особое внимание клиницистов стали привлекать оппортунистические инфекции, развитие которых у лиц с иммунодефицитами способно формировать тяжелую патологию различных органов и систем, приводить к инвалидности и быть причиной летального исхода. Среди данной группы инфекций важное место занимают герпетическая и цитомегаловирусная инфекции, а также инфекция, вызываемая вирусом Эпштейна-Барр, и токсоплазмоз. Учитывая широкую распространенность возбудителей этих инфекций и сходную клиническую картину, актуальным становится вопрос о тактике обследования пациентов и оптимальном выборе лабораторных тестов при первичном обращении и мониторинге.

Следует обратить внимание врачей на увеличение частоты (в том числе у детей раннего возраста) респираторных инфекций, все чаще принимающих затяжное течение с возможностью рецидива, их вспышечный характер, особенно в закрытых коллективах. Не теряет своей актуальности и проблема нейроинфекций. Это обосновывает необходимость оперативной и комплексной диагностики, включающей определение генетического материала и антигенов (или антител к ним) одновременно к нескольким возбудителям.

В последние годы в связи с разработкой новых лабораторных технологий, появлением на мировом рынке тест-систем принципиально нового направления значительно расширились диагностические возможности. Необходимость их внедрения была продиктована прежде всего происходящей в настоящее время сменой патогенов, появлением новых возбудителей и усилением агрессии ранее известных условно-патогенных микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов, паразитов), которые под влиянием различных факторов (в том числе в результате частого применения антибиотиков и противовирусных препаратов) стали подвергаться генетической изменчивости.

В этих условиях для выбора тактики ведения пациента и проведения адекватной терапии принципиально важной стала необходимость установления фазы инфекционного процесса и оценка адекватности иммунного ответа макроорганизма на воздействие патогенов.

Вместе с тем, широкое использование современных возможностей лабораторной диагностики сдерживается отсутствием или недостатком финансирования, слабой материально-технической базой (недостаток оборудования, отсутствие диагностических препаратов целевого назначения), недостаточной подготовкой как специалистов в области лабораторной диагностики, так и

клиницистов, способных принять результаты исследований биологического материала и правильно их интерпретировать. Следует признать отсутствие преемственности, интеграции и координации действий между организаторами здравоохранения, клиническими и лабораторными службами.

В настоящее время перед специалистами стоят новые задачи по повышению надежности и репрезентативности методов диагностики и лечения, что во многом зависит от уровня информативности лабораторных методов исследования и расширения диагностических возможностей. Тактика врачей по выявлению оппортунистических инфекций зачастую отличается односторонним подходом и нередко базируется на определении специфических антител классов IgG и IgM (в отдельных лабораториях дается лишь качественная оценка суммарных антител), что нередко «загоняет» врача в «серологический тупик» и приводит к гипо- или гипердиагностике. Проблема состоит и в том, что титры антител при данных инфекциях имеют тенденцию сильно колебаться по ходу инфекции, так что их резкое падение или повышение не всегда коррелирует с активностью процесса, особенно у новорожденных и пациентов с выраженным иммунодефицитом.

В этих условиях от клинициста (инфекциониста, терапевта, пульмонолога, иммунолога, акушера-гинеколога, перинатолога, педиатра) требуется определенный уровень знаний в области лабораторной диагностики и иммунологии. Внедрение новых тестов в практику позволяет врачу на основе комплексной оценки состояния пациента и результатов специальных анализов, направленных на этиологическую расшифровку, оперативно установить (или исключить) инфекционное заболевание и наличие микст-инфекции, установить смену возбудителя и выделить ведущий этиологический фактор в формировании патологии на конкретном этапе заболевания, определить фазу инфекционного процесса, назначить адекватную терапию и оценить её эффективность. Следует всегда помнить о наличии факторов, отягощающих течение процесса (иммунной и/или гормональной недостаточности, аутоиммунного заболевания, хронической фетоплацентарной недостаточности и др.).

Несмотря на относительно высокую стоимость анализов, использование комплекса лабораторных тестов вполне оправданно, так как этиологическая расшифровка диагноза принципиально влияет на тактику ведения пациента, определяет необходимость этиотропной и иммуномодулирующей терапии, а в отдельных случаях позволяет прогнозировать исход. Использование новых методов предоставляет также возможность проводить иммунологический мониторинг и разрабатывать индивидуальную программу иммунореабилитации пациентов, что является особенно ценным в случае формирования хронического инфекционно-воспалительного процесса.

В практической медицине рутинные методы по-прежнему имеют важное значение. Вместе с тем, следует дать представление клиницистам и о тех методах, которые они могут использовать в качестве основного, уточняющего или альтернативного метода, отдельно или в комплексе на различных этапах обследования

пациента, а также при проведении мониторинга. Речь идет о применении полимеразной цепной реакции (ПЦР), реакции иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментного анализа (ИФА), иммуноблота (Вестерн-блота, лайн-блота), используемых для диагностики вирусных, бактериальных инфекций и паразитарных инвазий, а также о методах оценки иммунного статуса и цитокиновой системы.

Рациональное использование тест-систем на основе предложенных принципов на отдельных этапах обследования пациента позволяет избежать ненужных многократных исследований.

Многолетний опыт работы в области диагностики оппортунистических инфекций показал, что рекомендуемый в литературе принцип динамического наблюдения с целью определения четырехкратного нарастания титра антител в парных сыворотках при мониторинге оппортунистических инфекций в большей части сложных клинических случаев не оправдан, особенно при обследовании новорожденных, детей раннего возраста, беременных и пациентов с иммунодефицитами. Нередко такие пациенты обследуются на высоте иммунного ответа, или их иммунная система не способна нарабатывать антитела в достаточном количестве даже при наличии активного инфекционного процесса (сила иммунного ответа генетически детерминирована). Выбор тактики длительного наблюдения приводит в ряде случаев к поздней диагностике, переходу острого процесса в хроническое течение и даже к смерти больного. При ЦМВ- и ВПГ-инфекциях, а также при токсоплазмозе на фоне слабого иммунного ответа (или его снижении) нередко отмечается нарастание клинических симптомов (появление у детей раннего возраста выраженной неврологической симптоматики или ее нарастание, развитие микро- и гидроцефалии; септическое состояние, менингиты и менингоэнцефалиты; увеиты и хориоретиниты; самопроизвольные выкидыши или замершая беременность, рождение ребенка с тяжелыми пороками).

Широкое использование современных возможностей лабораторной диагностики сдерживается отсутствием или недостатком финансирования, слабой материально-технической базой (недостаток оборудования, отсутствие диагностических препаратов целевого назначения), недостаточной подготовкой как специалистов в области лабораторной диагностики, так и клиницистов, способных принять результаты исследований биологического материала и правильно их интерпретировать.

Необходимость преемственности, интеграции и координации действий специалистов продиктована временем, а разработка стратегии и методического обеспечения диагностики этой группы инфекций должна стать в настоящее время приоритетной.

1. ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДАХ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ

По информативности методы лабораторной диагностики подразделяют на две группы:

✓ *прямые методы*, направленные на выявление возбудителя (*паразитологический, вирусологический или бактериологический метод*), его антигенов (*иммунофлюоресцентный метод или иммуноферментный анализ*) или РНК/ДНК (*полимеразная цепная реакция – ПЦР*);

✓ *непрямые (серологические) методы*, направленные на выявление антител в сыворотке крови, плазме, спинномозговой жидкости, а также в другом биологическом материале (слюне, слезной жидкости, моче, бронхоальвеолярном секрете, перитонеальной жидкости). Из группы серологических реакций чаще используется *иммуноферментный анализ – ИФА*, который имеет достаточно высокую специфичность и чувствительность. Его применяют для скрининговых исследований (с целью выделения групп высокого риска заболевания) и диагностических исследований (с целью подтверждения диагноза, установления фазы инфекционного процесса), а также для оценки эффективности терапии.

Реже используются *реакция непрямой иммунофлюоресценции (НРИФ) и латекс-агглютинация*, однако эти методы достаточно информативны и доступны для многих лабораторий. В настоящее время внимание специалистов привлекли тест-системы на основе биочипов, позволяющие проводить оперативную и комплексную диагностику заболеваний у пациентов с различными синдромами, что делает их использование весьма перспективным.

Для подтверждения диагноза все чаще используют *иммуноблот (Western-blot, Line-blot)*, направленный на выявление антител к отдельным антигенам возбудителей сифилиса, герпесвирусных инфекций, вирусного гепатита С, боррелиоза, краснухи, токсоплазмоза и др.).

А. Выявление возбудителя инфекции, его антигенов и генетического материала

1. Паразитологический метод (имеет ограничение использования ввиду технических трудностей) – чаще применяется для диагностики токсоплазмоза; позволяет провести идентификацию возбудителя непосредственно в тканях или жидкостях пациента (крови, ликвора и биоптатов лимфатических узлов), либо опосредованно после введения их мышам или кошкам (биопроба с получением результата через 6 недель после заражения), либо на тканевых культурах.

2. Иммунофлюоресцентный метод (син.: реакция иммунофлюоресценции – РИФ, метод флюоресцирующих антител – МФА, прямая иммунофлюоресценция – ПИФ); основан на выявлении светящихся иммунных комплексов. В основе метода лежит применение моноклональных или поликлональных антител. Сущность метода заключается в соединении антител, меченых флюорохромом, со специфическими антигенными детерминантами, находящимися на поверхности клетки, и последующей детекции с помощью люминесцентного микроскопа на определенной длине волны.

Позволяет обнаружить антигены возбудителей (токсоплазм, цитомегаловируса – ЦМВ, вирусов простого герпеса 1 и 2 типов – ВПГ -1/2, а также возбудителей урогенитальных инфекций, респираторного микоплазмоза и респираторного хламидиоза, кандидоза и др.) в различном биоматериале: в крови, спинномозговой жидкости, соскобах из предполагаемого очага инфекции, моче, бронхоальвеолярной жидкости, биоптате, патологоанатомическом материале.

Метод широко используется в клинике.

Важное значение для определения активности инфекционного процесса (в том числе и реактивации) имеет детекция антигенов («ранних белков») возбудителя в крови (плазме, лейкоцитарной взвеси) и в спинномозговой жидкости. Антигенемия может иметь место в острой фазе инфекционного процесса при ЦМВ- и ВПГ-инфекции, токсоплазмозе (паразитемия) с первых дней инфекции, что подтверждает ценность этих исследований для ранней диагностики, а также для установления факта реактивации или суперинфекции.

Ограничения метода связаны с наличием необходимого оборудования, высококачественных тест-систем, а также соответствующей квалификацией специалистов лаборатории. Для достоверности результата важное значение имеет использование реагентов с высокой чувствительностью и специфичностью, позволяющих избежать перекрестного реагирования антигенов возбудителей.

3. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – обладает уникальной чувствительностью и специфичностью. С ее помощью можно анализировать различные клинические образцы. Суть ПЦР заключается в идентификации специфического участка молекулы ДНК с последующим копированием или амплификацией этого участка с целью получения достаточного количества копий, которые могут быть выявлены доступными методами детекции (чаще всего с помощью электрофореза). Позволяет обнаружить РНК/ДНК различных возбудителей в крови, спинномозговой жидкости, моче, слюне, мокроте, бронхоальвеолярном секрете и биоптатах; обладает наиболее высокой чувствительностью и специфичностью. Метод ПЦР имеет высокое диагностическое значение, особенно при диагностике острой и врожденной формы.

Метод широко используется в диагностике урогенитальных инфекций (хламидиоза, микоплазмоза, уреаплазмоза, папилломавирусной инфекции), вирусных инфекций (ВИЧ-инфекция, ЦМВ-инфекции, ВПГ-инфекции, парвовирусной инфекции В19, ВЭБ-инфекции, вирусных гепатитах А, В и С), воздушно-капельных инфекциях (дифтерия, коклюш), туберкулезе (особенно при внелегочных формах). При токсоплазмозе ограничения метода связаны с кратковременной паразитемией. Диагностическая ценность ПЦР повышается при сочетании с серологическими методами.

Преимуществами ПЦР являются:

- ✓ высокая чувствительность метода;
- ✓ возможность исследования любого биологического материала (крови, ликвора, мокроты, бронхо-альвеолярного лаважа, мочи, слюны) на наличие

- ДНК одного или нескольких возбудителей;
- ✓ диагностика инфекционных заболеваний на ранних стадиях болезни;
 - ✓ возможность количественной оценки результатов исследования;
 - ✓ возможность генотипирования (при вирусном гепатите С)

ПЦР может проводиться в двух вариантах: качественном и количественном. Последний имеет важное значение при диагностике и мониторинге ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов (определение вирусной нагрузки). Метод позволяет также проводить генотипирование (чаще используется при гепатите С и ВИЧ-инфекции).

Вместе с тем, опыт диагностики врожденных инфекций позволяет сделать заключение, что при наличии клинических признаков внутриутробной инфекции отрицательный результат исследования крови или ликвора на наличие генетического материала ЦМВ и ВПГ еще не исключает герпесвирусную инфекцию, что подтверждено результатами патологоанатомических исследований: несовпадение лабораторного (и соответственно клинического) диагноза и патологоанатомического диагноза в случае использования только одного данного теста имело место в 30-40% случаев, что обосновывает использование ПЦР в комплексе с другими методами (РИФ, ИФА).

В настоящее время ПЦР также используется для HLA-типирования и определения генов цитокинов.

4. Иммуноферментный анализ (ИФА) – позволяет выявлять антигены возбудителей инфекции (например, серологические маркеры вирусного гепатита В – HbsAg и HbeAg).

Б. Методы выявления специфических антител

1. Иммуноферментный анализ (ИФА) – широко используется для эпидемиологических исследований, при перинатальном скрининге и с диагностической целью. Его применяют для оценки специфического иммунитета при вирусных инфекциях (ВИЧ-инфекция, ЦМВ-инфекция, ВПГ-инфекция, опоясывающий герпес, ВЭБ-инфекция, парвовирусная инфекция, вирусные гепатиты), бактериальных инфекциях (респираторный микоплазмоз, респираторный и урогенитальный хламидиоз, коклюш, дифтерия, хеликобактериоз и др.), грибковых инвазиях (кандидоз, аспергиллез, пневмоцистоз), глистных инвазиях (аскаридоз) и паразитозах (аскаридоз, токсоплазмоз, токсокароз, описторхоз, лямблиоз), а также для определения общих иммуноглобулинов различных классов, цитокинов, молекул адгезии, гормонов, онкомаркеров, кардиомаркеров и др.

В основе метода лежит образование комплекса «антиген-антитело» на твердой фазе полистирольных планшет и дальнейшая «трансформация» ферментной метки в соответствующий сигнал, регистрируемый с помощью спектрофотометра. Основными преимуществами метода являются: высокая чувствительность и специфичность, возможность одновременного обследования большого количества проб, объективная оценка результатов с помощью спектрофотометра, простота постановки и возможность внутреннего контроля при каждой постановке. Ограничения метода

связаны с наличием необходимого оборудования, высококачественных и высокоспецифичных тест-систем, а также соответствующей квалификацией специалистов лаборатории. В настоящее время в ряде лабораторий осуществляется переход на автоматические ИФА-анализаторы, которые повышают качество (и соответственно достоверность) лабораторных исследований.

ИФА имеет высокую чувствительность и специфичность, является универсальным методом и позволяет выявлять в сыворотке (плазме), в спинномозговой жидкости и другом биологическом материале специфические антитела различных классов: **IgM, IgA, IgG, IgE**.

Определение суммарных антител при диагностике оппортунистических инфекций имеет низкую диагностическую ценность, дает лишь предварительную информацию о наличии инфекции и требует дальнейшего лабораторного уточнения. Часто используется для эпидемиологических целей.

Классы иммуноглобулинов:

IgM – наиболее «ранние» антитела, поскольку образуются на ранних стадиях инфекционного процесса. Они способны агглютинировать бактерии, нейтрализовать вирусы, активировать комплемент и играют важную роль в элиминации возбудителя из кровеносного русла. Не проникают через плаценту, синтезируются еще у плода и относятся к собственным антителам новорожденных. Их наличие указывает на заражение (в том числе и внутриутробное), свидетельствует об активном процессе. Уровень IgM-антител может повышаться при реактивации, реинфицировании или суперинфицировании.

IgG – играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, вызывая гибель возбудителя с участием комплемента и опсонизируя фагоцитарные клетки. Наибольшее значение в противoinфекционной защите имеет субкласс **IgG₂**. IgG проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных.

В последние годы появилась возможность определения так называемых "ранних" специфических IgG, которые обладают низкой avidностью и указывают на первичную инфекцию (данный тест используется при диагностике краснухи, токсоплазмоза, ЦМВ-инфекции, ВПГ-инфекции). Высокоавидные антитела являются показателем давнего инфицирования и ранее перенесенной инфекции. Avidность антител в сыворотках оценивают по индексу avidности (ИА), который выражают в %. Выявление ДНК или антигенов («ранних белков») возбудителя на фоне высокоавидных антител указывает на персистирующую инфекцию и свидетельствует в пользу активности инфекционного процесса.

IgA – существует в двух формах: секреторной и сывороточной. Он не проходит через плаценту. Секреторный IgA содержится в молоке, молозиве, слюне, в слезном, бронхиальном и желудочно-кишечном секрете, желчи, моче. Это основной вид иммуноглобулинов, участвующих в местном иммунитете. Селективное накопление IgA в секретах говорит о его защитной функции по отношению к возбудителям инфекции.

При повышении его содержания в соответствующих секретах снижается накопление и выделение возбудителя, ограничивается развитие патологического процесса.

Поступая с молоком матери, IgA всасывается в кишечнике и остается здесь, защищая слизистые оболочки. Эти антитела направлены к бактериальным и вирусным антигенам, часто попадающим в кишечник. Синтез сывороточных IgA начинается с конца первого месяца заболевания и продолжается до тех пор, пока антиген доступен иммунокомпетентным клеткам. Его обнаружение свидетельствует об остром или подостром процессе, реактивации и суперинфекции. Тест показателен при диагностике врожденных форм инфекций, поскольку IgA не проходят через плаценту, а нарабатываются в организме ребенка в ответ на воздействие инфекционного агента.

IgE – время полужизни – 3 дня в сыворотке крови и 14 дней – на мембранах тучных клеток и базофилов. С IgE (реагинами) тесно связан механизм атопических аллергических реакций. Они обладают способностью к быстрой фиксации на клетках кожи, слизистых оболочек, тучных клетках и базофилах. Данный класс иммуноглобулина ответственен за аллергию немедленного типа. Кроме участия в аллергических реакциях I типа, он также принимает участие в противогельминтном иммунитете, что обусловлено существованием перекрестного связывания между IgE и антигеном гельминтов. Однако в ряде случаев при гельминтозах (особенно при аскаридозе и токсокарозе) имеет место IgE-независимый ответ, что обосновывает целесообразность выявления прежде всего IgG к антигенам гельминтов при дополнительном использовании теста для выявления уровня общего IgE.

Кроме уровня общего IgE, для поиска причинного аллергена определяют специфический IgE (к кандидам, аспергиллам, клещу домашней пыли и др. аллергенам).

Причины ложно-положительных результатов ИФА

Как и при других реакциях, при ИФА возможен ложно-положительный результат. Причины ложно-положительных реакций следует разделить на следующие группы:

✓ ошибки на преаналитическом этапе, связанные с нарушением правил взятия биоматериала (рекомендуется проводить забор крови в пластиковые пробирки однократного применения, предназначенные для сыворотки, лучше со свертывателем крови), гемолиз, бактериальное обсеменение крови или сыворотки (имеет место в случае нарушения температурного режима при хранении или транспортировке) пробирок с биоматериалом;

✓ ошибки на аналитическом этапе при нарушении технологического процесса, а также зависящие от качества тест-систем и квалификации персонала;

✓ ошибки на постаналитическом этапе (зависят от ответственности и квалификации персонала).

Особо следует выделить причины ложно-положительных результатов, не зависящие от сотрудников лаборатории. Наиболее часто они встречаются при определении специфических антител класса IgM и могут быть обусловлены наличием ревматоидного фактора, гиперпродукцией IgM при беременности, перекрестной реакцией с антигенами других возбудителей, аутоиммунным процессом, нарушением

обмена веществ, липадемией и др. В данном случае использование ряда лабораторных приемов позволяют получить достоверный результат анализа. К ним в первую очередь следует отнести: удаление ревматоидного фактора из сыворотки, использование на первом этапе постановки или в качестве подтверждающих тестов высокоспецифичных тест-систем зарубежного производства, повторное исследование сыворотки, применение в качестве подтверждающего теста иммуноблота-IgM (или лайн-блота), направленного на выявление антител именно класса IgM к отдельным антигенам возбудителя. Наряду с этим, следует помнить, что IgM являются показателем острого и активного инфекционного процесса. Обнаружение ДНК возбудителя или его антигенов прямыми методами или появление антител других классов в результате переключения синтеза антител в динамике позволяют верифицировать диагноз.

При детекции IgG-антител также может быть получен ложно-положительный результат, связанный прежде всего с перекрестным реагированием антигенов (например, между ЦМВ и вирусом простого герпеса; между различными видами хламидий: *Chl. trachomatis*, *Chl. pneumoniae* и *Chl. psittaci*) и напрямую зависящий от специфичности тест-систем. Для уточнения лабораторного диагноза и исключения ложнопозитивного результата следует применять иммуноблот (*Westernblot-IgG*, *Line-blot*), предназначенный для обнаружения IgG к отдельным высокоспецифичным белкам патогена. *Line-blot* отличается тем, что на нитроцеллюлозную мембрану нанесены или ими усилены специфические белки, обладающие высокой диагностической информативностью.

2. Латекс-агглютинация (агглютинация с использованием желатиновых частиц и др. модификации) – позволяет выявить антитела в любой лаборатории, не имеющей комплекта оборудования для классического ИФА, провести диагностику ряда инфекций: ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов В и С, респираторного микоплазмоза.

3. Реакция непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) для исследования на респираторные инфекции, позволяющая в течение нескольких часов отдельно выявить антитела классов IgM и IgG к различным возбудителям: вирусам гриппа (серотипам), парагриппа, РС-вирусу, легионеллам, возбудителям респираторного хламидиоза и микоплазмоза.

4. Биочиповые технологии Наибольшую чувствительность и специфичность имеют наборы, основанные на биочиповой технологии. Учет результатов оптимально проводить, используя считыватель биочипов.

Весьма перспективно использование *профилей* для комплексной диагностики ***TORCH-инфекций, заболеваний желудочно-кишечного тракта, респираторных инфекций с расширенным спектром возбудителей (до 20 патогенов, включая возбудителя коклюша), инфекционного артрита, гепатита, офтальмопатологии, аутоиммунных заболеваний.*** Достоверность результатов определяется качеством диагностических наборов. При исследовании минимального количества биоматериала

(сыворотки крови необходимо до 50 мкл) одновременно в течение 1-2 часов можно верифицировать диагноз моно- или микст-инфекции. Высокие технологии позволили создать уникальные комплексные диагностические тесты. Есть все основания полагать, что в ближайшие годы они станут приоритетными в диагностическом процессе.

5. Метод иммуноблота (Westernblot, Line-blot, recom-Line) – новое поколение референтных методов, высокоспецифичных и высокочувствительных, подтверждающих (или исключающих) диагноз при подозрении на инфекции в случае получения положительных или сомнительных (неопределенных) результатов при исследовании сыворотки крови или ликвора в ИФА, РА или РПГА. Представляет собой индивидуальный оценочный шаблон (нитроцеллюлозную мембрану) с нанесенными раздельными белками (антигенами). Имеет возможность автоматизации исследования. Для оценки сигнала принимают во внимание положение и интенсивность окрашивания полос.

Позволяет определять антитела к отдельным антигенам возбудителя. При ВИЧ-инфекции является основным диагностическим тестом. Кроме того, данный тест, рекомендованный *при вирусном гепатите С* в качестве подтверждающего теста, уже доказал наличие гипердиагностики данного гепатита методом ИФА, а также позволил выделить белки диагностической и прогностической значимости при мониторинге заболевания и оценки эффективности лечения.

Иммуноблот (Westernblot и Line-blot, последний отличается от Westernblot нанесением на мембрану диагностически значимых белков) в настоящее время хорошо зарекомендовал себя (и очевидно определяет приоритет) в диагностике следующих заболеваний: боррелиоза, сифилиса, ЦМВ-инфекции, ВЭБ-инфекции, герпетической инфекции, краснухи, хеликобактериоза. Он позволяет раздельно выявлять IgM и IgG к отдельным белкам, что значительно повышает эффективность как диагностического процесса (в том числе при диагностике врожденных и перинатальных инфекций), так и мониторинга.

Представляет сложность оценка результатов реакции, требующая высокой квалификации и знаний специалиста.

При токсоплазмозе, ЦМВ-инфекции, герпетической инфекции, ВЭБ-инфекции для установления активности инфекционного процесса, наличия рецидивов и хронизации следует: 1) принимать во внимание особенности формирования иммунного ответа пациентов различных возрастных групп; 2) учитывать диагностически значимую динамику (нарастание показателей на 2-3 порядка), *если это позволяет временной фактор и не требуется оперативной диагностики (!)*; 3) использовать комплекс лабораторных тестов в зависимости от цели и задачи исследования, включая, *особенно в случае необходимости быстрой диагностики (!)*, выявление антител класса IgA, низкоавидных IgG (при первичном выявлении) и IgG в спинномозговой жидкости (при поражении ЦНС); 4) исключить сочетанное инфицирование (*прежде всего активное течение ЦМВ-инфекции и герпетической инфекции*); 4) у беременных определить наличие факторов риска инфицирования плода.

В. Методы параллельного выявления антигенов и специфических антител

В последние годы появился новый тип тест-систем для одновременного выявления антигенов и специфических антител в иммуноферментном анализе (ИФА). Такие тест-системы широко используются для диагностики ВИЧ-инфекции, прежде всего для скрининга донорской крови и обследования контактных из очага ВИЧ-инфекции. В настоящее время появилась возможность использования данного типа тест-систем при диагностике вирусного гепатита С. Несмотря на более высокую стоимость тест-системы, ее использование по аналогии с ВИЧ-инфекцией открывает новую страницу по проблеме гепатита С. Данный тест, который доступен любой лаборатории, имеющей ИФА-оборудование и подготовленных специалистов, должен быть использован для:

- ✓ скрининга донорской крови;
- ✓ обследования детей, родившихся от матерей с вирусным гепатитом С;
- ✓ обследования ВИЧ-инфицированных,
- ✓ реципиентов крови и ее препаратов;
- ✓ для подтверждения лабораторного диагноза «вирусный гепатит С»;
- ✓ как этап исследования серопозитивных в ИФА сывороток перед постановкой иммуноблота;
- ✓ для мониторинга течения хронического гепатита С;
- ✓ для оценки эффективности лечения.

Учитывая, что многие лаборатории не имеют ПЦР-лаборатории, внедрение данного теста расширяет их возможности в плане достижения максимальной достоверности результатов исследования и позволяет, с одной стороны, значительно снизить количество ложноположительных результатов, а с другой стороны, снизить количество ложноотрицательных результатов в связи с использованием тест-системы более высокой чувствительности. Вместе с тем, ПЦР при гепатите С однозначно имеет свои преимущества в силу более высокой чувствительности и специфичности по сравнению с ИФА, а также возможности определения генотипа и вирусной нагрузки.

Методическое обеспечение диагностического процесса при подозрении на инфекцию представлено в приложении 1.

2. ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ (ВУИ)

При подозрении у ребенка ВУИ чаще всего проводят исследования на наличие маркеров следующих инфекций: токсоплазмоза, ЦМВИ, герпетической инфекции, хламидиоза, а в последнее время и ВЭБ-инфекции. Обследование матери во время беременности в большинстве случаев позволяет исключить те инфекции, на которые получены отрицательные результаты, и вести прицельное обследование ребенка. *Однако надо помнить о возможности заражения женщины в поздние сроки беременности, что в условиях хронической фетоплацентарной недостаточности и вторичного иммунодефицита (в том числе ВИЧ-инфекции) приводит к заражению*

плода или новорожденного.

Если мать не была ранее обследована, то для оперативной и более достоверной диагностики ВУИ рекомендуется проводить параллельное исследование крови матери и ребенка. При этом возможны разные ситуации, вызывающие у врачей затруднения по интерпретации результатов.

Наиболее часто встречающиеся из них представлены в приложении 2.

Именно в диагностике неонатальной патологии наибольшее диагностическое значение имеют дополнительные тесты (детекция низкоавидных антител, IgA, антигенов или ДНК возбудителя). Выявление только IgG является малоинформативным ввиду циркуляции материнских антител, полученных ребенком трансплацентарно («иммунный вклад беременной женщины»). Для исключения заболевания детей, (прежде всего родившихся от инфицированных матерей) рекомендуется обследование ребенка в динамике в 1 мес, в 3 мес и 6 мес возрасте, а также при появлении признаков патологии. *Рекомендуется определение IgA, серологического профиля в иммуноблоте, ДНК или антигенов возбудителя соответственно методами РИФ или ПЦР, оценка клинических данных, сопоставление результатов общеклинического и функционального обследования.*

Следует помнить, что при обследовании новорожденных на наличие внутриутробных инфекций может быть получен ложноотрицательный результат серологического исследования в результате влияния высокой концентрации материнских антител класса IgG (маскируют наличие IgM у ребенка) или иммунологической толерантности, поэтому при подозрении на ВУИ предпочтительнее использовать прямые методы диагностики, направленные на обнаружение антигенов возбудителя (РИФ) и его нуклеиновой кислоты (ПЦР) в крови или спинномозговой жидкости (при условии проведения спинальной пункции по медицинским показаниям). Под иммунологической толерантностью понимают неспособность организма к иммунному ответу на определенный антиген. Сроки ее формирования варьируют от нескольких часов до нескольких суток; длительность зависит от персистенции антигена в организме и скорости образования иммунокомпетентных клеток из их предшественников; индукции толерантности способствует неспецифическая иммунодепрессия (в том числе под влиянием лекарственных препаратов). *Толерантность может возникнуть при антигенной перегрузке; она не носит постоянного характера, ее продолжительность может увеличиваться периодическим попаданием антигена.* Выход из состояния толерантности может быть спонтанным или индуцированным.

Обнаружение специфических антител класса IgM и/или IgA у детей раннего возраста однозначно указывает на инфицированность ребенка (через плаценту IgM и IgA не передаются и являются собственными антителами, нарабатываемыми в присутствии антигенов возбудителя). Полученные нами данные свидетельствуют о сложности диагностики врожденной формы оппортунистических инфекций и редком обнаружении IgM у новорожденных и детей раннего возраста. При преобладании

неврологической симптоматики уровень специфических антител IgG в сыворотке крови может не определяться или быть невысоким. В данном случае наибольшее диагностическое значение имеет исследование спинномозговой жидкости на наличие специфических антител или антигенов возбудителя.

Причинами ложноотрицательного серологического исследования могут быть: 1) иммунологическая толерантность (чаще); 2) влияние высокой концентрации материнских антител класса IgG (маскируют наличие IgM и собственных IgG у ребенка), причем у серонегативных детей с врожденной инфекцией IgM, IgA и IgG могут появиться в более позднем возрасте (на 6-8 мес жизни); 3) усиленная антигенная стимуляция иммунной системы, что имеет место при сочетанном инфицировании, особенно в случае активной вирусной инфекции (цитомегаловирусной или герпетической).

Наиболее тяжелые последствия для плода и новорожденного возникают при сочетанном инфицировании токсоплазмами и ЦМВ или вирусом простого герпеса, причем такие сочетания нередки (возможно обнаружение у мертворожденного обоих внутриклеточных организмов в альвеолярных и интраальвеолярных макрофагах: включения токсоплазм обнаруживались в цитоплазме, а ЦМВ – в ядрах).

Значительную помощь в диагностике оппортунистических инфекций у новорожденных оказывает определение специфических антител класса **IgA** (токсоплазмоз, неонатальный герпес, хламидиоз), детекция **низкоavidных IgG**-антител (токсоплазмоз, ЦМВИ, герпетическая инфекция) или определение **IgM** и/или **IgG**-антител к ранним белкам возбудителя методом иммуноблота (сифилис, герпес, ЦМВ-инфекция, ВЭБ-инфекция).

3. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОРАЖЕНИЯ ЦНС ПРИ ТОКСОПЛАЗМОЗЕ, ЦМВ-ИНФЕКЦИИ, НЕОНАТАЛЬНОМ ГЕРПЕСЕ, ВЭБ-ИНФЕКЦИИ

Поражение мозга в виде менингита, менигоэнцефалита или энцефалита, вызванное возбудителями представленных оппортунистических инфекций, происходит у лиц с иммунодефицитами. Высокий риск заболевания отмечен у ВИЧ-инфицированных пациентов.

У новорожденных детей и детей раннего возраста наряду с выраженной патологией со стороны мозга может наблюдаться микро- или гидроцефалия, при нейросонографии могут выявляться признаки гидроцефального синдрома.

Для верификации диагноза и адекватной терапии исследование спинномозговой жидкости с целью этиологической расшифровки имеет принципиальное значение. При поражении мозга рекомендуется использовать специальные тест-системы (производства фирмы «EUROIMMUN», Германия), предназначенные для выявления методом ИФА специфических антител **в спинномозговой жидкости (с параллельным исследованием сыворотки крови)** при подозрении на токсоплазмоз, ЦМВ-инфекцию, ВПГ-инфекцию и ВЭБ-инфекцию.

Они содержат дополнительные калибраторы для спинномозговой жидкости и позволяют дифференцировать антитела, продуцируемые интраутробно, от антител,

проникших из крови в спинномозговую жидкость через гематоэнцефалический барьер в результате повышения его проницаемости. Обязательно параллельное исследование сыворотки крови. Определяется соотношение IgG в ликворе и сыворотке крови и концентрация в обеих биологических жидкостях альбумина. Известно, что в случае поражения ЦНС токсоплазмами или вирусами в ликворе накапливаются специфические антитела в большом количестве. При локальном поражении мозга их уровень в ликворе значительно превышает содержание антител в сыворотке крови. Рассчитав индекс *LSQ* относит., можно подтвердить (или исключить) поражение мозга токсоплазмами или вирусами. ***Индекс более 1,5 указывает на интратекальную продукцию антител к данному возбудителю. При прогрессирующем поражении мозга этот коэффициент будет возрастать, что имеет важное диагностическое и прогностическое значение.***

Ввиду продукции антител в ЦНС при различных патологических состояниях (при множественной миеломе или при рассеянном склерозе) для уточнения интратекальной продукции специфических IgG пользуются диаграммой Рейбера (1991 г.) с определением *индекса CSQ*, при расчете которого учитывается концентрация альбумина, который нарабатываются только в печени, но не интратекально.

Поскольку в случае микст-инфекции при повреждении гемато-энцефалического барьера в спинномозговой жидкости могут оказаться антитела разных патогенов, то использование данных тестов позволит определить ведущего агента, ответственного за прогрессирующее поражение мозга.

4. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ТОКСОПЛАЗМОЗА

До настоящего времени проблема токсоплазмоза не решена, несмотря на внедрение новых лабораторных технологий (ИФА, ПЦР). Выделяют врожденную и приобретенную форму. Наибольшую сложность представляет собой диагностика врожденного токсоплазмоза, который опасен не только своими ранними, но и поздними проявлениями. В последние годы участились случаи хронического токсоплазмоза с поражением глаз и ЦНС (особенно у детей), что требует нового подхода к лабораторной диагностике. С учетом того факта, что токсоплазмоз может формировать тяжелую патологию плода и новорожденного, принципиально важно для тактики ведения беременной женщины и принятия адекватных лечебных мероприятий установление сроков инфицирования. В период беременности следует подтвердить или исключить обострение хронического токсоплазмоза, что особенно важно в случае выраженного иммунодефицита и формирования хронической фетоплацентарной недостаточности, поскольку при такой ситуации возможна паразитемия с поражением плода.

Диагноз токсоплазмоза ставится на основании эпидемиологических, клинических данных, результатов лабораторных и функциональных исследований. Решающее значение в постановке клинического диагноза имеют лабораторные данные. Широкое распространение возбудителя и его роль в патологии обуславливают необходимость проведения дифференциальной диагностики между иннаппарантным токсоплазмозом и носительством.

При обследовании беременных на токсоплазмоз основными являются скрининговые исследования. Диагностические исследования проводятся на втором этапе (в случае установления серопозитивности), однако при выраженности клинических проявлений с целью оперативной диагностики последним следует отдать приоритет.

Скрининговые исследования – направлены на выявление групп риска и заключаются в обследовании на токсоплазмоз определенных контингентов с целью определения антител классов IgM и IgG методом ИФА (реже – НРИФ). Выявление антител обоих классов однозначно свидетельствует в пользу острой инфекции. Для исключения ложноположительного результата по IgM за счет перекрестной реакции (чаще бывает у беременных женщин) целесообразно подтвердить специфичность, используя иммуноблот (**recom-Line IgM**), а также использовать дополнительные тесты (**детекция IgA и низкоavidных IgG**), особенно в случае решения вопроса о прерывании беременности по медицинским показаниям.

При отсутствии IgM положительный результат однократного обследования по IgG-ответу свидетельствует только о том, что обследуемый пациент был инфицирован токсоплазмами. В такой ситуации рекомендуется дообследование пациента с целью выявления IgA и низкоavidных IgG. Опыт работы указывает на необходимость пересмотра стратегии обследования пациентов (ВИЧ-инфицированных лиц и пациентов с другими иммунодефицитными состояниями, в том числе: больных туберкулезом, беременных женщин, детей раннего возраста, детей с врожденным токсоплазмозом, имеющих статус «ребенок-инвалид»). Рекомендуется использование теста для выявления токсо- IgA. Положительный результат на наличие IgA будет свидетельствовать об активности инфекционного процесса.

Отрицательный результат исследования сыворотки крови на наличие IgM и IgG-антител к токсоплазмам свидетельствует лишь об отсутствии инфекции у пациента, но возможны серонегативные случаи у новорожденных и детей раннего возраста, а также у лиц с выраженным иммунодефицитом, в том числе у ВИЧ-инфицированных лиц, у которых в 14,2% случаев выявлено присутствие *токсо-IgA* на фоне отсутствия или ограниченного синтеза специфических IgG и отсутствия IgM.

Поскольку в настоящее время в России токсоплазмоз с развитием энцефалита выходит на 3 место среди причин смерти больных СПИДом, то следует отметить высокое диагностическое и прогностическое значение выявления *IgA* при проведении клинико-иммунологического мониторинга. В связи с высоким риском развития энцефалита в результате реактивации токсоплазмоза на фоне прогрессирующего иммунодефицита чрезвычайно важно при мониторинге ВИЧ-инфекции выделять серопозитивных по токсоплазмозу пациентов в группу высокого риска с проведением расширенных серологических исследований, в том числе с определением методом ИФА специфических *IgA* и антител к отдельным белкам токсоплазм в иммуноблоте. Последний тест может представлять трудность в интерпретации результатов ввиду накопления материала.

У иммунокомпрометированных пациентов повышение уровня IgG-антител и синтез специфических IgM практически не наблюдается. У них порой единственным доказательством токсоплазмоза может стать определение эндоzoитов, ДНК или антигенных компонентов в ткани мозга или спинномозговой жидкости при использовании РИФ или ПЦР соответственно. При поражении мозга целесообразно параллельно исследовать ликвор и кровь с расчетом индекса LSQ .

РИФ позволяет обнаружить антигены токсоплазм в исследуемом материале: крови, спинномозговой жидкости, биоптате, патологоанатомическом материале по наличию специфического свечения, выявляемого с помощью люминесцентного микроскопа. Чаще обнаруживаются эндоzoиты, имеющие форму полумесяца с закругленным задним концом и размер 2-4 мкм x 4 мкм, что указывает на острую стадию токсоплазменного процесса. В головном мозге, сетчатке глаза, в мышечных органах можно обнаружить цисты, имеющие шарообразную или удлинненную форму, плотную оболочку и наполненные цистозоидами; при отсутствии воспалительной реакции это характерно для хронической стадии заболевания. Обнаружение антигемии может наблюдаться в острой фазе токсоплазмоза, причем даже с первых дней инфекции; что подтверждает ценность этих исследований для ранней диагностики.

Новые лабораторные тесты для исследования на токсоплазмоз

На отечественном рынке в последние годы появились новые тест-системы, которые значительно расширили диагностические возможности. В настоящее время уже накоплен значительный опыт по их применению.

1. Тест-системы для определения антител класса IgA к токсоплазмам. Положительный результат теста свидетельствует о наличии активного процесса токсоплазмозе, позволяет установить подострое течение и рецидив заболевания. Он может эффективно использоваться **для ранней диагностики как врожденного, так и приобретенного токсоплазмоза**. Кроме того, показано его **важное значение при мониторинге течения** инфекционного процесса. Отрицательный результат исследования на наличие специфических IgA в динамике указывает на завершение активного процесса и эффективную терапию. *Вместе с тем, опыт работы показал, что в случае его длительного выявления, что имеет место у лиц с выраженным иммунодефицитом и, как правило, при микст-инфекции (активно протекающей ЦМВ-инфекции), следует пролонгировать иммунореабилитацию пациентов с применением препаратов растительного происхождения для ограничения перехода заболевания в хроническую форму и снижения частоты рецидивов.* Наиболее часто такая ситуация возникает при глазной форме токсоплазмоза.

2. Тест-системы для определения низкоавидных IgG-антител в сыворотке крови с расчетом **индекса авидности (ИА)** – тест позволяет установить **первичную** инфекцию (предположить срок инфицирования), что чрезвычайно важно для беременных женщин в плане выработки тактики их ведения. Постановка данного теста вполне оправдана в тех случаях, когда не выявляются специфические IgM. При ИА менее 40% можно предполагать заражение в течение последних 6 месяцев и

сопоставлять этот показатель со сроком беременности. *При инфицировании в течение последних 3-х месяцев, предшествующих тестированию, ИА определяется менее 40%. ИА от 40% до 60% относится к числу пограничных и может свидетельствовать о завершении острого или подострого процесса. У пациентов с хроническим течением и у инфицированных в давние сроки ИА более высокий.*

При мониторинге токсоплазмоза его повторное определение нецелесообразно, поскольку он остается достаточно высоким и не дает врачу дополнительной информации. Использование данного теста для оценки эффективности лечения так же вряд ли оправданно, поскольку в результате проводимой противопаразитарной терапии (особенно при хроническом токсоплазмозе) в результате выброса антигена и стимуляции иммунной системы происходит образование низкоавидных антител, за счет чего наблюдается снижение ИА и повышение содержания специфических антител. Нередко врачи неправильно интерпретируют данный результат и проводят повторные курсы с назначением противопаразитарных препаратов.

*Использование комбинации тестов для определения авидности **IgG** и **IgA** позволяет у детей и взрослых в кратчайшее время (в течение 2-3 дней) завершить обследование и установить у лиц, серопозитивных по **IgG**, первичную инфекцию, подострое течение или обострение хронической инфекции.*

3. Тест-системы для выявления **IgG в спинномозговой жидкости** – позволяют наряду с выявлением антител в спинномозговой жидкости (что уже является подтверждением диагноза), получить дополнительную информации о специфическом прогрессирующем поражении мозга. С этой целью в лаборатории производится расчет индекса LSQ и CSQ (*по соотношению антител в ликворе и сыворотке крови с учетом содержания альбумина*). При поражении ЦНС, особенно при менингоэнцефалите и энцефалите у иммунодефицитных лиц, прежде всего ВИЧ-инфицированных, а также у новорожденных при подозрении на врожденный токсоплазмоз, тест имеет важное диагностическое и прогностическое значение.

Диагностика приобретенного токсоплазмоза

Диагноз свежеприобретенного токсоплазмоза, как правило, ставится по наличию сероконверсии (появление антител у пациента с ранее отрицательными серологическими реакциями). В первые две недели после заражения появляются и быстро нарастают IgM, количество их достигает максимума через 4-8 недель и затем в течение нескольких месяцев они исчезают. Антитела класса IgG появляются медленнее, достигают максимума через 1-2 мес и могут оставаться (у отдельных лиц на высоком уровне) месяцами и даже годами. Высокое диагностическое значение имеет обнаружение IgA к токсоплазмам.

Широкое используемое в здравоохранении однократное выявление IgG имеет низкое диагностическое значение для определения формы инфекции. При наблюдении в динамике за серологическим профилем пациента рекомендуют повторять исследование через 3-4 недели: при активно протекающей инфекции чаще наблюдается нарастание титра специфических антител. *Вместе с тем, при таком методологическом подходе к*

диагностическому процессу затягивается срок установления диагноза и определения фазы инфекционного процесса, а фактор оперативности теряет свою актуальность. Более того, у лиц с выраженным иммунодефицитом за этот период возможна смена этиологического фактора, что приведет к неадекватной терапии и может сказаться на прогнозе и исходе заболевания.

В период генерализации процесса уровень IgG у большинства иммунокомпетентных лиц резко нарастает. Однако при иммунодефицитах и поражении ЦНС (особенно при наличии симптомов энцефалита или менингоэнцефалита) уровень IgG низкий или средний, и подъема IgG-антител не отмечается, поскольку у большинства больных происходит реактивация латентной инфекции. При хориоретинитах обычно выявляется невысокий уровень IgG без повышения в динамике, что можно объяснить поздним обследованием больного. При тестировании сыворотки крови пациента на высоте антителообразования нарастания антител также не произойдет. В связи с этим весьма показательным определением IgA и низкоавидных IgG.

Определение IgG методом ИФА используют для оценки эффективности лечения (через 1-1,5 мес после окончания терапии). При остром токсоплазмозе обычно уровень антител снижается довольно быстро (в ближайшие месяцы после отмены препаратов); в большинстве случаев хронического токсоплазмоза отмечается подъем уровня специфических антител, что следует расценивать как положительный фактор иммуномодуляции. Этот показатель не следует рассматривать как основной критерий для назначения повторных курсов этиотропной терапии.

Диагностика врожденного токсоплазмоза

Данные пренатального скрининга позволяют проводить целенаправленное обследование ребенка. Если мать не обследована, то для оперативной и более достоверной диагностики внутриутробной инфекции следует проводить параллельное исследование крови матери и ребенка.

Именно в диагностике неонатальной патологии наибольшее диагностическое значение имеют тесты, направленные на детекцию антигенов или ДНК возбудителя в крови или ликворе, низкоавидных IgG-антител и антител класса IgA. В связи с передачей антител через плаценту от матери к ребенку у последнего при рождении обнаруживаются антитела IgG, что затрудняет диагностику врожденного токсоплазмоза. К 4 мес после рождения их концентрация резко снижается ввиду распада материнских антител. В случае заражения вскоре после рождения концентрация IgG-антител, вырабатываемых организмом ребенка, нарастает, однако в первом полугодии жизни «маскируется» уровнем материнских антител. Повышение уровня IgG во втором полугодии жизни можно рассматривать как показатель инфицирования ребенка, но в ряде случаев (у недоношенных и иммунодефицитных детей) даже при появлении симптомов (чаще всего со стороны ЦНС) резкого подъема антител не наблюдается.

Наиболее точным критерием врожденной инфекции является обнаружение IgM в сыворотке крови; их концентрация может быстро нарастать, поскольку инфицированный плод способен продуцировать собственные антитела, но этот факт встречается редко, и **отсутствие токсо-IgM** у новорожденных и детей раннего возраста на фоне IgG, а также у рожденных от инфицированных матерей еще *не дает основание исключить внутриутробное заражение и требует дополнительных исследований.*

Установить факт инфицирования ребенка помогает выявление **токсо-IgA**. Значительную помощь оказывает ПЦР или РИФ, позволяющие оперативно определить ДНК или антигены токсоплазм в сыворотке крови и/или ликворе (при наличии поражений мозга). Однако, следует помнить, что отрицательные результаты исследования крови или ликвора на токсоплазмоз при наличии в сыворотке крови IgG не являются основанием для снятия подозрения на наличие врожденной инфекции, а требует проведения дополнительных тестов (IgA, исследование ликвора на наличие IgG).

Рецидивы перинатальной инфекции (хориоретинит, поражение ЦНС с формированием гидроцефалии) могут иметь место в любом возрасте и сопровождаться появлением IgG-антител к токсоплазмам (сероконверсией). Показательна детекция антител класса IgA и выявление низкоavidных IgG-антител и IgG в спинномозговой жидкости.

5. МИКСТ-ИНФЕКЦИЯ: токсоплазмоз и цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ-инфекция)

У лиц с иммунодефицитом нередко токсоплазмоз протекает в виде микст-инфекции. Наиболее часто у детей (в том числе и у новорожденных) и взрослых имеет место активное течение ЦМВ-инфекция, которое усугубляет иммунодефицит в результате иммуносупрессивного воздействия цитомегаловируса (ЦМВ) на клетки иммунной системы. В случае заражения токсоплазмами на фоне первичной или рецидивирующей ЦМВИ, как правило, токсоплазмоз переходит в хроническую форму. В данном случае ЦМВИ является важным патогенетическим фактором формирования патологии с вовлечением в процесс различных органов и систем. У новорожденных детей на таком фоне происходит генерализация той или иной инфекции, нередко наблюдается прогрессирующее течение заболевания с развитием микро- или гидроцефалии, что может привести к неблагоприятному исходу.

В связи с этим, в случае выявления токсоплазмоза следует исключить ЦМВ-инфекцию (с определением ее активности при положительном результате обследования пациента) и, наоборот, при выявлении ЦМВ-инфекции целесообразно тестировать сыворотку крови на наличие антител к токсоплазмам класса IgM и IgG (отборочный тест) с подключением в случае серопозитивности на последующем этапе обследования дополнительных тестов.

6. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В связи с широким распространением ЦМВ-инфекции встает проблема выбора адекватных методов диагностики с учетом принципов клинической эффективности и экономической целесообразности. В этом плане определение антител класса IgG имеет существенные ограничения и, как показал многолетний опыт работы в этом направлении, при диагностике врожденной и приобретенной форм ЦМВИ следует отдавать предпочтение «прямым» методам диагностики, выявлению ЦМВ-IgM, ЦМВ-IgA и определению *avidности IgG*.

Весьма перспективно применение в клинической медицине иммуноблота (Westernblot), позволяющего выявить антитела к отдельным белкам ЦМВ.

Современные методы лабораторной диагностики ЦМВ-инфекции

1. Прямые методы: позволяют детектировать вирусную ДНК (ПЦР) или антигены («ранние белки») (РИФ) непосредственно в исследуемом материале. Высокая чувствительность и специфичность показана при использовании наборов, позволяющие выявить дополнительно белок p72, что расширяет возможность теста. В качестве проб можно использовать кровь, забранную с антикоагулянтом, а также мочу, слюну, слезную жидкость, спинномозговую жидкость, лизаты клеток, биоптаты. Для повышения чувствительности метода и получения доказательства активности ЦМВ рекомендуется использовать «быстрый культуральный метод» с предварительным внесением биоматериала на культуру фибробластов и оценкой результатов в РИФ, однако этот метод требует особых условий с выдачей санитарно-эпидемиологического заключения и специальной подготовки специалистов. *Выявление ДНК или ранних белков ЦМВ в лейкоцитах крови следует рассматривать как тест высокой диагностической ценности.* Если при обследовании ребенка, родившегося от ЦМВ-инфицированной матери, в течение первой недели жизни методом РИФ не выделены антигены вируса, но обнаружены в срок от 2-й недели до 6 мес. после родов, то можно сделать заключение о перинатальной ЦМВ-инфекции.

2. ИФА: используется для определения антител классов *IgM, IgG и avidности IgG к ЦМВ*. Специфические антитела отвечают за лизис внутриклеточного вируса, а также ингибируют его внутриклеточную репликацию или распространение от клетки к клетке. Сыворотки пациентов после первичной инфекции содержат антитела, реагирующие с внутренними протеинами ЦМВ (*p28, p65, p72*). К высокоспецифичным белкам относится *p130*. В сыворотке выздоровевших содержатся в основном антитела, реагирующие с гликопротеинами оболочки.

Наибольшее диагностическое значение имеет детекция IgM, как показателя активности процесса, что может свидетельствовать об остром заболевании, реинфекции, суперинфекции или реактивации. Выявление IgG у ранее серонегативных лиц также позволяет определить первичную ЦМВ-инфекцию, проводить наблюдение в динамике за лицами с клиническими проявлениями инфекции и оказывает существенную помощь при ретроспективной диагностике. *Следует помнить, что у многих пациентов с*

выраженным иммунодефицитом и тяжелой ЦМВ-инфекции, а также у беременных и детей раннего возраста выработка антител к ЦМВ замедлена. Это проявляется обнаружением специфических антител в низкой концентрации или отсутствием положительной динамики антител. В данном случае решающее значение имеет **детекция IgA, «ранних» IgG-антител (низкоавидных антител) и/или «ранних» антигенов или ДНК ЦМВ**. Показатель авидности менее 40% указывает на наличие первичной ЦМВ-инфекции.

После лечения этиотропными и иммуномодулирующими препаратами при контрольных анализах, как правило, отмечается значительный подъем уровня антител IgG, при этом ИА может снижаться (!), что следует оценивать как положительный фактор и не спешить с назначением повторного курса. *Настораживает появление в последнее время случаев с отрицательными результатами контрольных исследований на ЦМВ-инфекции на фоне персистенции ЦМВ*. Это может свидетельствовать о негативной активации В-лимфоцитов после применения химических иммуномодуляторов.

3. Иммуоблот (Westernblot): уникальный тест, который позволяет отдельно детектировать IgM и IgG к отдельным белкам ЦМВ, следить в динамике за сменой белков, что имеет высокое диагностическое и прогностическое значение. Антигены ЦМВ подразделяют на три категории:

- 1) перекрестно-реагирующий антиген с молекулярной массой 65 кДа и неопределенные антигены;
- 2) низко специфичный антиген с молекулярными массами 55 кДа, 52 кДа и 38 кДа;
- 3) высоко специфичные антигены с молекулярными массами 130 кДа и 28 кДа.

Специфичность антигенов на стрипе:

Полоса на стрипе	Антиген	Описание	Категория
130 кДа	pp 130	Фосфопротеиновый антиген: UL57	3
65 кДа	pp 65	Тегументный фосфопротеиновый антиген (протеин оболочки): UL83	1
55 кДа	p55	Гликопротеин В антиген gB: UL55	2
52 кДа	pp52	Фосфопротеиновый антиген: UL44	2
38 кДа	p38		2
28 кДа	p28	Капсидный протеиновый антиген: UL99	3

Наличие высокоспецифичных антигенов подтверждает формирование иммунного ответа к ЦМВ, а наличие хотя бы одной полосы категории 3 (*pp 130 и p28*) свидетельствует о положительном результате. Присутствие *pp65 (предранний белок)* расценивается как маркер первичной (острой) инфекции или реактивации. Не исключена его наработка при суперинфекции. По мере развития инфекционного процесса появляется p28.

Опыт работы свидетельствует о возможности использования иммуноблота как при диагностике врожденной ЦМВ-инфекции, так и приобретенной формы, в том числе у лиц с выраженным иммунодефицитом (при ограничении синтеза антител или при их поликлональной наработке).

Использование данного теста при обследовании детей, родившихся с признаками внутриутробной инфекции или от матерей, у которых в период беременности были клинические и/или лабораторные признаки активной инфекции, позволяет установить (исключить) внутриутробную (перинатальную) инфекцию. Если в период новорожденности РИФ (ПЦР) дают отрицательные результаты при исследовании крови, а выявление IgG (материнские антитела) не позволяет выставить ЦМВ-инфекцию, то рекомендуется провести повторное обследование через 1,5-2 месяца. ***В случае инфицирования появляются антитела класса IgM к «ранним» белкам (p65, p28) и/или IgG к ним, что нередко коррелирует с позитивными результатами РИФ и/или ПЦР и нарастанием клинических симптомов (прежде всего со стороны ЦНС).*** В таких случаях рекомендуется консультация неонатолога и обследование детей, имевших врожденную ЦМВ-инфекцию или признаки неясной врожденной инфекции, в возрасте 3-4 мес жизни перед вакцинацией АКДС, поскольку на фоне утраты материнских антител и слабой наработки собственных антител в этот период возможна персистенция ЦМВ, а введение вакцины может усугубить ситуацию и спровоцировать развитие патологического процесса с развитием гидроцефального синдрома.

Пока не накоплен достаточный отечественный опыт по применению иммуноблота на ЦМВ-инфекцию у ВИЧ-инфицированных, однако можно предположить, что исчезновение одних и появление других – «ранних» белков может оказать существенную помощь при мониторинге ВИЧ-инфекции в плане прогноза развития генерализованной ЦМВ-инфекции. Данный тест также целесообразно проводить в динамике.

7. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

В настоящее время проблема герпетической инфекции приобрела особую медико-социальную актуальность. На фоне роста иммунодефицитов в популяции отмечается рост атипичных и тяжелых форм, устойчивых к противовирусной терапии, генитального и неонатального герпеса, возросла роль вируса простого герпеса 2 типа в формировании патологии плода, отмечается более частое поражение мозга и глаз герпетической природы. Вместе с тем, следует признать, что лабораторная диагностика в настоящее время пока не может обеспечить клиницистов полноценной информацией в диагностическом и прогностическом плане, несмотря на появление на рынке новых тест-систем. Прежде всего следует отметить, что в отличие от токсоплазмоза, ЦМВ-инфекции и ВЭБ-инфекции, диагноз которых выставляется при лабораторном подтверждении, при типично протекающей герпетической инфекции лабораторное подтверждение не обязательно. Именно для этиологической расшифровки неясных и атипичных случаев, а также неонатального герпеса, следует применять соответствующие тесты.

Как и при ЦМВИ, на фоне высокой инфицированности населения вирусами простого герпеса (до 100% взрослого населения) выявление антител класса IgG имеет низкое диагностическое значение. В связи с этим следует применять следующие методы лабораторной диагностики.

Современные методы лабораторной диагностики герпетической инфекции

1. Прямые методы: позволяют детектировать вирусную ДНК (методом ПЦР) или антигены («ранние белки») (методом РИФ) непосредственно в исследуемом материале: в лейкоцитарной взвеси, плазме, соскобах из очагов поражения (со слизистых, с конъюнктивы, с кожи), спинномозговой жидкости. *Выявление ДНК или ранних белков ВПГ-1 и ВПГ-2 в лейкоцитах крови свидетельствует о репликации вируса.*

2. ИФА: используется для определения антител классов **IgM, IgG, IgA и авидности IgG к ВПГ**. Наибольшее диагностическое значение имеет детекция IgM как показателя активности процесса, что может свидетельствовать об остром заболевании, реинфекции, суперинфекции или реактивации. Однако в клинически выраженных случаях, в том числе при типичном течении неонатального герпеса, специфические IgM выявляются редко. У многих пациентов с выраженным иммунодефицитом и тяжелой герпетической инфекцией (генитальный герпес), а также у беременных и детей раннего возраста выработка антител к ВПГ замедлена. Это проявляется ограниченным синтезом специфических антител (они обнаруживаются в низкой концентрации) или отсутствием положительной динамики антител. В данном случае решающее значение в диагностическом плане имеет выявление **герпес-IgA и/или «ранних» антигенов ВПГ**. *Следует отметить, что индекс авидности менее 40% указывает на наличие первичной герпетической инфекции, однако такие случаи выявляются редко и преимущественно у детей.* В дальнейшем на фоне рецидивов чаще всего ИА остается на высоких цифрах, в связи с чем данный тест имеет более низкую диагностическую и прогностическую информацию, чем при ЦМВ-инфекции.

Имеющийся опыт работы с тест-системами, направленными на выявление **IgA к ВПГ- 1 и 2**, показал целесообразность его использования не только с целью диагностики, но и с целью прогнозирования течения заболевания, оценки эффективности противовирусной терапии и мониторинга. Особо важное значение тест имеет для диагностики врожденной формы герпетической инфекции, поскольку IgA относится к тем иммуноглобулинам, которые не проходят через плаценту, и его обнаружение свидетельствует о заражении. Появление IgA к ВПГ в сыворотке крови в большом количестве при наличии (или отсутствии) клинических проявлений косвенно указывает на активацию вируса и обосновывает даже при отсутствии клинических проявлений проведение иммунореабилитационных мероприятий (метод «упреждающей терапии») с использованием препаратов растительного и животного происхождения. В настоящее время идет накопление клинического материала, однако уже показано, что при герпетическом поражении глаз и ЦНС этот тест оказывает значительную помощь врачу.

3. Иммуноблот (Westernblot, Line-blot): позволяет дифференцировать в одном тесте белки, характерные для активации ВПГ 1 и 2 типов, отдельно детектировать IgM и IgG к отдельным белкам, следить в динамике за их сменой, что имеет высокое диагностическое и прогностическое значение. Источником антигенов является полный комплекс антигенов ВПГ-1 типа и гликопротеин G-2 ВПГ-2 типа, очищенный аффинной хроматографией. На нитроцеллюлозную мембрану стрипов методом прерывистого электрофореза перенесены отдельные вирусные белки предварительно культивируемого ВПГ-1, затем стрипы покрываются мембранным чипом, содержащим очищенный гликопротеин G-2 ВПГ-2.

Опыт работы свидетельствует о возможности его использования как при диагностике врожденного, так и приобретенного герпеса. Данный тест в сочетании с методами РИФ или ПЦР представляет весьма ценную для врача информацию, особенно при мониторинге врожденных и приобретенных форм, в том числе генитального герпеса, однако требует определенного опыта и знаний в интерпретации результатов. При выдаче заключения следует учитывать, с какой целью и на каком этапе обследуется пациент (с целью диагностики, на этапе наблюдения или проводится оценка эффективности лечения).

Специфичность антигенов на стрипе:

Полоса	Молекулярная масса	Антиген	Специфичность
gC-1	130 кДа	Гликопротеин С-1 (gC-1) ВПГ-1	Высокоспецифичен для вируса простого герпеса 1 типа
gB-1	120 кДа	Гликопротеин В -1 (gB -1) ВПГ-1	Специфичен для вирусов простого герпеса
gD-1	60 кДа	Гликопротеин D -1 (gD -1) ВПГ-1	Специфичен для вирусов простого герпеса
gG-2		Гликопротеин gG-2 (gG-2) ВПГ-2	Высокоспецифичен для вируса простого герпеса 2 типа

8. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА

Инфекционный мононуклеоз – острое вирусное заболевание, вызываемое вирусом Эпштейна-Барра (ВЭБ-инфекция), проявляющееся лихорадкой, генерализованной лимфаденопатией, тонзиллитом (ангиной), увеличением печени и селезенки, иногда только сыпью или только лихорадкой и характерными изменениями гемограммы в виде мононуклеарной реакции. При инфекционном мононуклеозе возможны высыпания на коже полиморфного характера и поражение ЦНС в виде менингита, менингоэнцефалита, энцефаломиелита; нередко появляется желтуха. Болеют чаще всего дети старше 2 лет и юношеского возраста.

Следует отметить следующие особенности инфекционного мононуклеоза на современном этапе:

1) возросло число атипичных и тяжелых форм;
2) заболевание стало часто регистрироваться у лиц молодого возраста (от 15 лет до 30 лет);

3) участились случаи лимфаденопатии и субфебрилитета, в том числе и у беременных женщин, связанные с активацией вируса Эпштейна-Барра при отсутствии (или позднем появлении) в гемограмме атипичных мононуклеаров;

4) часто стали отмечаться у детей и лиц молодого возраста осложнения после перенесенной типичной формы инфекционного мононуклеоза в виде персистирующей инфекции, паратонзиллярного абсцесса, фурункулеза.

Диагностика основывается на клинических, эпидемиологических и лабораторных данных. В связи с полиморфизмом клинических проявлений большое диагностическое значение имеет правильная оценка изменений в периферической крови. Для подтверждения диагноза используются различные серологические методы и ПЦР. **Наибольшее значение имеет обнаружение ДНК и/или антител класса IgM к вирусному капсиду и «ранних» IgG.** IgM появляются с началом болезни и сохраняются 1-2 месяца. Антитела к ядерным антигенам вируса IgG появляются лишь через 3-6 недель от начала болезни и сохраняются в течение всей жизни. Их определение имеет ретроспективное значение.

Методы лабораторной диагностики ВЭБ-инфекции

1. Выявление атипичных мононуклеаров при световой микроскопии – является основным методом, доступным любой клиничко-диагностической лаборатории. Они обычно появляются с первых дней заболевания и наиболее выражены в период разгара болезни. Иногда они появляются позднее. Диагностическое значение имеет обнаружение широкоплазменных атипичных мононуклеаров при увеличении общего числа лимфоцитов. В процессе лечения на фоне иммуномодуляции у пациентов, у которых отсутствовали атипичные мононуклеары или имелись единичные, возможно их появление (увеличение).

2. ИФА – используется на первом этапе диагностического процесса и для мониторинга, позволяет определить в сыворотке крови специфические антитела IgM и IgG («ранние» и «поздние»). Для диагностики и установления активности инфекционного процесса важно выявить IgM и/или «ранние» IgG. Наблюдение в динамике за специфическим иммунным ответом позволяет оценить эффективность проводимой терапии. Длительное или периодическое получение положительных результатов на наличие «ранних» IgG свидетельствуют о персистирующей форме и возможной периодической реактивации вируса. Дополнительную информацию дает метод иммуноблота.

3. Иммуноблот (Westernblot) – позволяет отдельно определять IgM и IgG к отдельным белкам (наборы фирмы «**EUROIMMUN**», Германия), поскольку на одном стрипе нанесен полный набор антигенов. Это позволяет надежно выявлять стадию

инфекции, что чрезвычайно важно не только для диагностики, но и для клинико-иммунологического мониторинга, особенно у переболевших типичной формой инфекционного мононуклеоза с учетом высокой частоты персистенции вируса. Выявление белка *VCA 125* указывает на раннюю фазу инфекции. В разгаре болезни и на этапе завершения острого процесса появляются *VCA 19*. О поздней фазе свидетельствует высокоспецифичный маркер *VCA 22*, **который выявляется самостоятельно или совместно с EBNA-1 (p79)**. Последний белок длительно присутствует у переболевших и свидетельствует о перенесенной инфекции.

4. ПЦР – позволяет выявить ДНК вируса в лейкоцитарной взвеси или из очага инфекции (соскоб с миндалин). В случае получения позитивного результата исследования, который свидетельствует о репликации вируса, целесообразно провести серологические исследования для установления факта первичной инфекции или рецидива заболевания. При выявлении IgM можно делать заключение об острой инфекции, в случае выявления «ранних» IgG – о реактивации, а «поздних» белков – о персистенции.

9. ПАРВОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ В19. СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Парвовирусная инфекция стала вызывать интерес исследователей и клиницистов прежде всего в связи с ростом в последние годы анемий неясного генеза. Эпидемиологические исследования, проведенные нами в 2000-2005 гг., показали не только её распространенность в Омском регионе, но и доказали важную роль данной инфекции в формировании патологии в отдельных группах населения.

Возбудителем инфекции является человеческий *парвовирус В19*, который был открыт в **1975 г. в Англии Cossart** и соавт. при исследовании донорской крови. Он представляет собой безоболочечный **ДНК-содержащий вирус** диаметром 18-26 нм. Капсид состоит из **двух полипептидных белков 84 кДа и 58 кДа (VP1 и VP2)**. Оба структурных белка кодируются в одной и той же рамке считывания генома вируса. Кроме того, в геноме кодируется **основной неструктурный белок NS-1**, который необходим для репликации вируса. Вирус очень термостабилен и может выдерживать нагревание при 60° С до 12 часов. Он входит в **семейство Parvoviridae**. **Одной из важных особенностей вируса является его способность селективно реплицироваться в делящихся клетках: клетках костного мозга, эмбриональных клетках и клетках кишечника**. Инфекция наблюдается во всех возрастных группах, но чаще в возрасте от 6 до 15 лет и проявляется в виде инфекционной эритемы («пятая болезнь»).

Основные пути передачи: воздушно-капельный, парентеральный (особенно при переливании эритромасты) и трансплацентарный. Инкубационный период – 1-3 недели. Фаза виремии длится от 3 до 7 дней и сопровождается головной болью, зудом, болью в мышцах и лихорадкой, но может протекать и бессимптомно (у 20% пациентов). Примерно через 2 недели после заражения может появиться инфекционная эритема (чаще – у детей) или краснухоподобная сыпь, что требует

дифференциального диагноза с краснухой. В дальнейшем появляются боли в суставах (у 60% пациентов), респираторные симптомы (в 22% случаев), диарея (15-35%). Артропатии, которые в 2 раза чаще встречаются у женщин, чем у мужчин, обычно исчезают через две-четыре недели, однако при персистирующей форме могут отмечаться в течение нескольких лет.

У лиц с достаточной иммунорезистентностью угнетение эритропоэза в результате репликации вируса (обычно 1-4 недели) протекает субклинически, однако, у лиц со сниженной иммунорезистентностью может привести к апластической анемии, а у больных с хронической гемолитической анемией – к апластическому кризу, что требует срочного переливания крови. Недавно были установлены дополнительные проявления заболевания, ассоциированного с парвовирусом В19, в виде дисфункции печени и миокардита.

Парвовирус может передаваться плоду через плаценту. В сроке заражения плода до 20 недель инфекция может привести к тяжелой острой или хронической анемии, самопроизвольному аборту. При заражении во втором триместре беременности развивается водянка плода. Около 80% беременностей протекают без осложнений, однако наиболее опасно для плода первичное заражение.

При появлении симптомов обычно выявляются **IgM** (приблизительно через 10 дней после заражения), однако через 30-60 дней они уже не выявляются. Через 2-3 недели с момента инфицирования происходит наработка **IgG**-антител к парвовирусу, которые остаются длительно (годами). По мере развития заболевания на фоне анемии может прогрессировать тромбоцитопения (особенно у новорожденных детей и у лиц с иммунодефицитными состояниями). Проведенные нами исследования показали высокий риск развития данной инфекции у гематологических и онкологических больных, но не у ВИЧ-инфицированных (для последней категории больных парвовирусная инфекция не актуальна и, несмотря на выраженный иммунодефицит, присутствия **IgG** и даже **IgM** к парвовирусу анемии у них не наблюдается).

Методы лабораторной диагностики.

1. ИФА – используется для перинатального скрининга и диагностики, позволяет определить в сыворотке крови специфические антитела **IgM** и **IgG**. С учетом кратковременности выявления **IgM** в сыворотке крови для оценки риска инфицирования плода и новорожденного дополнительную информацию дает метод иммуноблота (Вестерн-блот), а также детекция ДНК вируса методом ПЦР. Однако, учитывая кратковременность вирусемии, можно получить отрицательный результат исследования ПЦР, что не должно ограничивать врача в дальнейшем уточнении клинического диагноза (особенно при наличии клинических проявлений или констатации у беременных женщин многоводия, выявляемого при ультразвуковом исследовании). В таком случае альтернативным является вестерн-блот, который к тому же позволяет уточнить стадию заболевания.

2. Иммуноблот (Westernblot) – позволяет отдельно определять **IgM** и **IgG** к отдельным белкам (наборы фирмы «**EUROIMMUN**», Германия). На одном стрипе

(нитроцеллюлозной мембране) нанесены **4 рекомбинантных антигена, которые включают фрагменты двух структурных белков (VP1 и VP2) и двух фрагментов основного неструктурного белка NS-1**. Антитела к белку **NS-1** появляются при устойчивой форме инфекции. Пока идентифицированы к нему только IgG, которые обнаруживаются только через 6-8 недель после инфицирования. Использование вестерн-блота позволяет надежно выявлять стадию инфекции, в том числе диагностировать персистирующую форму, что чрезвычайно важно не только для диагностики, но и для клинико-иммунологического мониторинга.

3. ПЦР – направлена на детекцию ДНК вируса в крови. В случае получения позитивного результата исследования, который свидетельствует о репликации вируса, целесообразно провести серологические исследования для установления факта первичной инфекции или рецидива заболевания. При обнаружении IgM можно делать заключение об острой инфекции, а в случае выявления IgG или его отдельных белков – о наличии первичной инфекции, о завершении острого процесса (реактивации) или перенесенной инфекции (инфицировании).

Накопление информации по клинически выраженным случаям расширяет горизонты использования иммуноблота в диагностическом процессе и мониторинге, однако, уже в настоящее время нами показано, что тест следует рекомендовать к широкому использованию в практическом здравоохранении для диагностики и мониторинга.

10. СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ ЛАЙМА (БОРРЕЛИОЗА)

Болезнь Лайма относится к числу наиболее распространенных в России природно-очаговых инфекций с трансмиссивным путем передачи. Возбудитель – *Borrelia burgdorferi* – попадает в организм человека с укусом инфицированного клеща. Инкубационный период составляет 1-2 недели. В течении болезни Лайма выделяют стадии ранней (локальной и диссеминированной) и поздней инфекции. В месте проникновения возбудителя появляется мигрирующая эритема (порой это единственное проявление ранней стадии), которая держится обычно в течение месяца. У 10-15% пациентов при диссеминации развиваются признаки поражения нервной (менингит, менингополирадикулоневрит, периферический паралич лицевого нерва) и/или сердечно-сосудистой систем, опорно-двигательного аппарата (у 60% пациентов). Поздняя стадия формируется на протяжении первых двух лет от начала заболевания, клинически характеризуется общей слабостью, поражением суставов, нервной системы. Патогномичным поражением кожи является хронический атрофический акродерматит.

Клинические и лабораторные особенности, выявленные у больных с признаками персистенции боррелиозной инфекции (неблагополучный гинекологический анамнез у женщин, общетоксический синдром, наличие ревматоидного фактора) свидетельствуют о возможности аутоиммунных процессов, развивающихся в результате молекулярной мимикрии между эпитопами антигенов

боррелии и тканями хозяина и обуславливающих варианты болезни Лайма, резистентных к лечению антибиотиками.

Для подтверждения диагноза, дифференциальной диагностики, оценки эффективности терапии, разработки схем иммунореабилитации и мониторинга заболевания рекомендуется использовать *метод иммуноблота (Western-blot, LINE-WB)*, который позволяет отдельно определять IgM и IgG к отдельным белкам боррелии (наборы фирмы «*EUROIMMUN*», Германия). Исследуемым материалом служит сыворотка крови. **Для быстрой интерпретации имеет дифференциально-диагностическое значение выявление IgM: OspC и IgG:VlsE (Variable major protein-like sequence, Expressed).** Для референс-исследований наряду с этими белками имеет значение определение и других специфических антигенов.

Возможность получения достоверного результата в кратчайшее время (в течение 2 часов) при использовании индивидуального стрипа делает метод приоритетным на этапе диагностики тяжелых и неясных форм, при этом исключает необходимость использования менее чувствительного и менее специфичного скринингового теста (РПГА), который при наличии у пациента сопутствующего аутоиммунного заболевания дает ложно-положительный результат и диктует необходимость дальнейшего подтверждения. Это затягивает сроки установления окончательного диагноза с возможными вытекающими последствиями в результате неправильной терапии.

Вместе с тем, в настоящее время нами накоплен определенный опыт, указывающий на отсутствие специфических белков у 28% пациентов, которым был выставлен диагноз Болезнь Лайма на основании скрининговых методов (РПГА). Более того, использование лайн-блота (*LINE-WB*) для мониторинга пациентов, перенесших боррелиоз, целесообразно в плане выбора тактики лечения (назначение антибиотиков для лечения и предупреждения рецидивов), поскольку суставной синдром, который нередко отмечается у таких больных, может быть связан с уже развившимся аутоиммунным синдромом, запущенным инфекционным агентом (боррелиями или другими патогенами). Данный тест должен привлечь внимание специалистов (прежде всего невропатологов, инфекционистов и терапевтов).

11. ИММУНОБЛОТ – НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ ПОДТВЕРЖДАЮЩИХ ТЕСТОВ НА СИФИЛИС

Проблема диагностики и мониторинга сифилиса окончательно не решена. В настоящее время повсеместно идет интенсивное внедрение ИФА в практику для скрининга на сифилис. ИФА, имеющий более высокую чувствительность и специфичность, чем реакция Вассермана, значительно расширил диагностические возможности, позволяя отдельно определять специфические антитела классов IgM и IgG. Вместе с этим, клиницисты сталкиваются по-прежнему с проблемой ложно-положительной реакции. Не исключена ложная серопозитивность у беременных и у лиц, страдающих аутоиммунными заболеваниями. Кроме того, остается нерешенным вопрос диагностики врожденного сифилиса.

Важную роль в скрининге и мониторинге играет иммуноблот (Вестерн-блот). Имеющийся собственный опыт использования ***Western-blot*** (наборы фирмы «EUROIMMUN», Германия, поставляемые на российский рынок ЗАО «АНАЛИТИКА», г. Москва) показал высокий дифференциально-диагностический потенциал методики. Вестерн-блот представляет собой полный набор специфических антигенов: *Tp N15, TP N17, tnp17 и TP N47*, нанесенных на индивидуальный оценочный шаблон, позволяющий раздельно выявлять антитела классов ***IgM и IgG***.

Метод рекомендуется применять:

1) с целью подтверждения ***серопозитивных*** случаев ИФА* (***IgM*** или ***IgG***) или реакции Вассермана, ***особенно у лиц с аутоиммунными заболеваниями и беременных женщин***, у которых ложно-положительный результат ИФА возможен (за счет перекрестного реагирования антител), а также лиц, у которых анамнестические и клинические данные ставят под сомнение наличие сифилиса;

* – при положительных результатах ИФА (одновременное выявление антител ***IgM*** и ***IgG***) или реакции Вассермана у лиц с клиническими проявлениями и у контактных необходимость подтверждающего теста определяет врач;

2) для диагностики ***врожденного сифилиса*** (выявление ***IgM*** к отдельным или спектру специфичных белков ***Tp N15, TP N17, tnp17 и TP N47*** является основанием для постановки диагноза);

3) для мониторинга сифилиса на этапах лечения и оценки эффективности проводимой терапии;

4) при диспансерном наблюдении переболевших сифилисом (особенно в случаях серорезистентности и наличия аутоиммунного процесса);

5) для исключения (подтверждения) повторного заражения.

Оценивая клиническое значение иммуноблота, следует особое внимание уделить динамичному наблюдению за теми пациентами, при исследовании сыворотки крови которых получены сомнительные (неоднозначные) результаты. Только совместная работа клиницистов и специалистов в области лабораторной диагностики позволит накопить собственный опыт при интерпретации таких результатов и установить причины (выделить белки), которые могут дать перекрестное реагирование антител при проведении данного теста.

12. ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ДИАГНОСТИКЕ И МОНИТОРИНГЕ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Оценка состояния иммунной системы оказывает существенную помощь в диагностике и мониторинге данной группы инфекций. Она позволяет установить наличие иммунодефицита на уровне различных звеньев иммунной системы и применить адекватную иммуномодулирующую терапию. Чаще заболевание развивается в иммунокомпрометированном организме, и наиболее тяжелое поражение различных органов и систем наблюдается при нарушении клеточного звена иммунитета. *Часто при инфекциях наблюдается снижение Т-лимфоцитов,*

регистрируется активация гуморального звена иммунитета (повышение уровня общих IgM, IgA и IgG, а также циркулирующих иммунных комплексов – ЦИК) и имеет место снижение фагоцитарной активности. Вместе с тем, учитывая ограниченные возможности лечебной сети в плане проведения иммунофенотипирования лимфоцитов, для широкого использования можно рекомендовать тесты для оценки состояния гуморального звена.

Важное значение для мониторинга токсоплазмоза (особенно в случае микстинфицирования) имеет определение в сыворотке крови содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), которые состоят из антигена, антител и связанных с ними компонентов комплемента C3, C4, C1q. В норме ЦИКи, образуемые в кровотоке, фагоцитируются и разрушаются как фагоцитами, так и печенью. Однако при избытке антигена и наличии в их структуре IgM и C1q-компонента комплемента, что имеет место при остром токсоплазмозе, а также в случае сочетания хронического токсоплазмоза с активной протекающей цитомегаловирусной или герпетической инфекцией или кандидозом, комплексы могут откладываться в периваскулярном пространстве и корковом слое почек, вызывая активацию комплемента и усугубляя воспалительные процессы. Патологические реакции на иммунные комплексы могут быть обусловлены повышением скорости их образования над скоростью элиминации, дефицитов компонентов комплемента или функциональными дефектами фагоцитарной системы.

Вместе с тем, результаты лабораторных (иммунологических) исследований следует сопоставлять с выраженностью клинических проявлений и уровнем специфических антител. При этом следует помнить, что в случае активного процесса (острая или подострая форма, обострение хронической инфекции) и особенно при микстинфекции, низкий уровень ЦИК и общих иммуноглобулинов свидетельствует о неадекватном иммунном ответе в результате нарушения синтеза одного или нескольких классов иммуноглобулинов (иммунодефицит) или увеличенной деструкции иммуноглобулинов. При нарушении синтеза нарушаются реакции иммунного ответа клеточного типа, опосредованные Т-лимфоцитами. Усиленная выработка антител или уменьшение интенсивности их распада приводит к увеличению их содержания в крови (гипергаммаглобулинемия).

Оценка содержания C3 и C4 – компонентов комплемента наряду с определением общих и специфических иммуноглобулинов и ЦИКов позволяют оценить адекватность иммунного ответа и дают врачу ценную информацию о тактике ведения данного пациента.

Система комплемента имеет большое значение не только в процессах цитолиза, но и в усилении фагоцитоза, нейтрализации вирусов, а также в иммунной адгезии, за счет чего к некоторым клеткам, включая и В-лимфоциты, прикрепляются комплексы антиген-антитело. Дефекты в системе комплемента сопровождаются снижением противомикробной защиты организма. Контроль за содержанием общих иммуноглобулинов, ЦИК (предпочтительно определение ЦИК по Дижону и их

размерности), С3 и С4 – компонентов комплемента следует проводить как на этапе выявления заболевания, так и по ходу лечения и на этапе оценки эффективности терапии.

Целесообразно определять содержание общих IgM, IgA и IgG, а также компонентов комплемента методами нефелометрии (на анализаторе «TURBOX», Финляндия), турбидиметрии (на автоматических биохимических анализаторах) или методом ИФА с использованием коммерческих тест-систем (количественное определение концентрации). Определение содержания иммуноглобулинов по Манчини имеет меньшую диагностическую ценность ввиду более низкой ее специфичности, в связи с чем в настоящее время использование метода ограничено.

В последние годы внимание специалистов привлекает исследование **цитокиновой системы** в норме и при различных патологических состояниях с целью разработки диагностических и прогностических критериев. Наибольшее диагностическое значение имеет определение содержания TNF- α , интерлейкинов IL-1 β , IL-4, и IL-6, а также оценка интерфероновой системы. В настоящее время показано, что наиболее глубокие изменения иммунореактивности установлены у пациентов с рецидивирующей ЦМВИ и ВПГ-инфекцией и особенно при сочетании токсоплазмоза с ними, при этом лабораторные признаки иммунной дисфункции, проявляющиеся прежде всего повышенным содержанием в сыворотке крови IL-1 β и общего IgA, имеют место у большей части больных как в период обострения, так и в период ремиссии.

Установлены разнонаправленные изменения со стороны цитокиновой системы у лиц с хроническими формами изученных оппортунистических инфекций. Нами отмечено, что у ряда пациентов агрессивное течение заболевания сопровождается снижением содержания IL-1 β и TNF α . Однако у большинства больных при течении патологического процесса отмечается его значительное увеличение. Не установлено однотипных изменений и при оценке *системы интерферона*. При хроническом токсоплазмозе и при хронической вирусной инфекции (как при моно-, так и при микст-инфекции) на фоне выраженной активности возбудителя имеет место дисбаланс *системы интерферона*, при этом сывороточный IFN γ чаще определяется на уровне контрольных значений на фоне резкого снижения продукции IFN γ , что свидетельствует о выраженной депрессии системы интерферона. Оценка содержания вышеперечисленных цитокинов имеет важное значение в плане подбора препаратов для иммунотерапии и иммунореабилитации.

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА И МОНИТОРИНГА

ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ у взрослых и детей			
ОБЩЕИНФЕКЦИОННЫЙ СИНДРОМ (лимфаденопатия, субфебрилитет, гепатит, гепатоспленомегалия) + дополнительные признаки * (поражение слизистых оболочек, слюнных желез, легких, почек, мозга).			
ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ. TORCH-инфекции (скрининг или диагностика).			
Инфекция, инвазия	Исследуемый материал, метод	Тест ***	Маркеры активности инфекционного процесса
I. Первичное обследование			
1. ЦМВ-инфекция	кровь: - сыворотка крови – для выявления антител (ИФА, Иммуноблот, РИФ); - плазма – для определения антигенов («ранних белков») в РИФ («быстрый культуральный метод») или ДНК (ПЦР)	IgM	Острая инфекция или реактивация
		IgA	Острое, подострое течение или реактивация
		IgG-ИА	IgG-ИА < 40%
		IgG-ИА	завышение острого процесса или реактивация
		Антигены (p72) или ДНК ЦМВ	(+)
		(+)	Активность процесса
			При персистирующей форме и реактивации у лиц с иммунодефицитами, в том числе при ВИЧ-инфекции, ЦМВ-IgM определяется редко. Возможен ложноположительный результат при беременности и аутоиммунных процессах – рекомендуется иммуноблот ** для подтверждения IgM и IgG (к pp130, pp65, p38, pp28) .
			Определение IgG в титре имеет низкое диагностическое значение . IgG-ИА > 60% - давнее инфицирование.
			Наличие ДНК или «ранних белков» на фоне высокоavidных антител (IgG-ИА > 60%) свидетельствует о персистирующей инфекции.

	* - соскобы из очага поражения, мокрота, слюна или моча (РИФ, ПЦР)	Антигены (p72) или ДНК ЦМВ	(+) - результат - активность процесса	Рекомендуется определение ЦМВ-IgA (!) и антител к отдельным белкам в Иммуноблоте
II. Мониторинг				
ЦМВ-инфекция	кровь (<i>сыворотка крови, плазма</i>)	IgA; - Антитела к белкам ЦМВ; - Антигены или ДНК	- IgA (+); - Антигены или ДНК (+); - Белки в Иммуноблоте: (IgM и IgG к pp130, pp65, p38, pp28)	IgM в ИФА практически не выявляется, однако в иммуноблоте могут определяться белки активации. Даже при ограниченных финансовых возможностях следует выявлять антигены ЦМВ и ЦМВ-IgA. Проявить осторожность при оценке эффективности лечения (обследовать не ранее чем через 1,5 мес. после окончания лечения).

Примечания: ** - оптимально использование иммуноблота (West blot) на первом этапе обследования новорожденных и ВИЧ-инфицированных лиц, *** - выбор тестов клиницист определяет, учитывая анамнестические и клинические данные.

Инфекция, инвазия	<i>Исследуемый материал, метод</i>	<i>Тест ***</i>	<i>Маркеры активности инфекционного процесса</i>	<i>Примечания</i>
I. Первичное обследование				
2. ВПГ-инфекция	кровь: - <i>сыворотка крови</i> – для выявления антител – (ИФА, Иммуноблот);	IgM	IgM (+)	При персистирующей форме и реактивации у лиц с иммунодефицитами, в том числе при ВИЧ-инфекции, при врожденной инфекции ВПГ-IgM определяется редко. Возможен ложноположительный результат при беременности и аутоиммунных
		IgA	IgA (+)	

	- плазма – для определения антигенов («ранних белков») в РИФ («быстрый культуральный метод») или ДНК (ПЦР)	IgG-ИА или ДНК	IgG-ИА < 40% IgG-ИА = 40-60%	первичная (острая инфекция) или суперинфекция завершение острого процесса или реактивация	процессах – рекомендуется иммуноблот ** на ВПГ-инфекцию для подтверждения. Определение IgG в титре имеет низкое диагностическое значение . IgG-ИА > 60% - давнее инфицирование. Наличие ДНК или «ранних белков» на фоне высокоavidных антител (IgG-ИА > 60%) свидетельствует о персистирующей инфекции.
	* - соскобы из очага поражения	Антигены или ДНК	(+) (+)	Активность процесса Активность процесса	Рекомендуется определение ВПГ-IgA (!) и антител к отдельным белкам в иммуноблоте
II. Мониторинг					
ВПГ-инфекция	- кровь (сыворотка крови, плазма); * - соскобы из очага поражения	- IgA; - Антитела к белкам ВПГ; - Антигены или ДНК ВПГ	- IgA(+); - Антигены или ДНК (+); - Белки в иммуноблоте: (IgM и IgG к gC1, gB-2, gD1- при ВПГ-1 и к gB-2, gC-2 – при ВПГ-2)		IgM в ИФА практически не выявляется, однако в иммуноблоте могут определяться белки при активации. <i>Даже при ограниченных финансовых возможностях следует выявлять антигены ВПГ и ВПГ-IgA.</i> Проявить осторожность при оценке эффективности лечения (обследовать не ранее чем через 1,5 мес. после окончания лечения).

Примечания: * - при локальных формах; ** - оптимально использование иммуноблота (Westernblot) на первом этапе обследования новорожденных и ВИЧ-инфицированных лиц; *** - выбор тестов клиницист определяет, учитывая анамнестические и клинические данные.

Инфекция, инвазия	Исследуемый материал, метод	Тест ***	Маркеры активности инфекционного процесса	Примечания	
I. Первичное обследование					
3. ВЭБ-инфекция	<p>кровь;</p> <p><u>- сыворотка крови</u> – для выявления антител (ИФА, Иммуноблот)</p>	IgM	IgM (+)	<p>При врожденной и персистирующей форме в случае реактивации у лиц с иммунодефицитами, в том числе при ВИЧ-инфекции, ВЭБ-IgM определяется редко. Рекомендуются иммуноблот ** на ВЭБ-IgM и IgG.</p> <p>Интерпретация:</p> <p>- «ранние антителы»: EA-R p93, EA-D p45, EA-D p43;</p> <p>- капсидный антиген (CA): p125 (маркер ранней фазы), p65, p42, p41, p40, p33; p22 – маркер поздней фазы ВЭБ-инфекции.</p> <p>Для установления сроков заражения ВЭБ определяют IgG-ИА. При IgG-ИА < 40% - <i>первичная (острая инфекция)</i></p>	
		IgA к «ранним» белкам (EA)	IgA-EA (+)		<p><i>Острая инфекция</i></p> <p><i>Острое, подострое течение или реактивация</i></p>
		IgA к «поздним» белкам (NA)	IgA-NA (+)		<p><i>Реактивация</i></p>
		IgG к «ранним» белкам (EA)	IgG-EA (+)		<p><i>Завершение острого процесса или реактивация</i></p>
	<p><u>- плазма.</u></p> <p>* - соскобы из зева, с миндалин (ПЦР)</p>	DНК ВЭБ	DНК (+)	<p>Наличие ДНК на фоне IgG-NA (в иммуноблоте - p22; EBNA-1) или при IgG-ИА > 60% свидетельствует о персистирующей инфекции.</p>	
			<p><i>Поздняя стадия инфекции</i></p>	<p><i>Острое, подострое течение или реактивация</i></p>	

II. Мониторинг			
ВЭБ-инфекция	- кровь; - <u>сыворотка крови</u> (ИФА, иммуноблот), - <u>плазма</u> (ПЦР); * - соскобы из зева (с миндалин)	- IgA- EA; - Антитела к белкам ВЭБ;	- IgA (+); - в иммуноблоте: IgG к EA-R p93, EA-D p45, EA-D p43; p65
		- ДНК ВЭБ	- ДНК (+)
		реактивация	реактивация
		Наличие в иммуноблоте IgG к p22; EBNA-1 указывает на перенесенную инфекцию. Проявить осторожность при оценке эффективности лечения (обследовать не ранее чем через 1,5 мес. после окончания лечения).	

Примечания: * - при локальных формах; ** - оптимально использование иммуноблота (Westernblot) на первом этапе обследования лиц с иммунодефицитом, в том числе ВИЧ-инфицированных лиц; *** - выбор тестов клиницист определяет, учитывая анамнестические и клинические данные.

Инфекция, инвазия	Исследуемый материал, метод *	Тест ***	Маркеры активности инфекционного процесса	Примечания	
					I. Первичное обследование
4. **** Краснуха	кровь: - <u>сыворотка крови</u> – для выявления антител – (ИФА, Иммуноблот); - <u>плазма, ткани</u> элиминированных плодов, – для определения ДНК (ПЦР)	IgM	IgM (+)	Острая инфекция	Наличие только IgG требует уточнения сроков заражения беременных женщин (IgG-ИА или IgG – иммуноблота («RescomBlot»)) Интерпретация: IgG к EI и C – в течение первых недель после заражения или вакцинации; IgG-E2 появляются не ранее, чем через 3 мес. после начала инфекции). Возможный срок заражения – менее 3-х мес. до забора крови
		IgG	IgG (+)	Острое или подострое течение	
		IgG-ИА	IgG-ИА < 40%	первичная (острая инфекция);	

		IgG-ИА = 40-60%	завершение острого процесса или реактивация	Возможный срок заражения - от 3 до 6 мес. до забора крови
	ДНК	(+)	Активность процесса	Появляется через 9-18 дней после инкубации. Может быть (+) до 6-8 недель после заражения. Наличие ДНК свидетельствует об активности процесса

II. Контроль эффективности вакцинации

Краснуха	кровь: - <i>сыворотка крови</i> (ИФА)	IgG	Ig G (+)	Наличие IgG свидетельствует о формировании иммунного ответа, силу которого следует оценивать количественно.
-----------------	---	-----	----------	---

Примечания: * - зависит от предполагаемого срока заражения (контакта с больным краснухой); ** - оптимально использование иммуноблота (Westernblot) на первом этапе обследования контактных, особенно беременных женщин; *** - выбор тестов клиницист определяет, учитывая анамнестические и клинические данные; **** - в связи с вспышкой краснухи в г. Омске в последние 4 года и в результате вакцинации почти 40% беременных женщин имеют IgG –антитела. Примерно 15% привитых не имеют антител к вирусу краснухи.

5. Листерия (возбудители – <i>Listeria monocytogenes</i> 1/2 / <i>Listeria monocytogenes</i> 4b)	кровь: - <i>сыворотка крови</i> (РНИФ, биочипы)	IgG	IgG (+)	Инфекция подтверждена	В биочипах использованы диагностические значимые белки. Наличие IgG свидетельствует о текущей инфекции. Листерия нередко протекает в виде микст-инфекции (чаще – ассоциация листерий с герпесвирусами, редко – с токсоплазмами)
	кровь: <u>плазма</u> <i>ликвор,</i> <i>соскобы,</i> <i>околоплодные воды,</i> <i>ткани элиминированных</i> <i>плодов (ПЦР)</i>	ДНК	ДНК (+)	Диагноз верифицирован	

Инфекция, инвазия	Исследуемый материал, метод	Тест ***	Маркеры активности инфекционного процесса	Примечания
I. Первичное обследование				
б. Токсоплазмоз	кровь: <u>сыворотка крови</u> – для выявления антител (ИФА, Иммуноблот)	IgM	IgM (+)	Острая инфекция
		IgA	IgA (+)	Острое, подострое течение или реактивация
		IgG	IgG (+)	В сочетании с IgM (+) или IgA (+) указывает на активное течение
		IgG-ИА *	IgG-ИА < 40%	Возможный срок заражения - < 3 мес. до забора крови Возможный срок заражения - 3-6 мес. до забора крови
			IgG-ИА = 40-60%	Возможный срок заражения - 3-6 мес. до забора крови IgG-ИА > 60% - давнее инфицирование
	плазма, ликвор, ткани элиминированных плодов (ПЦР или РИФ)	ДНК или антигены	ДНК (+), Анти-гены (+)	Острое течение

II. Мониторинг

Токсоплазмоз	кровь: - <u>сыворотка</u> крови (<i>ИФА</i> <i>Line-blot</i>)	- IgA; - Антитела к антигенам токсоплазм	- IgA (+); - в иммуноблоте: IgG к ROP1, MAG1; SAG1	<i>реактивация</i>	Наличие белков ROP1, MAG1; SAG1 на фоне GRA7, GRA8 свидетельствует об активности. Проявить осторожность при оценке эффективности лечения (обследовать не ранее чем через 1,5 мес. после окончания лечения).
---------------------	--	---	---	--------------------	--

Примечания: * - при первичном диагнозе; смотреть ИА в динамике – нецелесообразно; ** - оптимально использование иммуноблота (Westerblot) на первом этапе обследования лиц с выраженным иммунодефицитом, в том числе ВИЧ-инфицированных лиц; *** - выбор тестов клиницист определяет, учитывая анамнестические и клинические данные.

7. TORCH-профиль (комплексное исследование на 5 инфекций)	кровь: - <u>сыворотка крови</u> (<i>Line-blot</i>)	IgM	IgM (+)	<i>Острая инфекция</i>	Определяются IgM и IgG к диагностически значимым антигенам T. gondii, Rubella, CMV, HSV-1, HSV-2
		IgG	IgG (+)	<i>Активность процесса</i>	

ДИАГНОСТИКА ВНУТРИУТРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

1. Врожденная ЦМВИ	кровь - <u>сыворотка крови</u> – для выявления антител – ИФА, иммуноблот; - <u>плазма, моча</u> – для определения антигенов в РИФ или ДНК-методом ПЦР	ЦМВ-IgM	IgM (+)	Острая инфекция	При внутриутробной инфекции IgM определяется крайне редко. Рекомендуется ЦМВ-IgA или иммуноблот ** (ЦМВ-IgM) . В динамике – через каждые 3 мес. в течение 1-го года жизни – исследование мочи, слюны (РИФ или ПЦР) + по показаниям нейросонография. При (+) ДНК или «ранних белков» и (или) клинических проявлениях – исследование крови на наличие ЦМВ-IgA или в иммуноблоте (IgM, IgG) . Смена белков с синтезом IgM и IgG к pp130, pp65, p38, pp28 свидетельствует об активности ЦМВ.
		ЦМВ-IgA	IgA (+)	Остро или, подострое течение	
		Антигены (p72) или ДНК	(+)	Активность процесса	
			(+)	Активность процесса	
		Антигены или ДНК	(+)	Активность процесса	Целесообразно параллельное исследование ликвора и крови. Даже при (-) результате ПЦР или РИФ подтверждением интраутеральной продукции антител (развитие инфекции) является индекс $LSQ-IgG > 1,5$. Увеличение индекса в динамике – подтверждение прогрессирующего поражения мозга данным вирусом.
		ЦМВ-IgG в ликворе и крови	LSQ-IgG > 1,5	Доказано поражение мозга ЦМВ	

* - при поражении мозга – ликвор + кровь

1. Неонатальный герпес	кровь - <u>сыворотка крови</u> – для выявления антител – ИФА, иммуноблот; - <u>плазма</u> – для определения антигенов в РИФ или ДНК методом ПЦР	ВПГ-IgM	IgM (+)	Острая инфекция или реактивация	При внутриутробной инфекции IgM определяется крайне редко. Рекомендуется иммуноблот ** на ВПГ-IgM. Выявление даже единичного белка – в пользу диагноза.	
		ВПГ-IgA	IgA (+)	Острое, подострое течение или реактивация		
			Антигены или ДНК	(+)	Активность процесса	Наличие ДНК или «ранних белков» на фоне высокоavidных антигел (IgG-ИА > 60%) свидетельствует о персистирующей инфекции.
			Антигены или ДНК	(+)	Активность процесса	
3. Врожденная ВЭБ-инфекция	кровь - <u>сыворотка крови</u> – для выявления антител – ИФА, иммуноблот;	Антигены или ДНК	(+)	Активность процесса	Целесообразно параллельное исследование ликвора и крови. ВПГ-IgM выявляется крайне редко. Даже при (-) результате ПЦР или РИФ – возможно подтверждение интраутробной продукции антигел (развитие инфекции), если LSQ-IgG > 1,5. Увеличение индекса в динамике – подтверждение прогрессирующего поражения мозга данным вирусом.	
		ВПГ-IgG в ликворе и крови	LSQ-IgG > 1,5	Доказано поражение мозга ЦМВ		
		ВЭБ-IgM	IgM (+)	Острая инфекция		
		IgA-EA	IgA-EA (+)	Острое, подострое течение		
		IgA-NA	IgA-NA	Подострое течение	Интерпретация: - «ранние антигены»: EA-R p93, EA-D p45, EA-D p43;	

	<p>- плазма, ликвор – для ПЦР</p>	ДНК ВЭБ	ДНК (+)	Активность процесса	<p>- капсидный антиген (СА): p125 (маркер ранней фазы!), p65.</p>
<p>4. Краснуха</p>	<p>кровь: - сыворотка крови – для выявления антител (ИФА, иммуноблот)</p>	IgM	IgM (+)	Острая инфекция	<p>При врожденной форме IgM определяется крайне редко. Рекомендуются параллельное исследование крови матери и новорожденного. При IgG (+) у ребенка и (или) у матери рекомендуется иммуноблот ** (Line-blot).</p> <p>Интерпретация: IgG к E1 и C - в течение первых недель после заражения (в т.ч. и внутриутробного); IgG-E2 - появляются не ранее, чем через 3 мес. после заражения. Можно определять IgG-ИА. Помнить: выявляются IgG матери, которые маскируют IgG ребенка. Информацию следует оценивать в комплексе.</p>
		IgG	IgG (+)	В сочетании с IgM (+) или IgA (+) указывает на активное течение	
	<p>- плазма (ПЦР)</p>	ДНК или антигены	ДНК (+), Антигены (+)	Острое течение	<p>Диагноз подтвержден. Определение IgG в иммуноблоте дает информацию о возможных сроках заражения матери, позволяет определить фазу инфекционного процесса.</p>

5. Токсоплазмоз	кровь: - <u>сыворотка крови</u> – для выявления антител (ИФА, иммуноблот)	IgM	IgM (+)	Острая инфекция	При врожденной форме IgM определяется крайне редко. Рекомендуется определение IgA. При IgG (+) у ребенка и (или) у матери рекомендуется иммуноблот ** (<i>Line-blot</i>) - позволяет верифицировать диагноз и определить фазу инфекционного процесса. Интерпретация: - маркеры активации - ROP1, MAG1; SAG1; на поздних стадиях появляются GRA7; GRA8
		IgA	IgA (+)	Острое, подострое течение	
		IgG	IgG (+)	В сочетании с IgM (+) или IgA (+) указывает на активное течение	
	- плазма, ликвор/ПЦР или РИФ)	ДНК или антигены	ДНК (+), Анти-гены (+)	Острое течение	Диагноз подтвержден. Дальнейший мониторинг токсоплазмоза после лечения – IgA и IgG (иммуноблот) .

Примечания: * - при первичном диагнозе; определять при хроническом токсоплазмозе ИА в динамике нецелесообразно; ** - оптимально использование иммуноблота (Westernblot) на первом этапе обследования лиц с выраженным иммунодефицитом, в том числе ВИЧ-инфицированных лиц; *** - выбор тестов клиницист определяет, учитывая анамнестические и клинические данные.

6. Листерия (возбудители – <i>Listeria monocytogenes</i> 1/2 / <i>Listeria monocytogenes</i> 4b)	кровь: - <u>сыворотка крови</u> (РНИФ; биочипы) кровь: <u>плазма</u> ликвор, ткани эльминированных плодов (ПЦР)	IgG	IgG (+)	Инфекция подтверждена.	В биочипах использованы диагностически значимые белки. Наличие IgG свидетельствует о текущей инфекции. Листерия нередко протекает в виде микет-инфекции (чаще – ассоциация листерий с герпесвирусами, редко- с токсоплазмами)
		ДНК	ДНК (+)	Диагноз верифицирован.	

7. TORCH-профиль (комплексное исследование на 5 инфекций)	кровь: - <i>сыворотка крови</i> (<i>Line-blot</i>)	IgM	IgM (+)	Острая инфекция	Определяются IgM и Ig G к диагностически значимым антигенам T. gondii, Rubella, CMV, HSV-1, HSV-2
		IgG	IgG (+)		

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

ТАКТИКА ВРАЧА ПРИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ОБСЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИ И РЕБЕНКА НА ТОКСОПЛАЗМОЗ, ГЕРПЕТИЧЕСКУЮ ИНФЕКЦИЮ, ВЭБ-инфекцию и ЦМВИ

Ситуация	Комментарии
1. Наличие антител у матери и ребенка к одному и тому же возбудителю (возбудителям)	Оценить данные по IgG, IgM и/или IgA; при необходимости использовать прямой метод (РИФ или ПЦР). Определить ИА-IgG. Целесообразна постановка иммуноблота на ЦМВИ (<i>выявление p28, p65 свидетельствует об активной процессе</i>). Наличие антител (и особенно антигена) в ликворе у детей с неврологической симптоматикой указывает в пользу заболевания.
2. Выявление антител у матери и их отсутствие у новорожденного при наличии у последнего клинической симптоматики врожденной инфекции, а также при обследовании ребенка, родившегося от инфицированной матери с клиническими или лабораторными признаками активной инфекции во время беременности (<i>обязательно при ВИЧ-инфекции!</i>)	Требуется использование прямых методов или наблюдение в динамике за серологическим профилем ребенка в течение первого года жизни, поскольку инфицирование не исключено (может иметь место иммунологическая толерантность). Необходимо исключить микст-инфекцию в динамике!
3. Обнаружение высоких титров IgG-антител вскоре после рождения у ребенка	Свидетельствует скорее о пассивном иммунитете, полученном от матери, чем о врожденной инфекции, требует дополнительных исследований (определения IgA, низковоидных IgG-антител и

	<p>антигенов или ДНК) или наблюдения в динамике. Если ребенок не инфицирован, то к возрасту 4-6 мес. титр антител снижается, РИФ и ПЦР остаются отрицательными, низкоavidные IgG не выявляются.</p> <p><i>Альтернатива: постановка иммуноблота на ЦМВИ, ВПГ-инфекцию, токсоплазмоз (появление белков активности в динамике при их отсутствии в период новорожденности свидетельствует в пользу заболевания).</i></p>
<p>4. Обнаружение у ребенка антител и/или антигенов при отсутствии антител у матери</p>	<p>Имеет место внутриутробное инфицирование или инфицирование в родах; возможна передача возбудителя через молоко матери или при переливании крови и компонентов; в отдельных случаях не исключена передача ЦМВ медперсоналом. Ситуация встречается у женщин, лечившихся по поводу микст-инфекции, в случае наступления беременности на фоне лечения или в первые месяцы после лечения.</p>
<p>5. Уровень специфических IgG-антител в сыворотке крови ребенка превышает уровень антител в сыворотке матери (при отсутствии IgM, IgA)</p>	<p>Данный факт еще не свидетельствует об инфицированности ребенка. Оценка клинических и функциональных данных, применение прямых методов, наблюдение в динамике за серологическим профилем и динамикой белков в иммуноблоте позволяет исключить или подтвердить инфицирование ребенка.</p>
<p>6. Наличие IgM и/или IgA у ребенка</p>	<p>Свидетельствуют о заражении</p>
<p>7. Наличие низкоavidных IgG-антител у матери и (или) ребенка</p>	<p>Не исключено инфицирование, требуется использование РИФ или ПЦР наряду с иммуноблотом (<i>выявление белков активности</i>).</p>
<p>8. Наличие в ликворе IgG (IgM или IgA обнаруживаются реже) к токсоплазмам, ВПГ, ЦМВ, ВЭБ.</p>	<p>Позволяют провести этиологическую расшифровку нейроинфекции. Следует определить индекс LSQ (CSQ). <i>Дополнительным (но не обязательным) тестом в данной ситуации является иммуноблот.</i></p>

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА И МОНИТОРИНГА

<p>ЗАБОЛЕВАНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА у взрослых и детей: <i>острая инфекция; затяжное течение, рецидивы, низкая эффективность проводимой терапии, дисбиотические нарушения в кишечнике после приема антибиотиков, дисария у лиц с иммунодефицитом (ВИЧ-инфекция и др.), подозрение на гельминтозы и паразитозы. Исследования на дизентерию, сальмонеллез, брюшной тиф, холеру, дисбактериоз проводятся бактериологическим методом в соответствии с нормативными документами и не включены в данную схему. * - при выборе тестов учитывать анамнестические, эпидемиологические и клинические данные.</i></p>				
<p>ПРЯМЫЕ МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИЛИ ИХ АНТИГЕНОВ при исследовании кала.</p>				
<p>ПЕРВИЧНОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ, МОНИТОРИНГ. НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ (преимущество для детей).</p>				
<p>Быстрая верификация диагноза</p>				
Комплекс исследований на инфекции или инфекция	Исследуемый материал, метод	Тест *	Маркеры активности инфекционного процесса	Примечания
<p>1. Комплексное исследование кала на гельминты (система Sorgo-Duo)</p>	<p>Кал - микроскопия с обогащением на «системе Sorgo-Duo»</p>	<p>Обнаружение гельминтов, личинок, яиц</p>	<p>(+) Гельминтоз установлен</p>	<p>Преимущество – прямой и неинвазивный метод. Следует исключить микст-инфекцию (ассоциации с другими возможными патогенами желудочно-кишечного тракта, в т.ч. Helicobacter rufofl). Исследовать кал на скрытую кровь, целесообразно определить кальпротектин в кале.</p>
<p>2. Инфекционный гастроэнтерит (целесообразен комплекс: ротавирус, аденовирус, Норфолк-подобный вирус, астровирус, криптоспоридии, лямблии, токсин А Clostridium difficile)</p>	<p>Кал - иммунохимия - ИФА</p>	<p>Антигены</p>	<p>(+) Возбудитель установлен</p>	<p>Преимущество – прямой и неинвазивный метод. Токсин А Clostridium difficile следует определять у лиц, длительно принимающих антибиотики. Целесообразно применить указанный комплекс или проводить отдельные исследования (по показаниям)</p>

3. Криптоспоридиоз	<i>Кал</i> - иммунохимия	Антигены	(+)	<i>Возбудитель</i> установлен	Следует определять у лиц с иммунодефицитами (<i>прежде всего при обследовании ВИЧ-инфицированных лиц</i>). Может иметь вспышечный характер
4. Ротавирус	<i>Кал</i> - иммунохимия	Антигены	(+)	<i>Возбудитель</i> установлен	Может иметь вспышечный характер
5. Аденовирус	<i>Кал</i> - иммунохимия	Антигены	(+)	<i>Возбудитель</i> установлен	Может иметь вспышечный характер
6. Норвовирус (Норфолк-подобный вирус)	<i>Кал</i> - иммунохимия	Антигены	(+)	<i>Возбудитель</i> установлен	Может иметь вспышечный характер
7. Астровирус	<i>Кал</i> - иммунохимия	Антигены	(+)	<i>Возбудитель</i> установлен	Может иметь вспышечный характер
8. Токсин A Clostridium difficile	<i>Кал</i> - иммунохимия	Токсин	(+)	<i>Активность</i> процесса	Обязательно определять у лиц после антибиотикотерапии. Возможен летальный исход
9. Веротоксин 1 и 2 (SLT I/II) энтерогеморрагических E. coli	<i>Кал</i> - иммунохимия	Токсин	(+)	<i>Активность</i> процесса	Возможно тяжелое течение с летальным исходом. Обязательно определять у лиц после антибиотикотерапии. Кал забирается в специальную готовую m-TSB-среду (с солями желчных кислот и митомицином C) для обогащения проб.

10. Описторхоз	<i>Кал</i> - микроскопия с обогатителем на «системе Сорго-Дюо»	Яйца	(+)	<i>Диагноз установлен</i>	При мониторинге терапии следует определять уровень IgG и ЦИК к антигенам паразита.
11. Лямблиоз	<i>Кал</i> - иммунохимия - микроскопия с обогатителем на «системе Сорго-Дюо»	- Антигены - цисты	(+)	<i>Диагноз установлен</i>	При мониторинге терапии следует определять уровень IgG к антигенам лямблий. Метод иммунохимии является более чувствительным по сравнению с микроскопией. Лямблии нередко ассоциируются с криптоспоридиями (обновано параллельное исследование)
12. Кампилобактериоз	<i>Кал</i> - ИФА	Антигены	(+)	<i>Активность процесса</i>	Преимущество – прямой и независимый метод. Первичная диагностика, контроль эффективности лечения, мониторинг.
13. Хеликобактериоз (Helicobacter pylori – инфекция)	<i>Кал</i> - ИФА	Антигены	(+)	<i>Активность процесса</i>	Преимущество – прямой и независимый метод. Первичная диагностика, контроль эффективности лечения, мониторинг. Целесообразно исследовать кал на скрытую кровь и кальпротектин. Дополнительно – определение IgA к Саg-белку (токсигенность).
КОМПЛЕКСНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ (кровь)					
13. Комплексное исследование на кишечные инфекции (профиль «Кишечный тракт»). 9 возбудителей: аденовирус тип 3; Yersinia enterocolitica	кровь: - <u>сыворотка</u> <u>крови</u> для выявления антител - иммуно-	IgM	IgM (+)	<i>Острая инфекция или суперинфекция или реактивация</i>	Особенностью профилей является одномоментное выявление IgM и (или) IgG к <u>диагностически значимым белкам (антигенам)</u> возбудителей бактериальной или вирусной природы. Результат – в течение 1 рабочего дня.

<p>O:3/O:6/ O:9; вирус Coxsackie B3 и A7 типов; Echo virus тип 7; Campylobacter jejuni, Campylobacter coli; Helicobacter pylori; Klebsiella pneumoniae; Candida albicans</p>	<p>флюоресценция (биочипы)</p>	<p>IgG</p>	<p>IgG (+)</p>	<p>Подострая форма (в сочетании с IgM), реинфекция, реактивация или суперинфекция</p>	<p>Минимальное количество крови (1,0 мл). Установление моно- или микст-инфекции. Достоверность результата зависит от квалификации врача и уровня технического оснащения.</p>
<p>14. Комплексное исследование на кишечные инфекции (Дополнительный гепатитный профиль). II возбудители: аденовирус тип 3; капсидный и ранний антигены Epstein-Barr virus, Toxoplasma gondii, HSV-1, HSV-2, CMV, вирус Coxsackie B5 и A9 типов; Echo virus тип 7; Echinococcus granulosis, Echinococcus multilocularis</p>	<p>кровь: - <u>сыворотка</u> <u>крови</u> для выявления антител - иммунофлюоресценция (биочипы)</p>	<p>IgM</p>	<p>IgM (+)</p>	<p>Острая инфекция, суперинфекция или реактивация</p>	<p>Особенность профилей является одномоментное выявление IgM и (или) IgG <u>к диагностически значимым белкам (антигенам)</u> возбудителей бактериальной или вирусной природы. Результат – в течение 1 рабочего дня. Минимальное количество крови (1,0 мл). Установление моно- или микст-инфекции. Достоверность результата зависит от квалификации врача и уровня технического оснащения.</p>
<p>15. Печеночный профиль: для исключения (или подтверждения) аутоиммунного гепатита или выявления аутоиммунного компонента при инфекционном гепатите и гепатите неясного генеза. 4 антигена: AMA-M2, LKM-1,</p>	<p>кровь: - <u>сыворотка</u> <u>крови</u> для выявления IgG к 4 антигенам в Line-blot</p>	<p>AMA-M2 LKM-1</p>	<p>AMA-M2 (+) LKM-1 (+)</p>	<p>Подострая форма (в сочетании с IgM), реинфекция, реактивация или суперинфекция. При IgG (+) к эхинококкам – верификация диагноза.</p>	<p>AMA-M2 могут обнаруживаться у пациентов с вирусным гепатитом С. Показания для применения профиля: 1) повышение трансаминаз с невыясненной причиной; 2) первичный билиарный цирроз печени; 3) подозрение на аутоиммунный гепатит; 4) мониторинг хронического гепатита неясного генеза; 5) низкий эффект от</p>

LC-1, SLALP		LC-1	LC-1 (+)	Цитозольный печеночный антиген типа; формиминотрансфераза; ферментация дезаминаза I	проводимого лечения. Наличие аутоантител ко всем указанным антигенам (AMA-M2, LKM-1, LC-1, SLALP) указывает на аутоиммунный гепатит
16. Комплексное исследование для исключения (или подтверждения) аутоиммунного гепатита или выявления аутоиммунного компонента при инфекционном гепатите и гепатите неясного генеза. 2 антигена: ANA, SMA	кровь: - <u>сыворотка крови</u> для выявления IgG к 4 антигенам в Line-blot или иммунофлюоресценция	ANA SMA	ANA (+) SMA (+)	Ядерный антиген Антигены гладкой мускулатуры	ANA и SMA часто обнаруживаются у пациентов с аутоиммунным гепатитом и встречаются в 10 - 20% случаев у пациентов с хроническим вирусным гепатитом
ИССЛЕДОВАНИЯ НА ОТДЕЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ (кровь)					
17. Лямблиоз	кровь: - <u>сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)	IgM	IgM (+)	Острая инфекция, реинвазия	Выявление IgM и (или) IgG (в титре более 1/100) даже при отрицательных результатах исследования кала на лямблиоз свидетельствует в пользу заболевания. При оценке эффективности лечения – динамика титров IgG . При длительно текущей инфекции и низкой результативности лечения – оценка иммунного статуса для

			IgG	IgG (+)	<i>Подострая форма (в сочетании с IgM), ренивазия</i>	иммунокоррекции.
18. Описторхоз	кровь: <u>- сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)	IgM	IgM	IgM (+)	<i>Острая инфекция, ренивазия</i>	Выявление IgM и (или) IgG (в титре более 1/100) даже при отрицательных результатах исследования кала и желчи на описторхоз свидетельствует в пользу заболевания. При оценке эффективности лечения – динамика титров IgG и ЦИК. При длительно текущей инфекции и низкой результативности лечения – оценка иммунного статуса для иммунокоррекции.
			IgG	IgG (+)	<i>Подострая форма (в сочетании с IgM), ренифекция, хроническая форма</i>	
			ЦИК	ЦИК (+)	Для контроля иммунного ответа	
19. Токсокароз	кровь: <u>- сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)	IgG	IgG	IgG (+)	<i>Острая инфекция, завершение острой фазы, подострое течение, ренивазия</i>	Выявление IgM и (или) IgG (в титре более 1/100) свидетельствует в пользу заболевания. При оценке эффективности лечения – динамика титров IgG. При длительно текущей инфекции и низкой результативности лечения – оценка иммунного статуса для иммунокоррекции.
20. Helicobacter pylori -инфекция	кровь: <u>- сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)	IgM	IgM	IgM (+)	<i>Острая инфекция</i>	IgM выявляются редко. При первичной диагностике и мониторинге целесообразно определять IgA к Саg-белку и антиген в кале.
			IgA-Саg	Саg-IgA (+)	Активность процесса, токсемический штамм	

			IgG	IgG (+)	Завершение острой фазы или подострое течение в сочетании с IgM и (или) IgA	
	- биоптаты слизистой желудка (ИЦР)		ДНК	ДНК (+)	Диагноз верифицирован	
	- кал (ИФА)		Антигены	Антигены (+)	Диагноз верифицирован	
21. Эхинококкоз	кровь: - <u>сыворотка крови</u> Для выявления антител (ИФА)		IgG	IgG (+)	Диагноз верифицирован	
22. Трихинеллез	кровь: - <u>сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)		IgG	IgG (+)	Диагноз верифицирован	
23. Туберкулез	кровь: - <u>сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)		IgM	IgM (+)	Первичная инфекция	Является эффективным дифференциально-диагностическим тестом при (+) или сомнительной реакции Манту. В динамике дает возможность оценить эффективность противотуберкулезной терапии, изменить курс и схему лечения. Целесообразно определение кальпротектина в кале.
			IgA	IgA (+)	Активное течение	
			IgG	IgG (+)	В пользу текущей инфекции	
	- кровь (плазма), промывные воды кашемика (ИЦР)		ДНК	ДНК (+)	Диагноз верифицирован. Текущий специфический процесс.	

24. Кандидоз	кровь: - <u>сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА)	IgM	IgM (+)	Первичная инфекция	В динамике дает возможность установить реактивацию, суперинфекцию, реинфекцию и оценить эффективность терапии, изменить курс и схему лечения. При рецидивирующей инфекции и низкой эффективностью лечения определить чувствительность к противогрибковым препаратам, оценить уровень ЦИК по Дижону, секреторного IgA.	
		IgA	IgA (+)	Активное течение		
		IgG	IgG (+)	В пользу текущей инфекции		
		Рост и идентифи- кация	(+)	Диагноз верифицирован. Текущий процесс.		
25. ЦМВ-инфекция	кровь: - <u>сыворотка крови</u> для выявления антител (ИФА, Иммуноблот, РИФ); - плазма (для РИФ или ПЦР)	IgM	IgM (+), В ИБ: pp65, p38, pp28	Острая инфекция или реактивация	Клиническая форма ЦМВ-инфекции чаще отмечается у детей раннего возраста и иммунодефицитных лиц (у больных СПИДом). Рекомендуется параллельно IgM- и IgG- иммуноблот (важно присутствие pp65, p38, pp28).	
		IgA	IgA (+)	Острое, подострое течение или реактивация		
		IgG (ИБ)	В ИБ: pp65, p38, pp28	первичная (острая инфекция) или суперинфекция		
		Антигены или ДНК ЦМВ	(+)	Активность процесса		Детекция ДНК или «ранних белков» свидетельствует о текущей инфекции.
			(+)	Активность процесса		
- <u>промывные воды</u> кишечника (ПЦР, РИФ)	ДНК или антигены	ДНК (+) или анти- гены (+)	Активность процесса. Диагноз верифицирован.	Предпочтение отдать исследованию промывных вод кишечника. Детекция ДНК или «ранних белков» свидетельствует о текущей инфекции.		

Серодиагностика инфекций TORCH-комплекса

Диагностикум	Кат. номер	Фирма
ТОКСОПЛАЗМА (<i>Toxoplasma gondii</i>)		
IgA, IgG, IgM (сумм. антитела), качественно, экспресс-ЛА, 100 тестов	50023	HUMAN
IgA, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2410-9601A	EUROIMMUN
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2410-9601G	EUROIMMUN
IgG, кол-но или качественно, ИФА, 96 тестов	51209	HUMAN
IgG, кол-но, в ликворе , ИФА, 96 тестов	EI2410-9601-LG	EUROIMMUN
IgG, определение avidности , ИФА, 96 тестов	EI2410-9601-1G	EUROIMMUN
IgM, качественно, ИФА, 96 тестов	51109	HUMAN
IgM, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2410-9601M	EUROIMMUN
КРАСНУХА		
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2590-9601G	EUROIMMUN
IgG, кол-но или качественно, ИФА, 96 тестов	51208	HUMAN
IgG, кол-но, в ликворе , ИФА, 96 тестов	EI2590-9601-LG	EUROIMMUN
IgG, определение avidности , ИФА, 96 тестов	EI2590-9601-1G	EUROIMMUN
IgM, качественно, ИФА, 96 тестов	51108	HUMAN
IgM, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2590-9601M	EUROIMMUN
ЦИТОМЕГАЛОВИРУС		
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2570-9601G	EUROIMMUN
IgG, кол-но или качественно, ИФА, 96 тестов	51203	HUMAN
IgG, кол-но, в ликворе , ИФА, 96 тестов	EI2570-9601-LG	EUROIMMUN
IgG, определение avidности , ИФА, 96 тестов	EI2570-9601-1G	EUROIMMUN
IgG, подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2570-1601G	EUROIMMUN
IgM, качественно, ИФА, 96 тестов	51103	HUMAN
IgM, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2570-9601M	EUROIMMUN
IgM, подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2570-1601M	EUROIMMUN
ГЕРПЕСВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ		
IgA к ВПГ1/2, полукол-но, ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-1A	EUROIMMUN
IgG к ВПГ1/2, кол-но, ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-1G	EUROIMMUN
IgG к ВПГ1/2, количественно, в ликворе , ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-1LG	EUROIMMUN
IgG к ВПГ1/2 (типоспециф. гликопрот. С1 и G2), мини-блот, 30 тестов	DC2531-1003-G	EUROIMMUN
IgG к ВПГ1/2 (типоспециф. гликопрот. G2), вестерн-блот, 24 теста	DY2531-2401-1G	EUROIMMUN
IgG к ВПГ1, качественно, ИФА, 96 тестов	51216	HUMAN

IgG к ВПГ1 (типоспециф.), кол., ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-2G	EUROIMMUN
IgG к ВПГ1 (типоспециф.), количественно, в ликворе, ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-LG	EUROIMMUN
IgG к ВПГ2, качественно, ИФА, 96 тестов	51226	HUMAN
IgG к ВПГ2 (типоспециф.), кол., ИФА, 96 тестов	EI2532-9601-2G	EUROIMMUN
IgG к ВПГ2 (типоспециф.), количественно, в ликворе, ИФА, 96 тестов	EI2532-9601-LG	EUROIMMUN
IgM к ВПГ1/2, качественно, ИФА, 96 тестов	51126	HUMAN
IgM к ВПГ1/2, полукол-но, ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-1M	EUROIMMUN
IgM к ВПГ1/2 (типоспециф. гликопрот. G2), вестерн-блот, 24 теста	DY2531-2401-1M	EUROIMMUN
IgM к ВПГ1 (типоспециф.), полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2531-9601-2M	EUROIMMUN
IgM к ВПГ2 (типоспециф.), полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2532-9601-2M	EUROIMMUN

ТОРСН-ПРОФИЛЬ

IgG (раздельно T.gondii, типоспецифич. ВПГ1 и ВПГ2, ЦМВ, краснуха), лайн-блот, 16 тестов	DN2410-1601-3G	EUROIMMUN
IgM (раздельно T.gondii, типоспецифич. ВПГ1 и ВПГ2, ЦМВ, краснуха), лайн-блот, 16 тестов	DN2410-1601-3M	EUROIMMUN

Серодиагностика парвовирусной и ВЭБ инфекций

Диагностикум	Кат. номер	Фирма
--------------	------------	-------

ПАРВОВИРУС В19

IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	K6021	R-BIOPHARM
IgM, количественно, ИФА, 96 тестов, нужен РФ-сорбент	K6031	R-BIOPHARM
РФ-сорбент, 2.5 мл, на 50 тестов	Z0202	R-BIOPHARM
IgG/IgM, иммуноблот, 20 тестов	L6003	R-BIOPHARM

ИНФЕКЦИОННЫЙ МОНОНУКЛЕОЗ ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР (ВЭБ)

Гетерофильные антитела, экспресс-ГА, 20 / 40 тестов	40039 / 40038	HUMAN
IgG, профиль 2 (раздельно антигены: VCAgp125, VCAp19, EBNA-1, p22, EA-D), лайн-блот, 16 тестов	DN2790-1601-2G	EUROIMMUN
IgG, подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2790-1601G	EUROIMMUN
IgM, профиль 2 (раздельно антигены: VCAgp125, VCAp19, EBNA-1, p22, EA-D), лайн-блот, 16 тестов	DN2790-1601-2M	EUROIMMUN
IgM, подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2790-1601M	EUROIMMUN

ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР, капсидный антиген ВЭБ

IgA, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2791-9601A	EUROIMMUN
IgG, качественно, ИФА, 96 тестов	2324700	Trinity Biotech
IgG, кач-но или кол-но, ИФА, 96 тестов	51204	HUMAN
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2791-9601G	EUROIMMUN
IgG, кол-но, в ликворе, ИФА, 96 тестов	EI2791-9601LG	EUROIMMUN
IgG, определение авидности, ИФА, 96 тестов	EI2791-9601-1G	EUROIMMUN
IgM, качественно, ИФА, 96 тестов	51104	HUMAN
IgM, качественно, ИФА, 96 тестов	2325760	Trinity Biotech
IgM, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2791-9601M	EUROIMMUN

ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР, ядерный антиген ВЭБ

IgG, кач. или полуколич., ИФА, 96 тестов	2325800	Trinity Biotech
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2793-9601G	EUROIMMUN
IgM, количественно, ИФА, 96 тестов	2325860	Trinity Biotech

ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР, ранний антиген ВЭБ

IgA, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2795-9601A	EUROIMMUN
IgG, качественная, ИФА, 96 тестов	2325000	Trinity Biotech
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2795-9601G	EUROIMMUN
IgM, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2795-9601M	EUROIMMUN

Серодиагностика сифилиса и Лайм-боррелиоза

Диагностикум	Кат. номер	Фирма
СИФИЛИС (<i>Treponema pallidum</i>)		
реагиновые антитела, экспресс-RPR, полный набор, 100 / 500 тестов	50001 / 50002	HUMAN
реагиновые антитела, экспресс-RPR, сокращенный набор, 500 тестов	50016	HUMAN
РПГА, 100 тестов	50101	HUMAN
IgA, IgG, IgM (сумм. антитела), качественно, экспресс-ИХ, 20 тестов	58042	HUMAN
IgA, IgG, IgM (сумм. антитела), качественно, экспресс-ИХ, 20 тестов	26001	VEDA.LAB
IgG, количественно, ИФА, 96 тестов	EI2111-9601G	EUROIMMUN
IgG, кол-но, в ликворе, ИФА, 96 тестов	EI2111-9601-LG	EUROIMMUN
IgG, подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2111-1601G	EUROIMMUN
IgG/М (скрининг), кол-но, ИФА, 96 тестов	EI2111-9601O	EUROIMMUN
IgM, полуколичественно, ИФА, 96 тестов	EI2111-9601M	EUROIMMUN
IgM, подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2111-1601M	EUROIMMUN

ЛАЙМ-БОРРЕЛИОЗ

IgG/IgM, качественно, ИФА, 96 тестов	40-8696P	Trinity Biotech
IgG, качественно, ИФА, 96 тестов	40-8696M	Trinity Biotech
IgG (родоспециф.), кол-но, ИФА, 96 тестов	EI2132-9601G	EUROIMMUN
IgG (родоспециф.), колич., полный антиген плюс VlsE, ИФА, 96 тестов	EI2132-9601-2G	EUROIMMUN
IgG (родоспециф.), кол-но, в ликворе , полный антиген плюс VlsE ИФА, 96 тестов	EI2132-9601-LG	EUROIMMUN
IgG (<i>Borrelia</i> spp.), подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2131-1601-1G	EUROIMMUN
IgG (<i>B.afzelii</i>), подтверждение, вестерн- блот, 16 тестов	DY2131-1601G	EUROIMMUN
IgG (<i>B.burgdorferi</i>), мини-блот (раздельно: антиген и нативный OspC), 30 тестов	DC2132-1003G	EUROIMMUN
IgG (<i>B.burgdorferi</i>), подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2132-1601G	EUROIMMUN
IgG (<i>B.garinii</i>), подтверждение, вестерн- блот, 16 тестов	DY2134-1601G	EUROIMMUN
IgM (родоспециф.), кол-но, ИФА, 96 тестов	EI2132-9601M	EUROIMMUN
IgM (родоспециф.), количественно, в ликворе , ИФА, 96 тестов	EI2132-9601-LM	EUROIMMUN
IgM (<i>Borrelia</i> spp.), подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2131-1601-1M	EUROIMMUN
IgM (<i>B.afzelii</i>), подтверждение, вестерн- блот, 16 тестов	DY2131-1601M	EUROIMMUN
IgM (<i>B.burgdorferi</i>), мини-блот (раздельно: антиген и нативный OspC), 30 тестов	DC2132-1003M	EUROIMMUN
IgM (<i>B.burgdorferi</i>), подтверждение, вестерн-блот, 16 тестов	DY2132-1601M	EUROIMMUN
IgM (<i>B.garinii</i>), подтверждение, вестерн- блот, 16 тестов	DY2134-1601M	EUROIMMUN

Телефон (495) 737 0363, 748 1168

Факс (495) 737 0365

Бесплатная «горячая линия» (800) 200 1989

129343, Москва, а/я 93

info@analytica.ru

www.analytica.ru



АНАЛИТИКА
В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ С 1989 ГОДА

ДЛЯ ЗАМЕТОК