

# Лабораторная диагностика инфекций

## 26

TORCH-инфекция 245 Авидность АТ: применение в диагностике инфекционных заболеваний 245 Тесты для определения вирусных заболеваний 246 Тесты для определения бактериальных инфекций 266 Тесты на грибковые заболевания 280 Неоптерин при инфекционных заболеваниях 281 Паразитарные заболевания 283 Острые гастроинтестинальные инфекции 290

### сокращения раздела:

АГ – антиген  
АТ – антитела  
ИА – индекс avidности антител

ИФА – иммуноферментный анализ  
ЛПС – липополисахарид  
СК – саркома Капоши

ТБ – туберкулез  
ИГ – иммуноглобулины

**С**ерологические исследования, выполняемые для обнаружения антигенов возбудителя и специфических антител к ним при инфекционных заболеваниях, являются доступными методами лабораторной диагностики. В ряде случаев серологические исследования остаются единственным методом диагностики инфекционных заболеваний. Серологические реакции используются в двух направлениях: (1) обнаружение с диагностической целью антител в сыворотке крови обследуемого и (2) установление родовой и видовой принадлежности микроорганизма или вируса. В этом случае неизвестным компонентом реакции является антиген. Такое исследование требует постановки реакции с заведомо известными иммунными сыворотками. Достоверные результаты получают при исследовании парных сывороток крови больного, взятых в начале заболевания (3-7 день) и через 10-12 дней. В этом случае удается наблюдать динамику нарастания антител. При вирусных инфекциях лишь четырехкратное и большее повышение титра антител во второй сыворотке имеет диагностическое значение..

С помощью ИФА стало возможным определять в крови больных антитела (АТ), относящиеся к различным классам Ig (G, A, M), что существенно повысило информативность серологических методов диагностики. АТ при наличии инфекции определяются на очень ранней стадии. Это является обоснованием для выбора терапии. После ее проведения, чтобы предотвратить последующие воспалительные процессы, вызванные имеющимися возбудителями, необходимо провести терапевтический контроль – повторно определить титр АТ. АТ определяются реакцией связывания комплемента, микроиммунофлуоресцентным, иммунофлуоресцентным или иммуноферментным методами.

Определенные типы АТ могут коррелировать с различными стадиями заболевания и с динамикой заболевания/выздоровления:

- **Первичная/Активная инфекция** может быть идентифицирована определением диагностически значимого уровня IgM АТ в единственном образце или значимым ростом концентрации IgA и/или IgG АТ в парных сыворотках, взятых с интервалом 1-4 недели.
- **Реинфекция** выявляется быстрым подъемом уровня IgA и/или IgG АТ. IgA АТ имеют более высокую концентрацию у пациентов старшего возраста и более точно диагностируют текущую инфекцию у взрослых.
- **Сероконверсия.** IgM, A и G АТ могут не выявляться в первичном образце и становятся позитивными во втором.
- **Реконвалесценция.** Концентрация IgA и/или IgG АТ существенно снижается во время выздоровления (IgM АТ исчезают раньше).

- **Перенесенная инфекция.** Отмечается присутствие IgG АТ без роста их концентрации в парных сыворотках, взятых с интервалом 2 недели. Отсутствие IgA и М АТ.

**IgM АТ** повышаются вскоре после заболевания. Они определяются уже через 5 дней после его начала и достигают пика в промежутке от одной до четырех недель, затем снижаются до диагностически незначительных уровней в течение нескольких месяцев даже без проведенного лечения. Из-за раннего появления и относительно короткого времени жизни IgM АТ, их детекция позволяет диагностировать острую инфекцию при использовании единичного образца сыворотки. Молодые пациенты имеют более высокие уровни IgM АТ по сравнению со взрослыми. Определение только IgM недостаточно, т.к. отсутствие этого класса АТ еще не говорит об отсутствии заболевания. Острой формы заболевания нет, но может быть хроническая.

**IgG АТ** определяются через 15-20 дней после начала заболевания. Их уровни повышаются медленнее, чем IgM АТ, но остаются повышенными дольше, поэтому значительное повышение в двух последовательных образцах, взятых через 2 недели, может показывать текущую инфекцию или реинфекцию даже при отсутствии IgM АТ. IgG могут находиться на низком уровне в течение многих лет.

**IgA АТ** в сыворотке появляются через 10-14 дней после начала заболевания, и вначале их даже можно детектировать в семенной и вагинальной жидкостях. Уровень IgA АТ обычно снижается к 2-4 месяцу в результате успешного лечения. При реинфекциях уровень IgA вновь возрастает. Если уровень IgA не падает после проведенного лечения, то это указывает на хроническую или персистирующую формы инфекции. В течение короткого периода могут быть параллельно представлены IgM и IgA АТ. В это же время или с небольшой задержкой могут быть определены IgG АТ. IgA АТ показывают высокие уровни у пожилых пациентов и могут быть более полезными, чем IgM АТ для диагностики текущей инфекции у взрослых.

У новорожденных IgG в крови имеют, как правило, материнское происхождение. В то же время материнские IgM АТ через плаценту не проникают, поэтому присутствие в крови новорожденных специфических IgM, образование которых отмечается у плода с 14 недели развития, свидетельствует о врожденной инфекции.

Для постановки окончательного диагноза при использовании серологических методов анализа необходимо проводить определение IgA и IgG одновременно. При неясном результате IgA, подтверждение осуществляется определением IgM. Альтернативно, второй серологический образец, полученный на 8-14

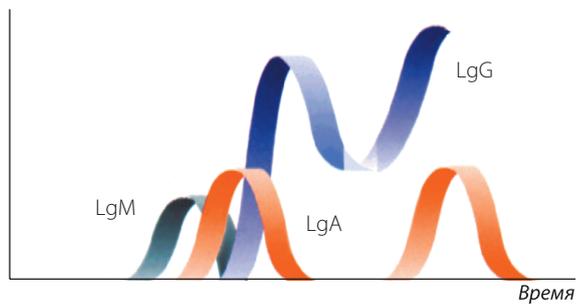
дней позже, должен быть проверен параллельно для определения роста концентрации IgG АТ. Результаты теста должны использоваться в совокупности с информацией, полученной в других диагностических процедурах.



Первичная инфекция



Хроническая стадия



Реинфекция

**Интерпретация результатов, основанных на определении комбинации IgG, М и А АТ**

Уровни АТ к			Интерпретация результатов
IgG	IgM	IgA	
-	-	-	Инфекция не выявлена
- или +	+	- или +	Текущая инфекция
+	-	-	Перенесенная или текущая инфекция
- или +	-	+	Текущая или хроническая инфекция

(-) – отрицательный результат, (+) – положительный результат

Для проведения контроля эффективности лечения важно использовать тест-системы, которые позволяют получать результаты в полуколичественном или

# Экспресс-диагностика инфекций без использования приборов

Длительность анализа составляет от 5 до 15–20 минут (в зависимости от теста)

## QuickStripe Chlamydia Ag

Иммунохроматографический экспресс-тест для качественного выявления антигенов Chlamydia в цервикальных и уретральных мазках, а также в пробах мочи мужчин. Общее согласование с ПЦР: цервикальные мазки – 93,7%; уретральные мазки – 88,3%; пробы мочи мужчин – 96,5%.

## QuickStripe™ Adenovirus

Иммунохроматографический тест для качественного выявления различных типов аденовирусов в конъюнктивальных мазках, назальных и фарингиальных секретах, фекалиях и супернатантах культур клеток. Минимальная выявляемая концентрация – около  $3.4 \times 10^6$  частиц/мл.

## QuickStripe™ Adeno/Rota

Иммунохроматографический тест для качественного скрининга антигенов аденовирусов и ротавирусов в образцах фекалий. Минимальная выявляемая концентрация – около  $1 \times 10^6$  частиц/мл для ротавируса и  $3.4 \times 10^6$  частиц/мл для аденовируса.

## QuickStripe™ Rotavirus

Иммунохроматографический тест для качественного выявления ротавирусов в образцах фекалий. Минимальная выявляемая концентрация  $1 \times 10^6$  частиц/мл.

## QuickStripe™ RSV

Иммунохроматографический тест для качественного выявления присутствия респираторно-синцитиального вируса (RSV) в назофарингиальных образцах. Минимальная выявляемая концентрация – 0,44 мкг/мл вирусного белка.

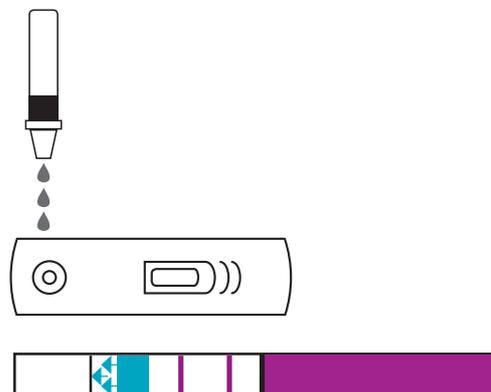


## QuickStripe™ Strep A

Иммунохроматографический тест для качественного выявления стрептококков группы А в мазках из глотки. Сравнение с результатами бактериологического анализа – 96,1% чувствительность и 95,1% специфичность теста.

## QuickStripe™ Malaria P.f./P.v.

Иммунохроматографический тест для качественного профильного выявления антител всех изотипов (IgG, IgM, IgA) специфичных к Plasmodium falciparum и Plasmodium vivax в сыворотке, плазме и цельной крови. Сравнение с результатами микроскопического исследования цельной крови показало корреляцию в 93,8% для Plasmodium falciparum и 95,3% для Plasmodium vivax.



## ТВ-Spot (тест-гребенка) – серодиагностический тест для выявления туберкулеза. (SPAN, Индия)

Тест позволяет обнаруживать антимикобактериальные антитела в сыворотке, в плазме или в цельной крови (с антикоагулянтом). Идеально подходит для скрининга больных активным туберкулезом. Чувствительность теста ТВ-Spot 80 – 85%, а специфичность – 95%.

## Экспресс тест система Signal HCV Flow through на антитела к вирусу гепатита С.

Тест для качественного выявления антител к вирусу гепатита С в сыворотке или плазме человека. В наборе использованы рекомбинантные антигены (NS3, NS4, NS5 и капсидный белок) вируса гепатита С.

## Combaids – RS Advantage

Тест-система Combaids – RS Advantage – иммунодот, предназначенный для качественного определения антител к ВИЧ 1 и/или 2 в цельной крови, сыворотке или плазме.

количественном варианте. Для полуколичественного варианта проведения методики рассчитывается отношение между средней оптической плотностью образца и оптической плотностью Cut-off. Образцы рассматриваются как:

- Положительные: если отношение  $> 1,1$ .
- Сомнительные: если  $\pm 10\%$  от Cut-off.
- Отрицательные: если отношение  $< 0,9$ .

Если результат сомнителен, необходимо повторить тест через 10-14 дней.

### TORCH-инфекция

За последние годы заметно вырос интерес к изучению роли различных микроорганизмов в этиологии воспалительных заболеваний мочеполовой системы. Как правило, эти заболевания поражают человека в период его наибольшей половой активности и нередко сопровождаются осложнениями, приводящими к бесплодию или внутриутробной инфекции, обуславливая врожденную патологию плода и новорожденного. Внутриутробные инфекции занимают особое место в акушерской практике. Достоверные данные об истинной распространенности пренатальных инфекций отсутствуют, однако, какой бы ни была их частота, нет сомнений в том, что они создают серьезные социально-экономические проблемы, т.к. во многих случаях инфицированный новорожденный с тяжелой патологией впоследствии нуждается в помощи на протяжении всей жизни. Для обозначения возбудителей инфекций этой группы в 1971 г. была предложена аббревиатура «TORCH-инфекция»:

- T** (toxoplasmosis) – токсоплазмоз;
- O** (others) – другие инфекции (гепатиты, сифилис, хламидиоз, листериоз и др.);
- R** (rubella) – краснуха;
- C** (citomegalia) – цитомегаловирусная инфекция;
- H** (herpes) – герпес.

Несмотря на определенные различия в этиологии заболеваний этой группы, их клинические проявления и характер воздействия на развивающийся плод имеют ряд общих особенностей: поражение ЦНС, органов зрения, эндотелия. Отсутствие проявления симптомов TORCH-инфекции не может исключать факта врожденного заражения и развития болезни в будущем. В связи с этим необходимо проводить диагностику данных инфекций во время беременности и в перинатальном периоде. В связи с тем, что TORCH-инфекции имеют большое разнообразие клинических проявлений как по интенсивности патологического процесса, так и по его локализации, лабораторная диагностика, основанная на методах выявления специфических АТ, приобретает исключительное значение (см. ниже). У ребенка с подозрением на врожденную инфекцию

желательно одновременно определять специфические IgM АТ к цитомегаловирусу, к вирусам краснухи и простого герпеса, к токсоплазме, а также к различным формам гепатита.

### Авидность АТ: применение в диагностике инфекционных заболеваний

NEW

Для того, чтобы установить точный момент инфицирования и разграничивать первичную процесс, реинфекцию или реактивацию инфекционного процесса, предложен тест на определение авидности IgG АТ. Определение авидности АТ представляет интерес при диагностике краснухи, токсоплазмоза, инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса, цитомегаловирусом.

Определение IgM, как показателя первичной инфекции, в ряде случаев утратило свое значение, т.к. было доказано, что их можно выявить в сыворотке периферической крови спустя месяцы или даже годы после наступления сероконверсии. Кроме того, выявление IgM может дать ложнопозитивные результаты, например, вследствие вторичной инфекции (экзогенная реинфекция или эндогенная реактивация инфекции). Было показано, что специфические IgA также могут присутствовать в сыворотке периферической крови через 2-3,5 года с момента зарегистрированной сероконверсии.

При повторной инфекции краснухи у вакцинированных, которая может произойти в случаях низкого иммунного ответа при вакцинации, или может быть вызвана мутантными штаммами вируса, IgM АТ не образуются, возрастание титров IgG АТ также наблюдается не всегда. У новорожденных с первичной инфекцией краснухи вследствие внутриутробного инфицирования IgM АТ могут не синтезироваться в силу ряда причин:

1. незрелость иммунной системы
2. блокирование вирусного АГ материнскими АТ
3. инфицирование на поздних стадиях беременности
4. иммунная толерантность

У пациентов с реактивацией хронического токсоплазмоза значительный рост уровня IgG АТ отмечается не всегда, особенно это касается детей и подростков с поражением глаз при врожденном токсоплазмозе. Интерпретация результатов исследований других Ig также вызывает затруднения. Основной недостаток определения IgM АТ при токсоплазмозе и ряде других заболеваний – длительная персистенция возбудителя, в связи с чем возникают трудности в установлении окончания острой фазы заболевания.

АТ обладают двумя важнейшими свойствами: аффинностью (аффинитетом) и авидностью (авидитетом). Аффинность – это степень специфического

сродства активного центра АТ к АГ-детерминанте, авидность – это степень прочности связывания АТ с АГ. Чем выше аффинность (степень сродства), тем выраженнее и авидитет (прочность связывания).

В ИФА тест-системах используют показатель индекса авидности АТ (ИА). Суть метода заключается в следующем. При инкубации тестируемых сывороток с адсорбированными АГ образуются иммунные комплексы. После промывания планшета в часть лунок добавляют раствор, который способствует удалению «ранних» IgG, отличающихся низкой авидностью. После внесения конъюгата регистрируют его связывание с комплексом АТ-АГ с помощью раствора хромогена. Интенсивность окраски пропорциональна количеству АТ к АГ в образце. После остановки ферментативной реакции измеряют оптическое поглощение окрашенного раствора с помощью спектрофотометра. Присутствие в исследуемом образце специфических АТ с низкой авидностью определяется снижением интенсивности окрашивания по сравнению с лунками без раствора, удаляющего «ранние» IgG. ИА испытуемых сывороток рассчитывают (в %) по формуле:

$$IA = \frac{OP_1}{OP_2} \times 100\%, \text{ где}$$

OP<sub>1</sub> – оптическая плотность в лунках с АГ после обработки раствором, удаляющим низкоавидные IgG;

OP<sub>2</sub> – оптическая плотность в лунках с той же сывороткой, не обработанных раствором.

Выявление в испытуемой сыворотке АТ с ИА ниже 15-50% (у разных производителей и разных возбудителей этот показатель отличается и указывается в бланке исследования) подтверждает острую первичную инфекцию. ИА, равный или превышающий 50%, свидетельствует о наличии в сыворотке высокоавидных АТ – маркеров перенесенной в прошлом или персистирующей инфекции. ИА в интервале 31-49% может свидетельствовать о поздней стадии первичной или недавно перенесенной инфекции только при условии выявления АТ в высокой концентрации. Интерпретацию результатов определения ИА необходимо проводить в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя, т.к. величина ИА для одной и той же стадии заболевания может колебаться в широких пределах.

Таким образом, определение авидности АТ к данному возбудителю позволяет выделить первичную инфекцию, дифференцировать ее от периода реактивации или вторичного проникновения АГ в организм.

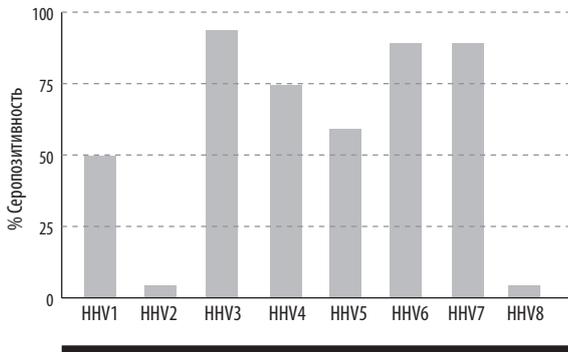
Данный тест рекомендуется применять для пациентов, в сыворотке которых обнаружены IgM.

## Тесты для определения вирусных заболеваний

### Герпесвирусы

Герпесвирусы (от греч. *herpes*, ползучее поражение кожи) представляют собой группу сравнительно крупных ДНК-содержащих вирусов. Они отличаются друг от друга по нуклеотидной последовательности и составу белков, но все имеют сходные структуру вириона и организацию генома. Сегодня известно о существовании более 100 герпесвирусов, причем 8 из них обычно инфицируют только людей (семейство *Herpesviridae*).

Обозначение	Общепринятое название	Клинические диагнозы
HSV-1 (HHV-1)	Вирус простого герпеса 1 типа	Герпес кожи и слизистых, нейрогерпес, офтальмогерпес, генитальный герпес, интерстициальная пневмония, герпетиформная экзема Капоши
HSV-2 (HHV-2)	Вирус простого герпеса 2 типа	То же
VZV (HHV-3)	Вирус варицелла-зостер	Веряная оспа, офтальмогерпес, опоясывающий лишай, постгерпетическая невралгия
CMV (HHV-5)	Цитомегаловирус	Цитомегалия, врожденная цитомегалия, гепатит, доброкачественная лимфома, интерстициальная пневмония
HHV-6	Вирус <i>Exanthema subitum</i> (внезапная экзантема)	<b>HHV-6 вариант В:</b> розеола новорожденных (шестое заболевание). Синдром мононуклеоза, лимфоаденопатия, фокальный энцефалит. <b>HHV-6 вариант А:</b> синдром хронической усталости
HHV-7	Вирус герпеса 7 типа	Розовый лишай?, синдром хронической усталости и иммунной депрессии
EBV (HHV-4)	Вирус Эпштейна-Барр	Инфекционный мононуклеоз, лимфоаденопатия, лимфома Беркитта, волосатоклеточный лимфолейкоз
KSHV (HHV-8)	Герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши	Саркома Капоши



### Вирус простого герпеса 1 и 2 типа (HSV1 и 2)

*Herpes simplex* является ДНК-содержащим вирусом из семейства *Herpetoviridae*. Два распространенных в природе варианта вируса герпеса имеют различные биологические и эпидемиологические характеристики. Оба типа вируса вызывают у людей инфекционные заболевания разной степени остроты от характерных высыпаний на коже и слизистых до энцефалитов. HSV1 обычно инфицирует слизистые глаз, рта и места перехода эпидермиса в эпителий слизистой оболочки на лице, а также является одной из наиболее распространенных причин острых неэпидемических энцефалитов у взрослых. HSV2 обычно ассоциируется с повреждением слизистых половых органов: генитальный герпес – это одно из наиболее часто передаваемых половым путем заболеваний. Однажды возникнув, инфекция персистирует в латентной форме в сенсорных ганглиях, вызывая периодические обострения.

АТ к HSV-1 имеют 35% детей в возрасте 5 лет и 80% взрослых старше 25 лет. В популяции людей распространение HSV1 составляет 70-85%, а 2-го типа – 4-7%. IgG к HSV2 встречаются у 6% людей в возрасте 20-29 лет. Несмотря на присутствие циркулирующих антивирусных АТ, рецидивирующая инфекция часто возникает при участии обоих типов вирусов. Беременные женщины, инфицированные генитальным герпесом, имеют в 2-3 раза более высокую вероятность спонтанного аборта и преждевременных родов, чем неинфицированные. Активное выделение генитального вируса у беременных женщин может приводить к острой неонатальной герпетической инфекции, приобретаемой при прохождении новорожденного через инфицированные половые пути (риск заражения новорожденных 40-60%), что ведет к высокой заболеваемости и смертности при отсутствии терапии.

Быстрая и точная диагностика герпетической инфекции необходима, чтобы уточнить этиологию, оценить динамику заболевания и гарантировать своевременное назначение селективной антивирусной химиотера-

пии с целью ограничения распространения инфекции. IgM детектируются через неделю после заражения. Это является доказательством наличия первичной или рецидивирующей инфекции. Специфические IgG АТ обычно появляются через 2-3 недели после первичного инфицирования. У пациентов с рецидивирующим заболеванием часто не обнаруживается увеличение концентрации IgG АТ. Целью диагностики текущей (первичной инфекции или рецидива) герпетической инфекции с помощью совместного тестирования наличия АТ к HSV1 и 2 является оценка иммунного статуса пациента и выявления вируса определенного типа.

Многие тест-системы дают более высокий процент частоты встречаемости HSV2. Это связано с наличием общих АГ-детерминант и перекрестной реактивности с АГ HSV1. Только по двум иммуногенным белкам цельного вируса можно детектировать отдельно герпес 1-го и 2-го типа (белок 130 kDa для HSV1 и 92 kDa для HSV2).

ЗАО «БиоХимМак» предлагает высокочувствительные и специфичные иммуноферментные тест-системы для определения антител к HSV1 и 2, производимые компанией BCM Diagnostics (США). В этих наборах элиминировано неспецифическое связывание путем введения соответствующего антигена так, что остается свободным единственный эпитоп для специфического образования комплекса. Количество ложноположительных результатов этих наборов в 4-5 раз ниже по сравнению с другими иммуноферментными тест-системами. При этом специфичность тест-систем по определению IgG АТ к вирусу HSV1 и 2 сопоставима с данными иммуноблотинга и достигает 100%.

### Вирус опоясывающего герпеса, ветряная оспа (*Varicella zoster, VZV*)

Ветряная оспа и опоясывающий лишай – две клинические формы инфекции, вызываемой вирусом VZV. Ветряная оспа или ветрянка является высоко контагиозной болезнью, которая следует за первичным инфицированием VZV и характерна для детского возраста. Во время беременности VZV-инфекция может вызвать болезнь или пороки развития у плода; и если это случается в конце беременности, то это может быть фатально для новорожденного. Опоясывающий лишай – болезнь, которая чаще проявляется у взрослых, и может быть вызвана реактивацией вируса, персистирующего в латентной форме в спинальных сенсорных ганглиях после первичной инфекции. Заболевание сопровождается болезненными кожными сыпями по ходу воспаленного нерва.

Серологические методы обычно используются, чтобы определить иммунный статус лиц группы риска (в основном иммунодепрессивных пациентов) и в пре- и постнатальной диагностике инфицированных.

ИФА используют для диагностики и определения иммунного статуса. Обычно наличие АТ можно выявить уже через 2-3 дня после появления сыпи. Уровень IgM АТ затем снижается в течение нескольких месяцев, а IgG могут персистировать годы. Пассивно приобретенные АТ могут быть выявлены до восьми недель после получения VZ Ig.

### Методы диагностики VZV инфекции

Метод	Примечание
Культуральный	«Золотой стандарт» в диагностике. Трудоемкий метод. Для демонстрации цитопатического эффекта может потребоваться неделя. Везикулярная жидкость положительна только в первые дни после появления сыпи.
Прямая иммунофлуоресценция	Наиболее распространены моноклональные АТ к гликопротеину Е, конъюгированные с флуоресцеином. Результат доступен через несколько часов.
ПЦР	Полезен для диагностики в то время, когда уже поздно использовать культуральный метод. Можно использовать для спинномозговой жидкости.
Серологические методы	Очень важен для установления иммунного статуса.

### Цитомегаловирус (CMV)

CMV распространен повсеместно в человеческой популяции. Пожизненно персистирующий вирус передается воздушно-капельным, половым, трансплацентарным путями или при переливании крови, трансплантациях (ятрогенная передача).

Обычно первичная инфекция у иммунокомпетентных пациентов протекает бессимптомно. Большое разнообразие клинических проявлений CMV зависит от возраста и иммунного статуса. У людей с ослабленным иммунитетом, таких как реципиенты трансплантации, больные ВИЧ или онкологическими заболеваниями, инфекция CMV может приводить к серьезной болезни, опасной для жизни. Особенно опасна первичная инфекция во время беременности (внутриутробная передача вируса происходит примерно в 40% случаев). У инфицированных новорожденных примерно в 10% всех случаев развиваются серьезные нарушения. Вертикальная передача CMV к плоду может также сопровождать повторную инфекцию матери. Однако

клинические последствия повторной инфекции более умеренные и прогноз для новорожденного более благоприятный.

Повреждения органов, вызванные CMV, наблюдаются с различной частотой, в зависимости от группы пациентов. Так, CMV является причиной, ретинитов и колитов у больных СПИДом, или пневмонии у пациентов после трансплантации. Кроме того, он может действовать опосредованно, через свои иммуномодулирующие свойства (например, вызывать снижение устойчивости к бактериальным и грибковым инфекциям). Среди тяжелых осложнений отмечены атипичная пневмония (высокая смертность) и редкие случаи энцефалита. Кроме того, CMV может вызвать отторжение трансплантата.

Используемые в настоящее время методы диагностики CMV основаны либо на определении CMV-специфических АТ, либо на определении собственно вируса или вирусных компонентов (например, выделение вируса, pp65 АГ, ПЦР).

Серологическая диагностика CMV инфекции имеет очень большое значение и требуется в особенности в следующих случаях:

- выявления первичной инфекции
- определения статуса инфекции у доноров и реципиентов трансплантатов
- определения статуса инфекции у доноров крови
- диагностика у беременных

Скрининг на CMV-специфические АТ обычно проводится с помощью метода ИФА. С помощью этого метода можно получить как качественную, так и количественную оценку гуморального иммунного ответа. Однако в ряде случаев бывает достаточно сложно однозначно определить статус инфекции (первичная, реактивация или перенесенная инфекция). Диагностика может быть дополнена определением avidности IgG АТ. Это позволяет получить дополнительную информацию, т.к. определение avidности основано на процессе созревания IgG АТ в ходе гуморального иммунного ответа на CMV. Низкая avidность IgG свидетельствует о первичной инфекции, тогда как высокая – типична для прошедшей или реактивированной инфекции. Следовательно, первичная и прошедшая инфекция могут быть дифференцированы, основываясь на avidности IgG АТ. Это очень важно, т.к. специфический IgM-ответ может быть индуцирован как при первичной, так и при реактивированной инфекции. Кроме того, могут выявляться остаточные титры IgM или персистирующие IgM АТ давно прошедшей инфекции. Присутствие IgM АТ не является достаточным критерием острой инфекции CMV, особенно в тех редких случаях, когда острая CMV инфекция может индуцировать только очень слабые и даже вообще неопределяемые уровни IgM АТ (IgM «низкая иммунологическая реактивность», IgM «низкоотвечающий»).

Для точной интерпретации статуса инфекции целесообразно использовать иммуноблотинг. Преимуществом этого метода является то, что с его помощью можно определить реактивность индивидуальных АГ. На ранней стадии инфекции обычно обнаруживаются АТ к белкам оболочки р150 и р65, а также к неструктурным белкам IE1 и CM2. АТ к гликопротеинам В1 и В2В в норме развиваются впервые через 6-8 недель после первичной инфекции. Еще больше информации можно получить, используя иммуноблот с возможностью определения avidности АТ.

### Вирус герпеса 6 типа (HHV-6)

NEW

HHV-6 был впервые выделен в 1986 году из периферической крови пациентов, страдающих лимфопролиферативными расстройствами.

**Педиатрия.** Большая часть случаев первичного инфицирования приходится на детей в возрасте от 4 до 24 месяцев. Часто инфекция протекает бессимптомно. Клинически *Exanthema subitum*/розеола проявляется в виде быстро развивающейся сильной лихорадки, продолжающейся в течение 3-4 дней. Через несколько часов после нормализации температуры появляются эритематозные пятна или пятнисто-папулезная сыпь. Сходство клинических признаков розеолы с проявлениями кори или краснухи зачастую приводит к постановке ошибочного диагноза. Так, в одном из исследований (Tait et al.) было проанализировано 103 пробы детей в возрасте 10-120 недель с диагнозом корь или краснуха. Оказалось, что 85% проб были позитивны по IgG АТ к HHV-6. Таким образом, корректная диагностика HHV-6 позволяет сэкономить время и средства, потраченные на ненужное тестирование в отношении более серьезных детских заболеваний.

Следует отметить, что, однажды попав в организм, HHV-6 персистирует в нем на протяжении всей жизни (в моноцитах, клетках-предшественниках костного мозга; при хронической инфекции – в слюнных железах) и впоследствии может легко активироваться при повреждении иммунной системы (например, после трансплантации органов, СПИД и т.д.).

**Трансплантология.** Известно, что HHV-6 относится к вирусам, способным вызывать серьезные осложнения или отторжение трансплантата у реципиентов. Осложнения вследствие активации HHV-6 инфекции отмечены у пациентов после трансплантаций костного мозга, почек, печени, легких. Реактивация вируса ассоциирована с появлением (или повторным появлением в случае предшествующего заражения) IgM АТ к HHV-6. Этот процесс может протекать бессимптомно или сопровождаться различными осложнениями. В частности, пациенты после трансплантации костного мозга часто страдают от заболеваний, обусловленных HHV-6 (интерстициальная

пневмония, супрессия костного мозга, менингоэнцефалит). По некоторым оценкам реактивация HHV-6 является причиной 80% случаев идиопатической лейкопении у пациентов после трансплантации печени и т.д. Распознавание HHV-6 инфекции у реципиентов трансплантаций очень полезно в клинической практике, так как эта инфекция потенциально может поддаваться лечению с помощью противовирусных препаратов.

**СПИД.** Пациенты с ВИЧ-1-связанными заболеваниями составляют еще одну категорию иммуносупрессированных лиц, у которых реактивация HHV-6 может приводить к серьезным осложнениям (поражения ЦНС, пневмонии и пр.) и прогрессированию основного заболевания. Показано, что HHV-6 способен поражать те же CD4<sup>+</sup> Т-клетки, что и ВИЧ. При этом HHV-6 усиливает индукцию CD4-рецепторов на поверхности Т-клеток, что позволяет большему количеству частиц ВИЧ связываться с клеткой. Кроме того, HHV-6 может способствовать переходу ВИЧ из латентной в репликативную фазу. HHV-6 является самым нейровирусом семейства герпесвирусов. По некоторым оценкам, частота поражений ЦНС,



вызываемых HHV-6, у пациентов со СПИД составляет 60-70%. Мониторинг ВИЧ-положительных пациентов в отношении присутствия активной HHV-6 инфекции представляется очень полезным, особенно сегодня, когда стало возможным соответствующее лечение.

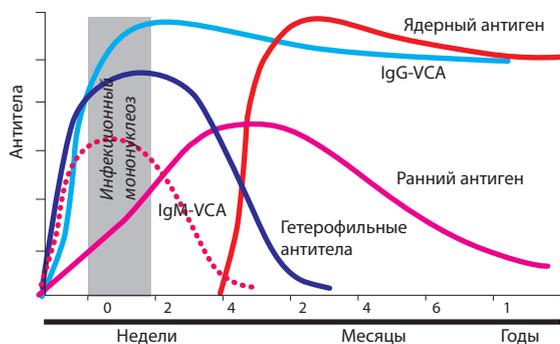
**Множественный склероз (МС).** Известно, что HHV-6 может вносить определенный вклад в патогенез МС. Сегодня достаточно хорошо исследована взаимосвязь между HHV-6 и развитием МС. Так, например, отмечен высокий уровень IgM и IgG АТ к HHV-6 АГ в сыворотке пациентов с МС. При этом ранее было показано, что этот АГ ассоциирован с МС-бляшками.

### Вирус Эпштейна-Барр (EBV, Epstein-Barr)

EBV, описанный впервые в 1964 г. у пациента с лимфомой Беркита является одним из самых распространенных вирусов у людей. После первичной инфекции вирус в течение инкубационного периода остается в В-лимфоцитах и эпителии слизистой носа и глотки. Детям чаще всего вирус передается через слюну, при этом инфекция у них часто проходит бессимптомно или субклинически. Второй пик инфицирования наблюдается у молодых людей в возрасте от 14 до 20 лет. В 2/3 случаев может развиваться инфекционный мононуклеоз (железистая лихорадка Пфайффера, «болезнь поцелуев»). Клинические симптомы – потеря аппетита, усталость, лихорадка, сыпь, фарингит, тонзиллит, лимфангит, лей-

коцитоз, головные боли, ревматические боли и нарушения работы печени. Эти проявления сопровождают инфекцию, литический цикл вируса в В-лимфоцитах и последовательный иммунный ответ. В некоторых случаях могут возникать серьезные осложнения, такие как гемолитическая анемия, пневмония, неврологические или кардиологические нарушения.

EBV персистирует на протяжении всей жизни в В-лимфоцитах и отдельных клетках эпителия. Более 90% взрослых людей сероположительны и являются вирусносителями EBV. В-лимфоциты, инфицированные EBV, приобретают так называемое «бессмертие», т.е. способность бесконечно пролиферировать. Эта способность, в норме контролируемая или супрессируемая иммунной системой, в совокупности с хромосомными изменениями, может приводить к тяжелым злокачественным заболеваниям. Это лимфопролиферативные нарушения, вследствие иммунодефицитов, вызванных заболеванием (например, СПИД), или приемом иммуносупрессоров (поликлональная лимфома) или лимфома Беркита. Вместе с дополнительными кофакторами, EBV может быть причиной назофарингеальной карциномы.



**Сероконверсия при инфекции EBV**

В серологической диагностике EBV выявляют АТ в основном к трем классам АГ: EA – ранние АГ, VCA – капсидные/структурные АГ и EBNA – ядерные АГ, экспрессируемые на протяжении латентной фазы. Во время литического цикла вируса происходит каскадное образование различных регулирующих белков на ранней фазе («предранние; ранние АГ», EA), а позднее и структурных белков («вирусные капсидные АГ»; VCA и мембранные белки; MA). В латентном состоянии образуются только отдельные АГ, включая EBNA 1-6 (ядерный АГ). После инфицирования могут быть обнаружены IgM и А АТ к EA, а несколько позже VCA-IgM. Анти-EA- и анти-VCA-p23-IgG также можно выявить после первичной инфекции, тогда как типичные анти-EBNA-1 не обнаруживаются на протяжении недель или месяцев после инфекции. Это относится и к анти-VCA-p18-IgG, что позволяет проводить дифференциацию между первичной инфекцией и пер-

систенцией или реактивацией EBV. Как и в случае других герпесвирусных инфекций, реактивация EBV инфекции может произойти у пациентов с иммунодефицитами или при приеме иммуносупрессоров; в этом случае титр IgG/M/A АТ к ранним АГ EBV может снова повышаться.

К сожалению, в настоящий момент не существует эффективных систем с использованием культур клеток для EBV, а экстракция АГ для серологических исследований не очень эффективна. По этой причине в последние годы был разработан способ получения рекомбинантных АГ, благодаря которому стало возможным целенаправленное использование соответствующих эпитопов для поставленных диагностических задач.

Тест-система *recomBlot* (Mikrogen, Германия) основана на использовании рекомбинантных АГ EBV, содержащих два члена семейства ранних АГ, два вирусных капсидных Аг, поздний мембранный и ядерный АГ, образующийся в латентно инфицированных клетках. Таким образом, всего за один анализ можно выявить наличие АТ против наиболее важных АГ EBV. Подобные тест-системы служат для подтверждения результатов анализов, полученных методами иммуноферментного анализа и непрямой иммунофлуоресценции. Иммуноблот позволяет с большей достоверностью установить диагноз и дает возможность определить фазу заболевания. По оценке ряда специалистов этот метод можно считать «золотым стандартом» в серологической диагностике EBV инфекции.

**Ключевые АГ различных фаз EBV инфекции**

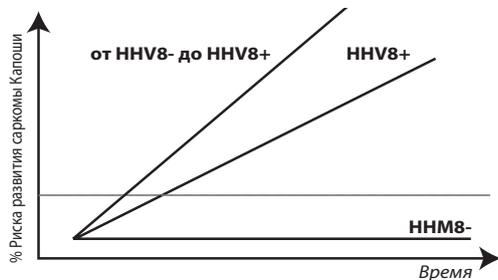
Название	Классификация	Соответствие статусу EBV
г-EBNA-1	EBNA	Титр IgG периодически отсутствует при первичной инфекции; основной показатель прошедшей инфекции. Значение для IgM и IgA к настоящему моменту не описано.
г-p138 и г-p54	EA	Возможна реактивность IgG, M и A во всех фазах кроме прошедшей инфекции; при первичной инфекции вероятно для всех классов АТ.
г-p23	VCA	Часто определяется реактивность IgG и M в начале инфекции EBV; реактивность IgG остается определяемой и при прошедшей инфекции.
г-p18	VCA	Титр IgG чаще всего отсутствует при первичной инфекции; индикатор прошедшей инфекции; возможно присутствие IgM реактивности уже на ранней стадии.
г-gp250/350	Мембранный АГ	При первичной инфекции очень часто наблюдается титр IgM, IgG реактивность выявляется реже.

**EBV инфекция – типичные схемы реактивности**

Нет EBV-специфических IgG, М и АТ	EBV-отрицательная
IgG: EBNA-1 и г-р18 отрицательные (р23 и EA's возможны) IgM: EA (г-р54 и/или г-р138) положительные; VCA (г-р18, г-р23) возможно	Первичная инфекция – инфекционный мононуклеоз
IgG: EBNA-1 и/или г-р18 (VCA) положительные, г-р23 (VCA) и г-р250/350 часто положительные; возможен слабый титр EA IgM: негативные	Прошедшая инфекция
IgG: как и в случае прошедшей инфекции, дополнительная слабая реактивность к EA АГ IgM: слабая реактивность к EA и/или VCA	Вторичная реактивация (нет клинической значимости)
IgG: строго реактивны ко всем АГ, в редких случаях отсутствуют анти-EBNA-1 IgM: слабореактивные с EA и VCA возможно IgA: очевидная реактивность с EA и/или VCA	Реактивация (повторное возникновение литической пролиферации EBV у лиц с латентной инфекцией)
Серологическая картина идентична реактивации (высокие титры IgA!!)	NPC и EBV-ассоциированная лимфома

**Вирус герпеса 8 типа (HHV8)**

**NEW** Известно, что инфекция HHV-8 связана со всеми формами саркомы Капоши (СК), включая СПИД-ассоциированную СК, классическую (средиземноморскую), эндемическую (африканскую) и трансплантат-ассоциированную СК. Таким образом, все эти формы заболевания имеют общую этиологию при эпидемиологических различиях. Выявление АТ к HHV-8 и контроль за их уровнем позволяют выработать превентивную и терапевтическую тактику в отношении пациентов из группы риска или уже имеющих заболевание. Есть данные о взаимосвязи HHV-8 и мультицентрического заболевания Капостельмана, первичной истекающей лимфомы, множественной миеломы.



**Трансплантология.** Лимфопролиферативные расстройства относятся к достаточно часто встре-

чающимся осложнениям после трансплантации органов и поражают от 2 до 10% пациентов. Такие осложнения, обусловленные HHV-8, характерны для трансплантаций почек, печени, костного мозга и легких. В частности, у 13% пациентов с пересадкой почки, инфицированных HHV-8, развивается СК. Не так давно было показано, что присутствие АТ к HHV-8 до и после трансплантации почки является важным прогностическим фактором, позволяющим предсказать возможность развития в дальнейшем СК. Оказалось, что у таких пациентов риск развития СК возрастает в 28 раз.

**СПИД.** Инфицирование HHV-8 приводит к развитию клинической СК у ВИЧ+ пациентов в среднем в течение 3 лет. СК поражает около 20% больных СПИД. Максимальному риску развития СК подвергаются лица, у которых выявлены АТ к HHV-8. ВИЧ-инфицированные пациенты серонегативные в отношении HHV-8 не заболевают СК или подвергаются минимальному риску.

**Вирусные гепатиты**

Гепатит (*hepatitis*) – заболевание, характеризующееся поражением печени с признаками воспаления. Этот термин может использоваться для обозначения как самостоятельного заболевания, так и компонента полисистемного или генерализованного патологического процесса. Гепатит по своей этиологии может быть результатом неинфекционного процесса (токсический) и воздействия инфекционного агента вирусной или бактериальной природы (инфекционный). К вирусным гепатитам (ВГ) относят заболевания печени, вызываемые рядом гепатотропных вирусов, распространенных во всем мире. Сегодня выделяют 6 различных вирусов, на долю которых приходится 90% от всех случаев ВГ.

Вирус гепатита	Семейство	Способ передачи	Заболевание
A (HAV)	<i>Picornaviridae</i>	орально-фекальный	только острые гепатиты
E (HEV)	<i>Caliciviridae</i>	орально-фекальный	острые и хронические гепатиты
B (HBV)	<i>Hepadnaviridae</i>	парентеральный	гепатиты, часто переходящие в цирроз и гепатоцеллюлярную карциному
D (HDV)	вириод	парентеральный	
C (HCV)	<i>Flaviviridae</i>	парентеральный	
G (HGV)	<i>Flaviviridae</i>	парентеральный	

Диагностика ВГ производится с учетом клинических признаков, данных биохимических анализов кро-

ви и мочи. Клиническая картина острого периода при всех видах ВГ имеет сходный характер, поэтому окончательный этиологический диагноз может быть поставлен только с помощью специфических иммунодиагностических методов.

### Вирусный гепатит А (ВГА)

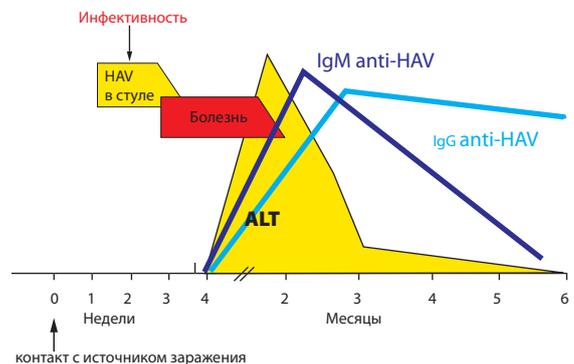
**NEW**

ВГА распространен во всем мире, однако наиболее часто встречается в регионах с плохими санитарными условиями и низким социально-экономическим статусом. HAV, передающийся, в основном, фекально-оральным путем, распространяется при тесном контакте между людьми. Также возможны водный и пищевой пути передачи инфекции. Вспышки ВГА часто происходят в районах с повышенной плотностью населения, в переполненных больницах, тюрьмах и т.д. Возможен, но редок, парентеральный механизм передачи HAV в краткий (обычно менее трех недель) период вирусемии у больных. Практически отсутствуют данные о передаче HAV от матери плоду трансплацентарно.

Вирион представляет собой сферическую частицу диаметром около 28 нм. HAV геном представлен линейной одноцепочечной молекулой РНК. Было показано, что все выделенные на сегодняшний день изоляты HAV принадлежат к одному серотипу. Не выявлено перекрестной антигенной реактивности HAV с другими вирусами гепатита. Инкубационный период ВГА составляет в среднем 30 дней (варьирует от 15 до 50 дней). HAV-АГ можно обнаружить в фекалиях приблизительно за 1-2 недели до проявления клинических симптомов и в течение недели впоследствии. После того, как HAV-АГ перестает определяться в стуле, становится возможным выявление АТ к нему в сыворотке крови. Эти АТ затем персистируют на протяжении всей жизни пациента, обеспечивая долговременный иммунитет к реинфекции HAV. Определение общих АТ (анти-HAV) или специфических IgM АТ (IgM анти-HAV) в сыворотке позволяет установить диагноз ВГА. Тест на общие АТ не позволяет провести дискриминацию между различными классами Ig. Тем не менее, присутствие общих анти-HAV является свидетельством воздействия HAV. Подобный тест не позволяет разграничить настоящую и прошлую инфекцию и, следовательно, с максимальной пользой может использоваться в эпидемиологических целях и в диагностике скрытого ВГА. В тех регионах, где случаи заболевания ВГА достаточно редки, определение общих анти-HAV АТ может быть первым этапом в установлении диагноза.

Присутствие анти-HAV в сыворотке указывает на предыдущее воздействие вируса в прошлом и наличие иммунитета к нему. Вследствие этого их определение очень актуально при установлении приобретенного иммунитета, как являющегося результатом

натуральной HAV-инфекции, так и поствакцинального. Этот тест может быть очень полезен для выявления HAV-восприимчивых лиц в скрининговых программах, предшествующих вакцинации. Серологическая диагностика острого ВГА, как и в случае других вирусных инфекций, зависит от выявления IgM АТ. Присутствие IgM АТ в циркуляции однозначно указывает на наличие текущей или недавней HAV-инфекции. Анти-HAV IgM АТ появляются спустя несколько дней после инфицирования, быстро достигают своих пиковых значений и персистируют в повышенных концентрациях в кровяном русле на протяжении приблизительно 2 месяцев перед поздней конвалесценцией. Однако чувствительные методы иммуноанализа позволяют выявлять IgM даже через год после острого гепатита.



**Вирусный гепатит А, серологический профиль (острая инфекция) по Coppola et al.**

#### Клиническое значение маркеров ВГА

Клиническое значение	Общие анти-HAV	IgM анти-HAV	AST/ALT*
Восприимчивость к HAV	-	-	-
Острая HAV-инфекция	+	+	+
Недавняя инфекция	+	-	+
Не HAV-гепатит	-	-	+
Пастинфекция, иммунизация, состояние после вакцинации	+	-	-

\*AST – аспартат аминотрансфераза; ALT – аланин аминотрансфераза

### Вирусный гепатит В (ВГВ)

**NEW**

ВГВ является эндемичным для всех районов и зон в мире. Инфекция распространяется через поврежденные слизистые покровы при контакте с инфицированной кровью,

при многократном использовании игл для инъекций и шприцов. HBV обнаружен практически во всех жидкостях человеческого организма. Известно, что он может передаваться также при орально-генитальном контакте. HBV может передаваться в родах от матери к новорожденному (вертикальный путь передачи). Инкубационный период для ВГВ в среднем составляет 90 дней (40-180 дней). Около 95% взрослых, больных ВГВ, полностью выздоравливают после острой формы, около 1% умирают от фульминантной формы гепатита, и около 5-10% становятся хроническими носителями. По данным ВОЗ в мире насчитывается более 300 млн. носителей HBV, из них 5 млн. – россияне.

HBV представляет собой вирион диаметром 42 нм, имеющий внешнюю поверхность или «конверт», который несет на себе поверхностный АГ (HBsAg). В «конверте» находится внутреннее ядро, которое содержит ядерный АГ (HBcAg). Внутри ядра находится ДНК HBV. Другой АГ – е-АГ ВГВ (HBeAg), является вирусным ядерным белком, обнаруженным в крови во время активной репликации вируса. Также в плазме крови были обнаружены сферические и трубчатые частицы 20 нм в диаметре в пропорции  $10^2$ - $10^6$  от неполных частиц взрослого вириона. Эти поврежденные частицы содержат пустые «конверты» HBsAg, не содержащие ни вирусный нуклеокапсид (HBcAg), ни нуклеиновую кислоту (HBV-ДНК).

Вследствие того, что HBV очень нелегко выделить в клеточной культуре, вся диагностика ВГВ основана на определении серологических маркеров. HBsAg является первым маркером, выявляемым в токе крови задолго до появления клинических симптомов. Он является вирусным компонентом, обычно определяемым в высоких концентрациях в сыворотке крови HBV-инфицированных больных. HBsAg относится к гетерогенным АГ. Согласно приказу Минздрава РФ N 322 от 21 октября 2002 г., в практике здравоохранения для выявления HBsAg могут применяться тест-системы с чувствительностью не меньше 0,1 нг/мл (Ме/мл).

Наличие в сыворотке крови HBsAg может указывать на: а) острый ВГВ, б) хронический ВГВ, в) состояние бессимптомного носительства. Диагностическая значимость обнаружения HBsAg в сыворотке крови зависит от наличия или отсутствия других маркеров ВГВ, данных клинического осмотра и анализа истории болезни. Тест на HBsAg является значимым для скрининга доноров и позволяет сократить риск развития посттрансфузионного ВГВ. При этом генетическая изменчивость HBV, приводящая к появлению мутантных форм HBsAg, представляет собой значительную проблему для диагностики.

Набор реагентов для качественного определения поверхностного АГ ВГВ (HBsAg) в сыворотке или плазме крови человека производства DiaSorin (Италия) обладает высокой аналитической чувствительностью, позволяет определять все известные субтипы HBsAg и эффективно выявлять «escape»-мутантов и мутантные формы HBsAg, возникающие у хронических больных, вакцинированных лиц или реципиентов трансплантаций.

Развернутой клинической картине ВГВ предшествует появление HBsAg в сыворотке крови с его дальнейшим персистированием. По мере развития болезни титр HBsAg начинает уменьшаться и окончательно исчезает (ниже уровня определения). После исчезновения HBsAg, в сыворотке крови появляются анти-HBs, хотя при этом часто возникает так называемое «окно», т.е. период между исчезновением HBsAg и появлением анти-HBs. Приблизительно у 10% пациентов HBsAg персистирует в сыворотке и анти-HBs не появляются, что означает стадию хронического носительства.

Наличие анти-HBs в сыворотке означает имевшее место воздействие HBV и длительный приобретенный иммунитет. Низкий титр анти-HBs, однако, может быть сигналом недостаточности иммунитета к повторному HBV-инфицированию. Клиническое значение определения анти-HBs заключается в констатации полного выздоровления и приобретения иммунитета, что может быть результатом как перенесенного HBV, так и вакцинации. Широко распространенная вакцинация против ВГВ требует точного количественного определения концентрации Ig для оценки выработки оптимального иммунного ответа при вакцинации, определения продолжительности иммунной защиты и временного диапазона активной иммунизации. Такой предвакцинальный скрининг с экономической точки зрения целесообразно проводить прежде всего в группах высокого риска инфицирования ВГВ (медицинские работники, больные, находящиеся в отделениях гемодиализа и т. п.). Определение анти-HBs является решающим фактором для выявления субъектов, подозрительных на HBV в программах, предшествующих вакцинации, а также в случаях, когда диагноз ВГВ не является очевидным. Исследование HBsAg и анти-HBs также позволяют собрать эпидемиологические сведения, определяющие уровень эндемичности в данной популяции. Общепринятым считается, что концентрация анти-HBs  $>10$  МЕд/л свидетельствует либо о выздоровлении, либо о положительной реакции на вакцинацию. Концентрация АТ  $<10$  МЕд/л говорит об отсутствии приобретенного иммунитета, т.к. уровень 10 МЕд/л считается нижним порогом наличия иммунитета.

При ВГВ АТ к core-частицам Дэйна (анти-HBc) появляются сразу же после HBsAg, их титр быстро нарастает, и персистенция наблюдается длительное время после

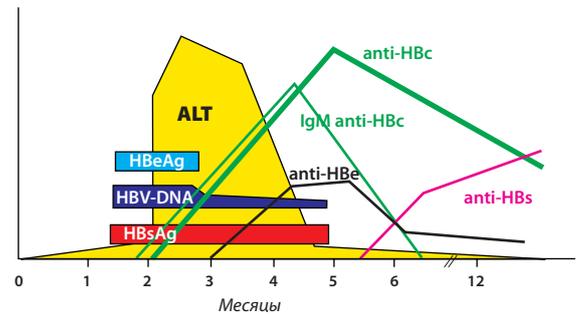
исчезновения HBsAg. Следовательно, в определенный промежуток заболевания анти-HBc могут быть единственным серологическим маркером ВГВ. IgM анти-HBc появляются раньше и достигают пика в острую фазу ВГВ, в то время как IgG анти-HBc могут персистировать на протяжении нескольких лет в низких титрах без признаков протекающей ВГВ инфекции. В острую стадию ВГВ IgM анти-HBc присутствует в высоких титрах, достигая низкого или неопределяемого уровня спустя один год после выздоровления. У хронических носителей HBsAg, IgM анти-HBc могут отсутствовать или быть в низких титрах. Вследствие низкого уровня IgM анти-HBc, у части хронических носителей HBsAg, соответствующие тест-системы обычно калибруются таким образом, чтобы исключить интерференцию пограничной активности. Значительная активность IgM анти-HBc позволяет диагностировать первичный ВГВ. По присутствию данного маркера можно выявлять непризнанных носителей HBsAg, у которых острый гепатит вызван не HBV, а также HBsAg-положительных лиц с острым гепатитом и первичной HBV инфекцией.

Первые eAG ВГВ (HBeAg) был описан Magnusius и Esmark у HBsAg-положительных пациентов. HBeAg обнаруживается в крови в начале клинических проявлений ВГВ, в течение фазы активной репликации вируса, вскоре после появления HBsAg, а также у хронических HBsAg-носителей. Наличие HBeAg четко привязано к повышенному числу циркулирующих вирионов (частиц Дэйна) и уровню сывороточной HBV-ДНК. HBeAg присутствует в течение всей инфекционной фазы ВГВ, и их персистенция в сыворотке ассоциирована с хронически активным гепатитом. HBeAg является значимым маркером степени инфицированности HBsAg-положительных субъектов. И наоборот, появление циркулирующих анти-HBe AT свидетельствует о пониженном количестве вирусных частиц из-за депрессии репликации. Пациенты, положительные по HBsAg и анти-HBe не столь сильно инфицированы. У пациентов, перенесших острый ВГВ, сероконверсия от

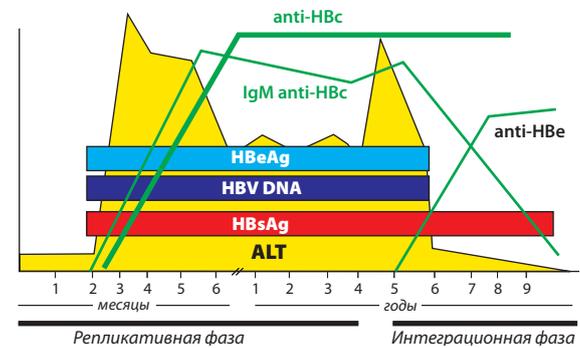
HBeAg к анти-HBe обычно следует после ремиссии. Однако, циркулирующие анти-HBe AT часто сопровождают бессимптомное хроническое носительство вируса.

HBxAg – X белок ВГВ (коактиватор транскрипции) играет важную роль в развитии HBV-связанной гепатоцеллюлярной карциномы.

Диагностика ВГВ основана на особенностях структуры и биологии вируса. Среди специфических тестов различают скрининговые и последующие исследования.



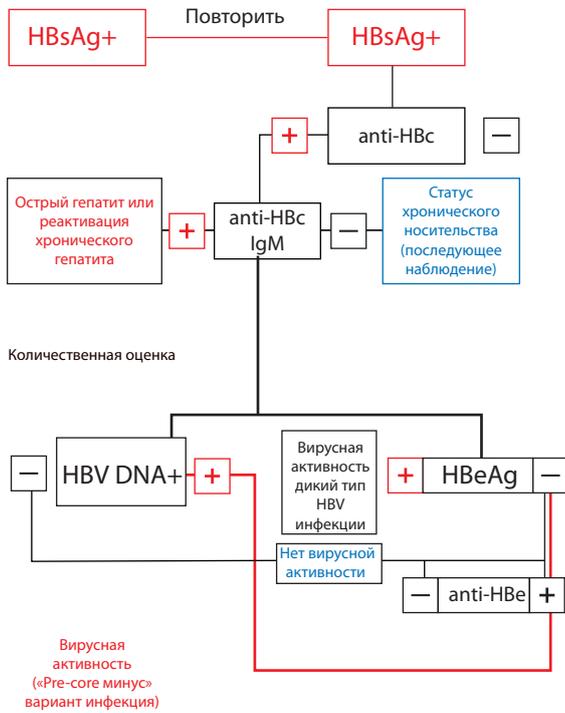
Вирусный гепатит В, серологический профиль (острая инфекция) по Corrola et al.



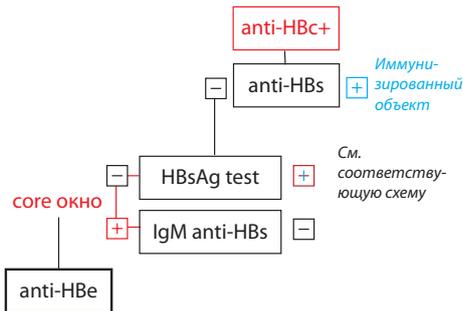
Вирусный гепатит В, серологический профиль (хроническая инфекция) по Corrola et al.

Клиническое значение маркеров ВГВ

Клиническое значение	HBsAg	Анти-HBs	Анти-HBc		HBeAg	Анти-HBe	HBV-ДНК
			IgM	общие			
Вирусная активность (в основном «дикий тип»)	+	-	+	+	+	-	+
Вирусная активность (в основном pre-core-вариант)	+	-	+	+	-	+/-	+
Разрешение острого ВГВ	+	-	+	+	-	+/-	-
Здоровый носитель	+	-	-	+	-	+/-	-
«Core-окно»	-	-	+	+	-	-	-
Иммунизация после натуральной инфекции	-	+	-	+	-	+/-	-
Иммунизация после вакцинации	-	+	-	-	-	-	-



Диагностическая схема – HbsAg-положительные лица



Диагностическая схема – анти-Hbc-положительные лица

**Вирус гепатита D (дельта, ВГD)**

**NEW**

ВГD – частица диаметром 36 нм, которой для успешной репликации необходим помощник, а именно ВГВ. Нуклеокапсид HDV сформирован из односпирального генома (HDV РНК), ассоциированного с двумя специфическими белками (p27, p29), и окружен оболочкой HBsAg. Следовательно, для определения HDAg требуется обработка исследуемых образцов детергентами для удаления HBsAg и извлечения АГ-детерминант HDAg. Существует три основных клинических типа ВГD, различных по тяжести симптомов. Как правило, симптоматика при ВГD тяжелее, чем при ВГВ. Обнаружение трех сероло-

гических маркеров ВГD (HDAg, анти-HD-IgM и анти-HD общие АТ) после определения HBsAg позволяет диагностировать и охарактеризовать различные формы ВГD:

- **Коинфекция.** Пациенты одновременно инфицированы HBV и HDV. Клиническое течение заболевания острое, симптомы похожи на острый ВГВ. В большинстве случаев заканчиваются полным выздоровлением, хронизация наблюдается редко. При данной форме анти-HD IgM повышены от нескольких дней до нескольких недель после появления первых клинических симптомов.
- **Суперинфекция.** При данной форме пациенты, хронические носители HBsAg, имеют в анамнезе ВГВ и позже инфицировались HDV. В этом случае болезнь протекает тяжелее, может приводить к молниеносным формам гепатита (более часто, чем при коинфекции) или может принять хроническую форму. Как правило, иммунный ответ на суперинфекцию более быстрый и выраженный, чем при коинфекции. Анти-HD IgM начинают расти вскоре после появления первых симптомов, вслед за ними вскоре начинают определяться IgG.
- **Хроническая инфекция.** HDV протекает тяжелее, чем хронические формы ВГВ. Персистенция IgM является индикатором вступления заболевания в хроническую фазу, поскольку это напрямую связано с репликацией HDV и воспалительным процессом в печени.

Обнаружение HDAg в крови позволяет диагностировать острую фазу, хотя эти АГ обнаруживаются не при всех случаях ВГD. Присутствие HDAg длится недолго в раннюю стадию инфекции; тест может быть отрицательным, поскольку виремия уже закончилась, и появились клинические признаки заболевания. Наличие и продолжительность присутствия АГ в крови обычно пропорциональна тяжести ВГD. Обнаружение HDAg в сыворотке происходит чаще при молниеносных и тяжелых формах и реже при мягких, что делает их выявление важным диагностическим фактором.

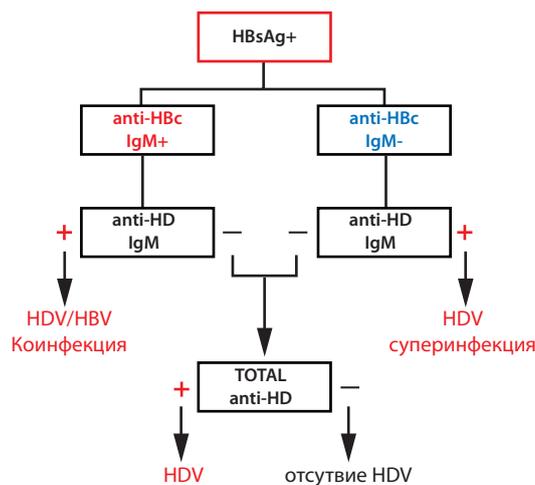
Как только начинает проявляться специфический иммунный ответ, HDAg перестает обнаруживаться в сыворотке, потому что его АГ-реактивность перекрывается эндогенными АТ. Следовательно, HDAg не обнаруживается в крови пациентов с хроническими ВГD, но при этом выявляется высокий титр анти-HD. Хроническая персистенция HDAg может наблюдаться и у пациентов с иммунодефицитом, например, ВИЧ, поскольку выработка АТ полностью или частично подавлена.

Определение общих АТ является методом выбора для диагностики ВГD. АТ к ВГD (анти-HD) определяются в высоких титрах у хронических носителей HBsAg (суперинфекция) и в низких титрах у пациентов с острым ВГВ (коинфекция). Широко распространенные эпидемиологические исследования, проводимые на

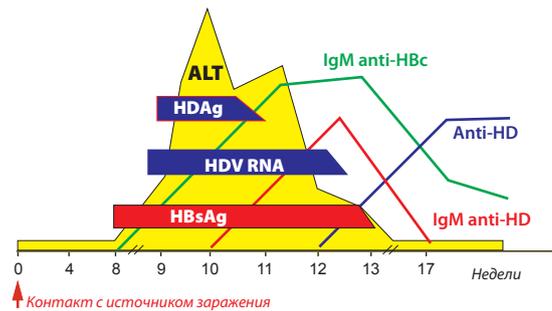
основе определения циркулирующих общих анти-HD АТ подтверждают, что HDV инфекция распространена повсеместно, хотя уровень заболеваемости отличается в разных странах. Хронический активный гепатит весьма типичен у носителей HBsAg с HDV инфекцией, хотя персистирующая и долевая формы также имеют место. У пациентов с HDV при персистирующей и долевой форме велик шанс развития цирроза печени, несмотря на благоприятную гистологическую картину. У хронических носителей HBsAg наличие HDAg в печени и обнаружение анти-HD АТ в сыворотке может быть свидетельством прогрессирования заболевания и неблагоприятным прогностическим признаком. К тому же, первичная HDV/HBV инфекция достаточно часто может протекать в тяжелой форме – фульминантного или молниеносного гепатита.

### Серологическая диагностика HBV и HDV инфекций

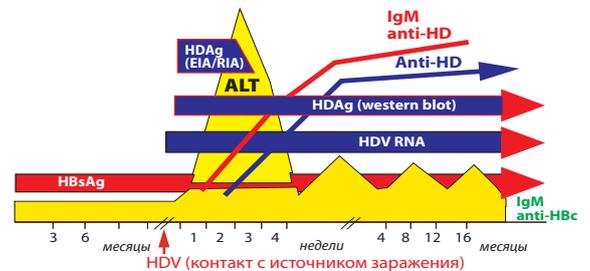
Клиническое значение	HBsAg	Анти-HBs	HDAg	Анти-HD	Анти-HD IgM
Разрешение HBV/HDV инфекции	-	+	-	+	-
Острый ВГД, ранняя фаза	+	-	+	-	-
Острый ВГД	+	-	-	-	+
Поздний ВГД, хронический ВГД	+	-	-	+	+
Разрешение или неактивная HDV инфекция у носителя HBsAg	+	-	-	+	-



ВГД – диагностическая схема



Вирусный гепатит D, серологический профиль (коинфекция HBV и HDV) по Coppola et al.



Вирусный гепатит D, серологический профиль (суперинфекция HBV / HDV, развивающаяся в хроническую) по Coppola et al.

### Вирусный гепатит C (ВГС)

NEW

HCV был обнаружен в 1988 г. в качестве основного этиологического агента-возбудителя «не А–не В» гепатита (NANB), развивающегося в 80-90% случаев посттранфузионных гепатитов. Заболевание присуще клинические проявления острого гепатита (включая классические симптомы, повышение уровня ферментов печени, например, аланинаминотрансферазы (ALT), типичные изменения микроструктуры гепатоцитов и т.д.) при продолжительном отсутствии маркеров ВГА, В и D, вируса Эпштейна-Барр или цитомегаловируса. У пациентов, инфицированных HCV, начальная стадия может протекать как со средней тяжестью, так и бессимптомно; однако более чем у 80% пациентов, перенесших это заболевание, развивается хронический гепатит, а в дальнейшем возможно развитие цирроза печени, повышен риск развития гепатоцеллюлярной карциномы. 36% случаев всех фульминантных гепатитов составляет ВГС и количество выживших в этом случае меньше, чем при фульминантном ВГА или ВГВ.

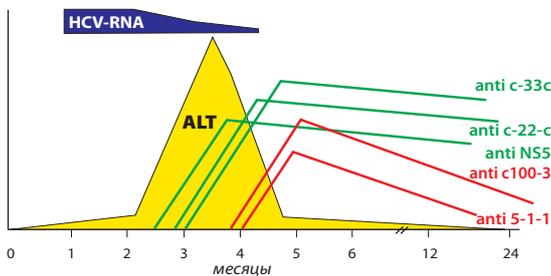
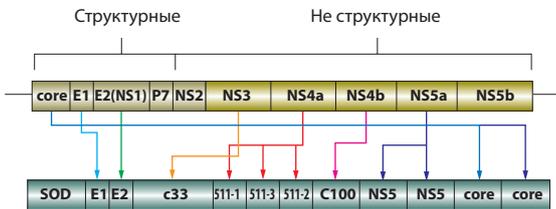
Существование ВГС как отдельной нозологической единицы было признано после того, как методы исследования крови и ее продуктов на наличие HBV полностью исключали гепатит, связанный с переливанием донорской крови. Доноры крови с повышенным уровнем АЛТ или «core» АТ к HBV (анти-HBc) были признаны носителя-

ми высокого риска в отношении передачи заболевания; определение NANB-гепатита первоначально основывалось на присутствии именно этих косвенных маркеров.

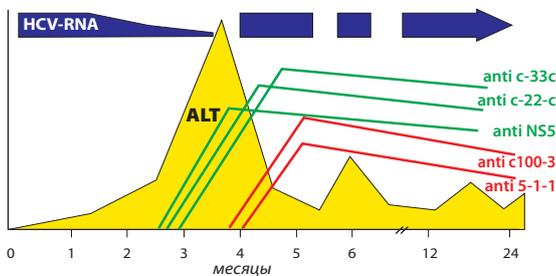
ВГС передается главным образом парентеральным путем, например, при переливании крови, гемодиализе, внутривенном введении препаратов. АТ к HCV обнаруживаются не только у пациентов с острой или хронической формами заболевания, но и у многих доноров, не имеющих характерных симптомов, после сероконверсии реципиента. Целью скрининга на наличие АТ к HCV является попытка снизить риск передачи ВГС, хотя присутствия АТ к HCV не достаточно для постановки диагноза.

В иммуноферментном наборе для качественного определения анти-HCV в сыворотке или плазме крови человека (DiaSorin) используются рекомбинантные полипептиды, соответствующие высокоантигенным детерминантам структурных и неструктурных участков HCV (NS3/4a и MEFA 7.1).

**Multiple Epitope Fusion Agents – MEFA**



Вирусный гепатит С, серологический профиль по Coppola et al.



Вирусный гепатит С, серологический профиль (хронизация) по Coppola et al.

**Диагностика ВГС – подтверждающие тесты**

В 1989 г. была создана первая ИФА тест-система для выявления АТ к одному из неструктурных белков HCV. В настоящее время существует целый ряд диагностических тест-систем последнего поколения, которые широко используются как у больных с подозрением на ВГС, так и для скрининговых исследований у здоровых лиц. Пациент, сдавший анализ на ВГС, имеет право получить точный и правильно интерпретированный результат. В соответствии с приказом Минздрава России от 21 октября 2002 г. № 322 «О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека» для проведения анализа по подтверждению наличия HBsAg и анти-HCV необходимо использовать подтверждающие (подтверждающие) тест-системы. Постановка окончательного лабораторного диагноза без подтверждения в одном из подтверждающих тестов запрещается. То есть результат первичного серологического исследования должен быть проверен другим, более специфичным (подтверждающим) методом. Тем не менее, часто при исследовании на ВГС в лаборатории проверяют результат первичного определения только по специальному назначению врача. Врачи, в свою очередь, не всегда знают, в каких случаях результат нуждается в проверке и какие методы пригодны для этого. В тех случаях, когда существует высокая вероятность наличия ВГС (обследование больных с поражениями печени) ложноположительные результаты встречаются сравнительно редко, тогда как в тех группах, где его распространенность не превышает 10% (доноры, профосмотры и т.п.) они встречаются достаточно часто.

Первым шагом лабораторной диагностики ВГС является определение с помощью скрининговых тестов ИФА специфических АТ к белкам HCV. Затем результаты ИФА подтверждаются более специфическим методом – иммуноблотом, для исключения ложноположительных результатов. Для иммуноблоттинга можно использовать те же пробы крови, что и для скринингового исследования. Используемые в иммуноблоте очищенные рекомбинантные АГ разделены в соответствии с м.м. путем электрофореза в SDS-PAGE с последующим переносом на нитроцеллюлезную мембрану (Вестерн-блоттинг). После этого мембрана инкубируется с белковым раствором для того, чтобы блокировать свободные сайты связывания, отмывается, разрезается на полоски (стрипы) и упаковывается. Для выявления специ-



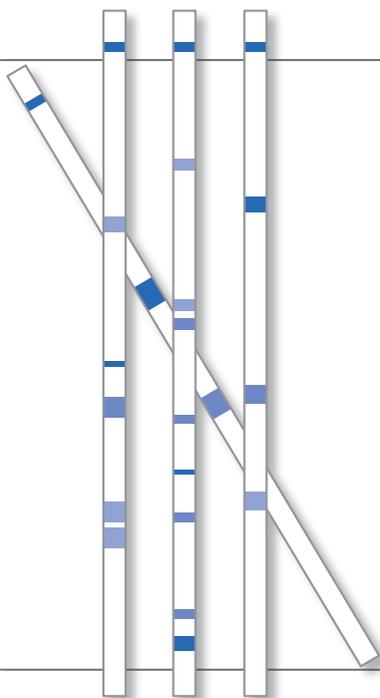
# MIKROGEN

molekularbiologische Entwicklungs-GmbH

## Диагностика инфекционных заболеваний Подтверждающие тест системы

Уникальность продукции компании MIKROGEN – использование рекомбинантных антигенов. Применение рекомбинантных антигенов (избранные белки патогенов, полученные с помощью генетической инженерии) имеет целый ряд преимуществ по сравнению с обычными лизатами патогенов:

- Более высокое качество (чистота) антигенов
- Антигены представлены в индивидуальном виде, а не в виде компонентов смеси.
- Антигены доступны в любом количестве.



Качественные тесты *in vitro* для непрямого определения и точной идентификации патоген-специфических антител. Используются для подтверждения результатов скрининговых исследований, таких как ИФА (ELISA) или иммунофлуоресцентный анализ (IFA).

Все важные патоген-специфические антигены представлены на одной тест-полоске (*stripe*), следовательно, возможно профильное определение соответствующих антител в одном анализе.

Раздельное определение разных классов антител, возможность определения avidности IgG-антител.

Простая процедура анализа, возможна автоматизация.

### recomScan

Программное обеспечение для автоматической детекции и интерпретации тест стрипов MIKROGEN (*recomBlot* и *recomLine*). Легко подключается к ЛИС.

**ИММУНОБЛОТ – новый этап в диагностике инфекционных заболеваний**

фических АТ к HCV в ходе анализа стрипы инкубируют с образцом сыворотки человека. Если специфические АТ присутствуют в образце, то во время инкубации они связываются с АГ, фиксированными на стрипе. После промывки стрипы инкубируют с АТ к IgG человека, конъюгированными с пероксидазой хрена. После еще одной промывки специфически связанные АТ выявляют с помощью цветной реакции, добавляя субстрат, взаимодействующий с пероксидазой хрена. Проявляющиеся темные полосы в соответствующем месте стрипа указывают на присутствие АГ-АТ комплекса. Положения бэндов определяют специфичность прореагировавших АТ. Тем самым уровень их специфической реактивности может быть оценен отдельно.

Результат иммуноблоттинга может трактоваться как положительный, отрицательный и сомнительный. При **положительных результатах** иммуноблоттинга рекомендуется проводить определение вирусной РНК с использованием техники амплификации (NAT, nucleic acid amplification technique), например RT-PCR (ПЦР в реальном времени), т.к. наличие АТ может свидетельствовать как о текущей, так и о перенесенной инфекции. NAT должна подтвердить или исключить персистенцию, что важно для определения дальнейшей терапевтической тактики. Если получен отрицательный результат ПЦР при положительном результате подтверждающего теста на присутствие АТ, исследование RT/PCR необходимо повторить с интервалом в несколько месяцев. Только после этого может быть сделан относительно надежный вывод о хроническом характере инфекции HCV.

**Отрицательный результат** иммуноблоттинга указывает на отсутствие АТ к HCV. В редких случаях АТ отсутствуют и у инфицированных лиц. АТ к специфическим АГ HCV обычно выявляются через 3-4 недели после инфицирования. Исключением является «диагностическое окно» во время инкубационного периода и ранней острой фазы инфекции. В этот период очень небольших количеств вируса недостаточно для развития иммунного ответа. Иногда сероконверсия наступает только через несколько месяцев. У пациентов с ослабленным иммунитетом и новорожденных с перинатальной инфекцией также наблюдается «искаженная» картина иммунного ответа (у новорожденных из-за АТ матери). Подтверждение диагноза ВГС в этих случаях возможно только при повторяющихся положительных результатах выявления генома HCV с помощью NAT.

**Сомнительный результат** иммуноблоттинга наблюдается в периоде сероконверсии, иногда при хронической инфекции и, чаще всего, у здоровых. По некоторым оценкам в половине случаев результатов, трактуемых как «неопределенные», удается обнаружить РНК HCV.

Тест-система *recomBlot* HCV IgG 2.0 производства компании Mikrogen (Германия) – это качественный тест для определения *in vitro* IgG АТ к HCV в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноблота с использованием рекомбинантных АГ, разделенных при помощи гелеэлектрофореза (классический Вестерн-блот). Данный метод используется для подтверждения положительных результатов, полученных для образцов при скрининге. Использование пяти серологически значимых рекомбинантных АГ обеспечивает высокую чувствительность, специфичность и воспроизводимость анализа.

**Рекомбинантные АГ, использованные в recomBlot HCV IgG 2.0**

Антиген	Рекомбинантный антиген	Размер (кДа)
NS-3	Неструктурный белок с хеликазной/протеазной активностью	70
Хеликаза	Неструктурный белок/часть NS-3 с хеликазной активностью	40
NS-5-12	Неструктурный белок/часть NS-5	30
NS-4	Неструктурный белок/N-терминальная часть	27
Core	Вирусный капсид/структурный белок	14

В рамках CE сертификации с помощью *recomBlot* HCV IgG 2.0 было протестировано 1137 образцов из различных панелей сывороток. В состав этих панелей входили образцы, полученные от доноров крови, HCV-позитивные образцы (с положительным результатом скринингового исследования), панели сероконверсии и образцы с потенциальной интерференцией. Для расчета чувствительности и специфичности *recomBlot* HCV IgG 2.0 использовали только четко охарактеризованные образцы (идентифицированы при помощи соответствующих сравнительных исследований). Результаты приведены в таблице. Чувствительность теста составила 99,3%, а специфичность – 96,5%.

*recomBlot* HCV IgG 2.0 зарегистрирован в Минздравсоцразвития РФ. Согласно письму Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития №11289/04 от 24.12.2004 г. «...диагностические системы проходят регистрацию в Российской Федерации в установленном порядке. После прохождения регистрации данные диагностические системы могут использоваться в соответствии с инструкцией по применению с целью проведения первичной лабораторной диагностики ВИЧ, гепатитов В и С, обследования больных острыми и хроническими гепатитами, обследования доноров крови и пр.».

## Результаты исследований с использованием recomBlot HCV IgG 2.0

recomBlot HCV IgG 2.0	HCV статус		Всего
	Отрицательный	Положительный	
Отрицательный	605	1*	606
Положительный	0	300	300
Сомнительный	22	1	23
Всего	627	302	929

\*Образец показал слабоположительный результат в ИФА, но был постоянно негативным в подтверждающих тестах. Определение РНК с помощью ПЦР – положительный результат. Необходимо отметить, что HCV-позитивные образцы также включали образцы от пациентов на гемодиализе. В ряде публикаций описаны случаи наличия HCV вирусемии без выявления соответствующих АТ.

## Вирусный гепатит Е (ВГЕ)

NEW

HEV был впервые изолирован в 1983 г. М.С. Балаяном, после того, как он инфицировал себя патоген-содержащим материалом. Сегодня HEV классифицируется как независимый род семейства *Caliciviridae*. Морфологически он представляет собой безоболочечный икосаэдрический капсид от 27 до 34 нм в диаметре. Геном HEV состоит из одноцепочечной РНК, построенной из приблизительно 7500 оснований, которые кодируют три открытых рамки считывания. Этот вирус обычно поражает молодых взрослых и реже встречается у детей. Вероятно, это может связано с тем, что инфекция у детей обычно протекает субклинически и, в отличие от ВГА, приобретенный иммунитет к ВГЕ не пожизненный. ВГЕ обычно протекает в тяжелой форме и приблизительно в 3% случаев приводит к фатальному исходу при развитии фульминантного варианта. Особенно высокий уровень смертности наблюдается среди беременных женщин. Во второй половине беременности заболевание в 20-25% случаев может приобретать злокачественное течение по фульминантному типу с быстрым развитием массивного некроза печени и острой печеночной энцефалопатии. При этом нередко возникает ДВС-синдром и характерен усиленный гемолиз, сопровождающийся гемоглобинурией, приводящей к острой почечной недостаточности. Тяжелое течение ВГЕ часто сопровождается самопроизвольным прерыванием беременности с резким ухудшением состояния больных. Кроме того, даже при доношенной беременности из детей, родившихся живыми, более половины умирают в течение первого месяца жизни.

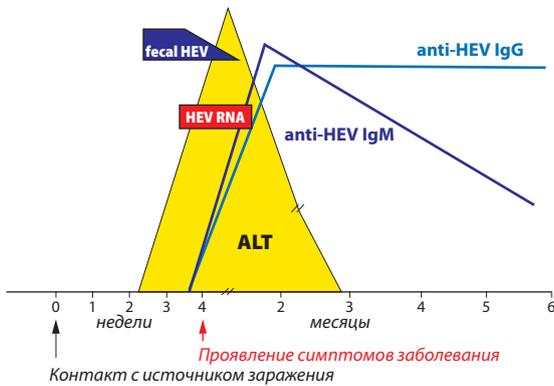
Случаи хронической персистирующей инфекции и вирусоносительства неизвестны. Инкубационный период после инфицирования составляет 15-60 дней (в среднем 40). Типичные клинические проявления ВГЕ сходны с признаками других типов вирусных гепатитов. Гриппоподобные симптомы, рвота, лихорадка, жар, головная боль и боль в суставах сопровождаются повышением уровня ферментов печени. Вследствие накопления желчи, в ходе заболевания развивается желтуха, которая может продолжаться в течение нескольких недель. Реже встречаются симптомы, включающие в себя артралгию, диарею, зуд и сыпь. Заражение HEV обычно происходит фекально-оральным путем, основной источник инфекции – употребление контаминированной питьевой воды. Есть сообщения о случаях заражения при употреблении в пищу мяса диких животных (кабаны и др.). В отличие от ВГА, который также передается фекально-оральным путем, передача HEV от человека к человеку достаточно редка. Очень часто ВГЕ распространяется в виде серьезных эпидемий. HEV является причиной более чем 50% sporadicческих случаев острого гепатита у детей и взрослых в высокоэндемичных районах. ВГЕ не так часто встречается в западных странах. В первую очередь, велик риск заражения для людей, посещающих эндемичные районы (Центральная Америка, Африка, Индия, Китай, Афганистан, южные регионы бывшего СССР). Тем не менее, последние исследования, проведенные в Германии, Нидерландах и др. странах показали, что ВГЕ можно обнаружить даже у тех людей, которые ни разу не выезжали за пределы своей страны. В этих случаях происходила передача инфекции от человека к человеку через контаминированную пищу или кровь. Активно обсуждается возможность зоонозных инфекций, передающихся от свиней и других животных. Типичный серологический ход HEV инфекции:

- рост уровня печеночных ферментов;
- экскреция вируса;
- рост титра IgM, а затем и IgG АТ.

Титр IgM АТ быстро падает во время ранней фазы выздоровления, в то время как титр IgG остается на определенном уровне в течение некоторого времени, возможно, защищая пациента от возобновления инфекции. То есть после перенесенного ВГЕ формируется достаточно устойчивый иммунитет (анти-HEV IgG), но в отличие от ВГА, он не пожизненный. Свежую инфекцию можно диагностировать, выявляя вирусные частицы в стуле с помощью электронной микроскопии или путем определения вирусной РНК в сыворотке с помощью ПЦР. К сожалению, это возможно только в специализированных лабораториях. Для выявления АТ к HEV используют ИФА и Вестерн-блот. Скрининговые иссле-

дования можно подтверждать иммуноблотом. С помощью Вестерн-блота можно точно диагностировать как острую, так и пастинфекцию. Показаниями к исследованию на ВГЕ являются: предположение о водном механизме передачи, возраст 20-40 лет, клинические проявления подобно ВГА с преобладанием легких форм, регистрация тяжелых форм с угрозой летального исхода у женщин во второй половине беременности, реже в раннем послеродовом периоде и у кормящих матерей.

**Вирусный гепатит Е, серологический профиль**



по Coppola et al.

**Рекомбинантные АГ, использованные в наборе gescmBlot HEV IgG/IgM производства Mikrogen, Германия**

Антиген HEV	Рекомб. АГ	Размер (кДа)
N-терминальная часть капсидного АГ (GST фьюжн-белок)	O2-N	50
C-терминальная часть капсидного АГ (тройная полоса)	O2-C	38-41
Средняя часть капсидных АГ	O2-M	28
Открытая рамка считывания 3	O3	15

**Вирус кори (Measles virus)**

Возбудитель обладает выраженной тропностью к эпителиальным тканям и поражает кожные покровы, слизистые оболочки респираторного тракта и ротовой полости. Дифференцируют корь с краснухой, гриппом, энтеровирусной экзантемой, аллергической сыпью. АТ, выявляемые при ИФА, появляются по мере нарастания сыпи и достигают пика к 10 дню заболевания. IgM и IgG появляются почти одновременно, но IgM исчезают к 90 дню от начала заболевания, а IgG снижаются к 6 месяцу и остаются на стабильном уровне и после этого. В случае подострого склерозирующего панэнцефалита выявляются повышенные титры АТ в спинно-мозговой жидкости и в сыворотке.

**Краснуха (Rubella virus)**

Вирус краснухи является единственным представителем рода Rubivirus, принадлежащего семейству тогавирусов (Togaviridae). Впервые этот вирус был выделен в 1962 г. Диаметр вириона составляет 60 нм. Икосаэдрический нуклеокапсид содержит одноцепочечную РНК и окружен трехслойной липидной оболочкой. Кроме того, нуклеокапсид состоит из структурных белков E1 и E2 и нуклеокапсидного белка С.

У детей заболевание (коровая краснуха) передается в основном воздушно-капельным путем, инкубационный период составляет 9-21 день. Обычно заболевание начинается с неспецифического продромального периода, характеризующегося головной болью, субфебрильной температурой, воспалением верхних дыхательных путей и конъюнктивитом. Затем появляется обильная сыпь в виде бледно-розовых пятнышек круглой или овальной формы, сначала на лице, а затем распространяется по всему телу. Экзантема исчезает примерно через три дня. Это сопровождается увеличением лимфатических узлов в области шеи. Известно, что заболевание может протекать бессимптомно в 25-30% и без сыпи в 40% (у детей) и 60% (у взрослых) случаев. Возможным осложнением является воспаление суставов пальцев, рук, локтевых костей, голеностопных суставов, которое может наблюдаться у взрослых, особенно у женщин, на протяжении до 3 недель. Кроме того, возможно возникновение миокардита, неврита, отита и бронхита, а в редких случаях развивается краснушный панэнцефалит.

Инфицирование матери во время беременности может привести к синдрому врожденной краснухи. Этот синдром, с классическими нарушениями развития нервной системы, сердца, глаз, органов слуха, впервые был описан австрийским офтальмологом Gregg в 1941 г.

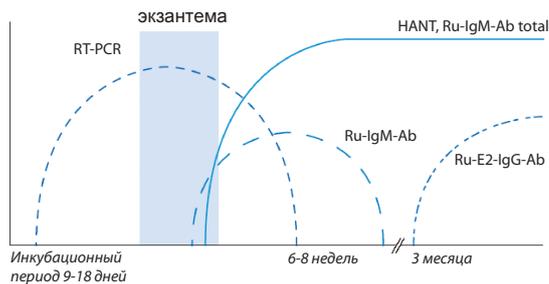
Перед проведением серодиагностики краснухи важно, чтобы лечащий врач обратил внимание на историю перенесенных заболеваний и клинические данные пациента. Для диагностики краснухи необходимо определение специфических IgM и IgG АТ. IgM АТ появляются в острый период инфекции и исчезают в течение 4-5 недель. На первом году жизни у детей с врожденной краснухой часто обнаруживают специфические IgM АТ; они могут исчезнуть на 3-4 году жизни. IgG АТ появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет и более. Определение IgG АТ используется для оценки напряженности поствакцинального иммунитета и определения инфекции в анамнезе.

Существуют четкие отличия между базовой и специальной диагностикой. Базовая диагностика краснухи представлена тестом ингибирования ге-

магглютинации (НАИТ). В случае недавней инфекции в двух последовательно взятых образцах крови, забранных у пациента в период заболевания, с интервалом от 2 до 3 недель, можно наблюдать повышение титра АТ в 2-4 раза. При отсутствии клинических симптомов титры 1 : 32 в НАИТ оцениваются как иммунитет к краснухе.

Как альтернатива, и дополнительно для оценки иммунитета, используется ИФА с определением IgG АТ к вирусу. Концентрация АТ 15 МЕ/мл, выявляемая в образцах сыворотки пациентов, свидетельствует о защитном уровне АТ к краснухе. Концентрация 15-25 МЕ/мл считается находящейся в серой зоне, т.е. иммунитет пациента таков, что дополнительный контакт с вирусом краснухи может привести к инфекции. Это часто наблюдается у людей после прививки, т.к. у них продуцируются защитные титры в среднем ниже, чем у тех людей, которые приобрели иммунитет в результате инфекции диким вирусом. Кроме того, необходимо помнить, что каждый титр НАИТ может указывать на недавнюю инфекцию краснухи, т.к. этим методом определяются и IgG, и IgM АТ. Соответственно, титр НАИТ 1 : 32 может теоретически быть вызван только IgM АТ.

Для дальнейшей базовой диагностики, при подозрении на краснуху, используют определение IgM АТ к вирусу краснухи с помощью ИФА. При получении положительного результата должен быть проведен второй независимый анализ для подтверждения результата. Для уточнения неясных результатов при анализе IgM к краснухе рекомендуется использовать иммуноблот (например, *resomBlot Rubella IgG* производства Mikrogen, Германия). Подтверждающие IgG АТ к E2 краснухи появляются самое раннее через 3 мес. после вакцинации или болезни. Если у пациента присутствуют АТ к E2, то можно исключить наличие инфекции в последние три месяца.



**Маркеры краснухи**

Пренатальная диагностика с использованием ПЦР и образцов фетальной крови может быть проведена только в специализированных лабораториях.

**Эпидемический вирус паротита (Mumps)**

Возбудитель эпидемического паротита относится к миксовирусам. В распространении инфекции большое значение имеют бессимптомные формы. Частота этих форм составляет 22-88% по отношению к общему числу инфицированных. Паротит – часто встречающееся заболевание детского возраста, оно диагностируется на основе характерных клинических симптомов без затруднений при обычном течении болезни. Однако, у пациентов с часто встречающимися осложнениями, такими как орхиты, менингиты, менингоэнцефалиты без воспаления слюнных желез, необходимо подтверждение диагноза этой инфекции серологическими методами.

Основным методом лабораторной диагностики эпидемического паротита является определение IgM к вирусу в сыворотке. IgM АТ появляются в острый период инфекции (в первые дни заболевания) и сохраняются до 2 лет.

**Парвовирус В19**

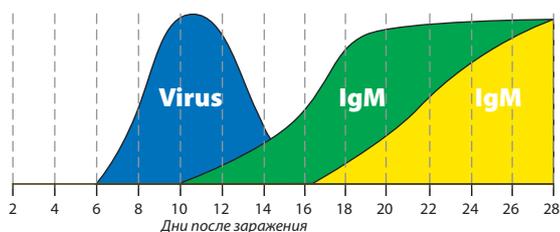
**NEW** Парвовирус В19 был открыт в 1975 г. в Англии при исследовании донорской крови. Парвовирусы (от лат. *parvum* – маленький) состоят из одноцепочечной ДНК, заключенной в белковый капсид. В 1995 г. человеческий парвовирус В19 был классифицирован как **эритровирус** и переименован в «вирус В19» или «В19V». Этот вирус патогенен только для человека и размножается исключительно в предшественниках эритроцитов.

Наиболее известным клиническим проявлением инфекции, вызываемой В19, является инфекционная эритема (также известная как «синдром следов от пощечин» или «пятая болезнь»). Инфекция обычно поражает детей в возрасте 4-11 лет. Это широко распространенное детское заболевание, сопровождающееся лихорадкой, острым ринитом, головной болью, умеренными тошнотой и диареей (в этот период ребенок наиболее заразен). Затем через 2-5 дней преимущественно на щеках появляется характерная сыпь («следы от пощечин»), которая может также распространяться на конечности и туловище. Заражению могут подвергаться все возрастные группы.

IgG АТ к В19V выявляются у 50-70% взрослого населения. Рост заболеваемости обычно приходится на конец зимы, весну и начало лета. Для парвовирусной инфекции характерен 3-4 летний эпидемический цикл (после 2 лет высокой заболеваемости В19V следуют два года снижения заболеваемости). Обычно В19V передается воздушно-капельным путем. Заражение также может произойти при гемотрансфузиях и трансплантациях. Возможна трансплацентарная передача вируса от матери к плоду. Инкубационный период

обычно составляет 4-14 дней, приблизительно через 16 дней развивается характерная сыпь. Больной заразен в течение 24-48 ч до развития симптомов: до тех пор, пока не появится сыпь.

У 90% пациентов IgM АТ появляются приблизительно через 2 недели после инфицирования (т.е. приблизительно через 4-7 дней после проявления симптомов). Содержание IgM АТ обычно достигает своего максимального уровня через 30 дней, на котором удерживается около 4 месяцев. IgG АТ начинают появляться через 3-4 недели после инфицирования (т.е. приблизительно через 7-10 дней после проявления симптомов) и затем могут сохраняться в течение всей жизни.



**Динамика синтеза антител во время инфекции, вызванной парвовирусом B19**

**Беременность.** Установлено, что частота инфицирования женщин B19V составляет приблизительно 1 : 400 беременностей. При этом показано, что у большинства беременных женщин инфекция протекает бессимптомно. Поэтому точный диагноз можно установить только с помощью серологического тестирования. Инфекция B19V не является причиной для прерывания беременности, т.к. этот вирус не оказывает тератогенного действия. Однако достаточно часто B19V может служить причиной развития серьезных осложнений во время беременности.

Плод особенно подвержен воздействию B19V между 20 и 28 нед. внутриутробного развития. Из всех беременных, впервые заражающихся данной инфекцией на указанном сроке, у 10% наступает гибель

плода. Активная инфекция, вызванная B19V, приводит к фетальной анемии, которая является основным фактором в развитии водянки и асцитов. Приблизительно 10-20% случаев идиопатической неиммунной водянки плода связано с инфекцией B19V. В конечном итоге при отсутствии соответствующего лечения парвовирусная инфекция может привести к внутриутробной смерти плода во II триместре или мертворождению. Гибель плода обычно наступает через 4-6 нед. после инфицирования матери, есть сообщения о гибели через 12 нед. после появления симптомов инфекции.

Скрининг и контроль за серологическим статусом беременных женщин позволяет определить порядок дальнейших действий и необходимость дополнительных исследований. IgG<sup>+</sup>IgM<sup>-</sup> пациентки могут быть уверены в том, что парвовирусная инфекция не станет причиной осложнений во время их беременности. В противном случае необходимо тщательное и постоянное наблюдение за состоянием плода, что позволит при необходимости своевременно назначить соответствующее лечение.

Результат	Интерпретация
IgG <sup>+</sup> IgM <sup>-</sup>	Перенесенная в прошлом инфекция (нет риска для плода)
IgG <sup>+</sup> IgM <sup>+</sup>	Инфекция в течение последних 7-120 дней (возможен риск для плода)
IgG <sup>-</sup> IgM <sup>+</sup>	Острая инфекция (максимальный риск для плода)
IgG <sup>-</sup> IgM <sup>-</sup>	Мать не обладает специфическим иммунитетом – есть риск заражения. Нет признаков острой инфекции. Необходимо повторить серологическое исследование через 3 недели. При этом появление IgM указывает на острую инфекцию.

**Пациенты с гематологическими заболеваниями.** В результате инфицирования B19V у пациентов с сопутствующими нарушениями системы кроветворения возникают серьезные гематологические осложнения (например, транзиторный апластический криз). «Заразный апластический криз» почти всегда вызывается

**Таблица. Диагностика заболеваний, вызываемых B19V**

Заболевание	IgM	IgG	B19 ДНК гибридизация	B19 ДНК амплификация
Инфекционная эритема	+++	++	-	+
Артропатия	++	+	-	+
Транзиторный апластический криз	+/-	+/-	++	++
Стойкая анемия	+/-	+/-	++	++
Фетальная водянка и конгенитальная анемия	+/-	+	+/-	++
Предшествующая инфекция	-	++	-	+/-

парвовирусом В19. Повышенный риск таких изменений имеют лица с серповидноклеточной анемией, наследственным сфероцитозом, талассемией, ферментопатиями эритроцитов (например, с дефицитом пируваткиназы или глюкозо-6-фосфатазы). Эти кризы могут быть первым проявлением гематологической патологии у ребенка, до этого хорошо скомпенсированной. Неконтролируемое развитие криза может привести к смерти (особенно у детей), в то время как соответствующая терапия в начале криза позволяет добиться выздоровления.

**Артрит.** Симптомы артрита при парвовирусной инфекции достаточно редко наблюдаются у детей (приблизительно 8% случаев) в то время как 80% взрослых пациентов страдают от боли в суставах. Подобная артропатия чаще встречается среди женщин (60% женщины и 30% мужчины). Обычно поражаются небольшие суставы конечностей. Суставы раздуваются и приобретают болезненность. Эти симптомы могут продолжаться в течение 1-3 недель (у 20% пораженных женщин – более 2 месяцев и даже годы). В настоящее время существуют серьезные доказательства того, что В19V участвует в инициации и дальнейшем развитии ревматоидного артрита, синовита, приводящих к повреждению суставов.

**Гемотрансфузии.** В19V способен выдерживать применяющуюся при изготовлении продуктов донорской крови обработку детергентами и нагревание. Поэтому кровь и ее продукты потенциально могут содержать ДНК В19V. Известно, что уровень распространения В19V среди больных гемофилией значительно выше, чем в общем в популяции.

**Трансплантология.** Клиническая манифестация парвовирусной инфекции отмечена у пациентов после трансплантаций печени, почек, сердца и костного мозга. В19V может вызывать острую или хроническую апластическую анемию у реципиентов и в ряде случаев способствовать отторжению пересаженных органов. Парвовирусная инфекция у пациентов после трансплантаций органов или костного мозга может приобретать хронический характер вследствие обычно используемой в таких случаях иммуносупрессивной терапии. В19V может вызывать различные воспалительные заболевания, такие как миокардит или отторжение сердца. Одним из возможных объяснений может служить тот факт, что клеточный рецептор для Р-антигена парвовируса обнаружен на сердечных миоцитах. Есть сообщения о развитии вызванных В19V пневмонии и заболеваниях печени после трансплантации сердца.

**СПИД.** У пациентов с нарушениями иммунной системы, особенно страдающих СПИД, инфекция В19V может привести к тяжелой анемии.

### Буньявирусы (*Hantavirus (Puumala, Hantaan, Dobrava и Seoul)*), вирус москитной лихорадки)

NEW

Большинство буньявирусов можно обнаружить в тропических и субтропических регионах. Исключение составляют хантавирусы и флебовирусы, которые представлены также и в Европе. Вирус *Puumala*, относящийся к роду *Hantavirus* встречается в Скандинавии, Европе и Восточно-Европейских странах. Вирус лихорадки паппатачи (вирус москитной лихорадки, Sandfly fever virus) из рода *Phlebovirus* распространен в средиземноморских странах.

Инфицирование человека хантавирусами происходит при вдыхании аэрозолей, содержащих экскременты грызунов. Эти вирусы являются причиной геморрагической лихорадки с почечным синдромом (HFRS) и хантавирусного геморрагического легочного синдрома (HPS). Хантавирусы *Puumala* вызывают HFRS-подобное заболевание умеренной тяжести (эпидемическая нефропатия). Инфекция часто может протекать бессимптомно. В Германии около 1,7% популяции имеют АТ к *Puumala*.

Лихорадка паппатачи переносится насекомыми (москиты, *Phlebotomus*). Заболевание обычно характеризуется лихорадочным состоянием и головной болью. Только серотип Toscana (TOSV) может вызывать лихорадку, сильную фронтальную головную боль и асептический менингит с тяжелыми неврологическими симптомами. В Европе IgG АТ к TOSV можно обнаружить у 2% населения.

Тест-система recomLine Bunyavirus IgG/IgM позволяет определять IgG и IgM АТ к иммунодоминантным N-антигенам *Hantavirus* (профильно серотипы *Puumala, Hantaan, Dobrava и Seoul*), а также к вирусу москитной лихорадки (серотип TOSV).

### Респираторно-синцитиальный вирус (RSV)

NEW

RSV является наиболее важной причиной пневмонии и бронхолитов у младенцев и маленьких детей. Он вызывает различные респираторные заболевания, наиболее часто простуду с профузной ринореей. В зимний период RSV провоцирует серьезные эпидемические вспышки среди грудных детей. У 25-40% детей, инфицированных в первый раз, развиваются заболевания нижнего дыхательного тракта (бронхолиты, пневмония, трахеобронхиты) и отиты. 1-2% инфицированных детей нуждаются в госпитализации. Вследствие высокой ин-

фекционности, а также восприимчивости персонала и пациентов больниц, RSV относится к наиболее частым причинам нозокомиальных инфекций в педиатрических отделениях.

RSV относится к семейству *Paramyxoviridae*, роду *Paramyxovirus*. Морфологически он сходен с остальными парамиксовирусами, за исключением того, что диаметр его геликального капсида меньше и составляет 13-14 нм по сравнению с 18 нм. RSV относится к АГ-гетерогенным видам с дифференциацией на штаммы, которые, в основном, отличаются по 1-2 поверхностным компонентам с АГ активностью. Эти различия, по-видимому, не имеют существенного диагностического значения, поскольку имеющиеся реагенты, включая моноклональные АТ, одинаково реагируют со всеми клиническими изолятами. При диагностике RSV инфекций чаще всего используют ИФА, реакцию нейтрализации, иммунофлуоресцентный метод, реакцию связывания комплемента, иммунохроматографию. ИФА представляет собой очень чувствительный и специфичный метод серологической диагностики RSV.

### Вирус гриппа

NEW

Вирус является возбудителем гриппа (инфлюэнцы), который может быть причиной серьезных осложнений у пациентов с основной патологией. Часто во время эпидемий очень трудно установить клинический диагноз, вследствие того, что он может быть перепутан с другими респираторными заболеваниями. Следовательно, представляется очень полезной лабораторная диагностика этого заболевания.

### Вирус парагриппа

NEW

Вирусы парагриппа (параинфлюэнца) 1, 2 и 3 типа обуславливают значительное количество случаев ларинготрахеобронхита (крупа) у детей 2-4-летнего возраста. Серотип 3 представляет эпидемическую, а серотипы 1 и 2 – эндемическую модель болезни. К современным методам серодиагностики парагриппа относят реакцию нейтрализации вируса, ингибирование гемагглютинации, непрямую иммунофлуоресценцию, реакцию связывания комплемента и ИФА, который является очень чувствительным и специфичным тестом.

### Аденовирусы

NEW

Аденовирусы, составляющие большую группу возбудителей инфекционных заболеваний, вызывают у человека острые вирусные болезни, протекающие с преимущественным пораже-

нием органов дыхания, глаз и лимфатических узлов. Основная часть поражений приходится на детей, особенно младшего возраста (пневмонии, бронхолиты и пр.). Кроме того, известно, что аденовирусы часто служат причиной развития инфекционно-аллергических состояний (ларинготрахеиты, аллергические аденоидиты, астматические бронхиты). Для лабораторной диагностики аденовирусных инфекций обычно используют три классических метода: прямое определение АГ в клинических образцах; изоляцию и идентификацию вирусных культур; серологические тесты, позволяющие оценить рост количества АТ. IgG являются доминирующим классом выявляемых АТ, однако в ряде случаев установить диагноз возможно, только определив IgM. Для оценки специфических АТ наиболее широко применяются реакция связывания комплемента (CF) и ИФА. Оба метода позволяют определять превалирующие АТ, направленные против группоспецифических детерминант на гексонах. Однако, ИФА более чувствительный и удобный метод.

### Метапневмовирус человека (hMPV)

NEW

hMPV относится к респираторным вирусным патогенам и способен вызывать целый спектр заболеваний от бессимптомной инфекции до тяжелых бронхолитов. Этот вирус был впервые выделен в 2001 г. в Дании из образцов, полученных от детей, страдающих острыми заболеваниями респираторного тракта. Впоследствии было показано, что hMPV чрезвычайно широко распространен во всем мире. Оказалось, что около 25% детей в возрасте 6-12 мес. имеют АТ к этому вирусу, а к 5-летнему возрасту серопозитивны 100%. Несмотря на то, что hMPV был открыт совсем недавно, результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что он циркулирует среди людей более 50 лет. По некоторым оценкам hMPV можно считать второй по значимости после респираторно-синцитиального вируса (RSV) причиной вирусных респираторных заболеваний.

Клинические симптомы заболеваний, вызванных hMPV (ринорея, гиперемия, кашель, тахипноэ, влажные хрипы и пр.), сходны с симптомами, характерными для RSV. Проявления инфекции варьируют от гриппоподобного состояния средней тяжести до тяжелых бронхолитов и пневмонитов. Часто наблюдаются обострения в виде астмы и свистящего дыхания. Группы риска – дети, пожилые люди, иммунокомпрометированные лица.

ЗАО «БиоХимМак» предлагает первую и единственную в мире коммерческую тест-систему для иммуноферментного определения антигена метапневмовируса человека (hMPV).

Предлагаемая тест-система имеет следующие характеристики:

- Выявление АГ hMPV в разнообразных образцах из респираторного тракта (тест-система позволяет выявлять как свободный, так и ассоциированный с клетками вирус)
- Уникальная комбинация моноклональных АТ к hMPV, позволяющая выявлять как фьюжн, так и матриксные белки hMPV
- Выявление всех известных штаммов hMPV
- Превосходная чувствительность и специфичность при сравнении с ПЦР
- Простая и удобная в использовании тест-система
- Полностью готовые к использованию реагенты, снабженные цветовой кодировкой
- Суммарное время инкубаций 2 часа 15 минут
- Стрипы разделяются на отдельные лунки
- CE-маркировка

## Тесты для определения бактериальных инфекций

### Туберкулез (*Mycobacterium tuberculosis*)

Природа туберкулеза (ТБ) и жизненный цикл возбудителя обуславливают значительные сложности в диагностике микобактериальных инфекций. Общие клинические проявления не всегда в действительности характеризуют ТБ, а специфические симптомы достаточно редки и не всегда последовательны, особенно в случае внелегочного ТБ (влТБ). Обычно клиницист подозревает ТБ инфекцию, когда он сталкивается с персистирующими симптомами, которые можно облегчить с помощью стандартного лечения, или когда отвергнуты все другие предположения.

В случае подозрения на ТБ обычно применяют рентгенологическое исследование, внутрикожный тест с туберкулином и бактериологический анализ. Рентгеновские снимки легких могут быть очень переменными и не специфичны для ТБ. Обычно применение этого вида исследований ограничено диагностикой легочного ТБ (лтТБ) и может оказаться полезным в случаях продолжительного активного ТБ, т.к. для развития осложнений требуется определенное время. У внутрикожного теста также есть недостатки. Результаты этого теста положительны в большом числе случаев после BCG-вакцинации; тест неспецифичен, на результаты также могут влиять и сапрофитные бактерии из окружающей среды, на которые у человека могла возникнуть иммунная реакция. Кроме того, часто наблюдаются ложноположительные результаты у пожилых людей, у ВИЧ<sup>+</sup> лиц и в прочих случаях иммунодепрессии. Таким образом, клинические и анатомо-патологические симптомы не достаточно специфичны

для ТБ и позволяют поставить только предварительный диагноз.

Выявление возбудителя ТБ осложняется несколькими проблемами. Во-первых, микобактерии очень медленно растут и, следовательно, их достаточно трудно изолировать из образцов, контаминированных другими микроорганизмами. Кроме того, выделение бацилл вместе с мокротой (образцы, используемые для выявления лтТБ) непостоянно. Несколько проб (обычно 3) необходимо протестировать прежде, чем с уверенностью исключить ТБ инфекцию. Эти пробы очень трудно получить в некоторых группах пациентов, таких как дети и пожилые люди. Альтернативные методы отбора проб, такие как бронхоальвеолярные смывы или желудочный аспират, также имеют свои недостатки. влТБ можно охарактеризовать наличием небольшой популяции бактерий и проблематичным определением их присутствия, а также серьезными трудностями в получении определенных типов образцов. Целый ряд проблем связан с самими диагностическими методами. Большинство тестируемых проб контаминировано другими микроорганизмами. Численность этих микроорганизмов и их высокая скорость роста могут маскировать присутствие возбудителей ТБ. Методы, разработанные для освобождения от посторонней микрофлоры, должны быть достаточно агрессивны, кроме того, в обработанных пробах элиминируется значительная часть присутствующих там возбудителей ТБ. Такое положение может привести к получению ложноотрицательных результатов при бактериологическом исследовании.

Неоспоримое преимущество использования бактериологических методов в диагностике ТБ состоит, прежде всего, в 100% специфичности; при этом возможные ошибки можно отнести только лишь на счет «человеческого фактора». Однако микробиологические анализы имеют достаточно низкую чувствительность (так, выявление положительных проб при диагностике влТБ, а также в случаях лтТБ у детей и престарелых, не превышает 50%). Тем не менее, культуральные методы (на среде Lowenstein-Jensen) считаются сегодня «золотым стандартом» в диагностике ТБ, т.к. ни один другой подход не позволяет достичь лучших результатов. Существенным недостатком бактериологического исследования являются сроки анализа (6-12 недель с использованием традиционных методов или 9-14 дней при помощи автоматических анализаторов). Первичная микроскопия окрашенного мазка мокроты также относится к весьма специфичным методам (75-98%). К сожалению, чувствительность в данном случае весьма ограничена (требуется не менее 10<sup>4</sup> бактерий/мл, тогда как для культурального метода необходимо 10-100 клеток/мл).

Определение АТ к возбудителю ТБ в сыворотке крови – новый и очень перспективный серологический метод диагностики этого заболевания. Данный подход может быть очень полезен для выявления лТБ у детей и престарелых (метод не требует сбора мокроты и множественных рентгенологических исследований), а также при диагностике вЛТБ.

**Преимущества метода:**

- Для проведения анализа необходимо 1,5-2 часа.
- Анализ прост в исполнении и легко воспроизводим. Для его постановки необходимо стандартное ИФА оборудование. Возможна автоматизация.
- Не требуется работы с пробами, содержащими патоген.
- Не требуется проведения тяжелых инвазивных процедур (биопсии) в случаях вЛТБ.
- Метод позволяет выявить инфекцию даже тогда, когда количества бактерий еще не достаточно для проведения микроскопического анализа.
- Исключена субъективная интерпретация результатов.
- Метод основан на выявлении АТ к возбудителю, а не его АГ, следовательно, может с успехом использоваться в тех случаях, когда прямое выявление патогена затруднено.

Комплекс А60 является специфичным АГ, обнаруженным в цитозоле типичных и атипичных микобактерий (*Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*). В 85% случаев инфицирования *M. tuberculosis* появляются АТ к А60. Специфичность *anda-tb* тестов – 71-100% при вЛТБ и 85-100% при лТБ. Показано, что ИФА тест-системы с использованием А60 всегда более чувствительны, чем микроскопия, и имеют такую же чувствительность, что и бактериологические методы. Подобные системы позволяют быстро обнаружить источник инфекции, диагностировать ТБ как легочной, так и внелегочной локализации, осуществлять контроль за эффективностью лечения и раннее выявление случаев рецидивов, оценить напряженность поствакцинального иммунитета. Кроме того, эти системы с успехом используются для мониторинга за пациентами с муковисцидозом (раннее выявление микобактериальных инфекций) и ВИЧ (прогнозирование риска поражения *M. avium*).

АТ к микобактериям отсутствуют у здоровых лиц. Однако, бессимптомные или abortивные инфекции, обусловленные микобактериями, сегодня встречаются гораздо чаще, чем раньше. Так, IgM АТ часто выявляются после контактов, обусловленных профессиональной деятельностью (персонал больниц, социальные работники и др.) или в неблагоприятных социальных условиях (особенно у детей). Позитивный IgM-тест, полученный с использованием сыворотки или спинномозговой жидкости, особенно полезен при установлении диагноза ТБ-менингита, для серодиагностики латентного лТБ или первичной внелегочной инфекции,

а также для прогноза в отношении рецидивов.

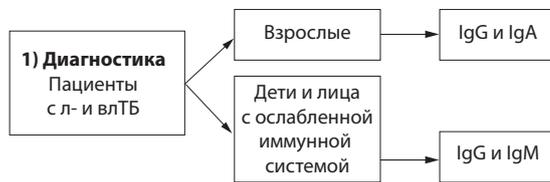
Здоровые неинфицированные люди негативны в отношении IgG АТ к микобактериям, даже в случае позитивной внутрикожной реакции или проживания в местности, эндемичной по ТБ. Преобладание бессимптомных субклинических инфекций в основном характерно для развивающихся стран, но они также встречаются и в развитых странах среди лиц, принадлежащих к определенным социальным и профессиональным группам (в целом в популяции серопозитивны 1,5-3%). У пациентов, страдающих ТБ, показано присутствие IgG АТ. Тест положителен в основном в случаях очевидной активной инфекции, а также после активной вакцинации здоровых людей. Присутствие IgG АТ свидетельствует о хорошем иммунологическом ответе пациента на инфекцию. Тест на IgG АТ может быть эффективен в соответствии с локализацией пораженного органа при вЛТБ. Так, например, ТБ-менингит провоцирует образование АТ в спинномозговой жидкости, достаточно легко выявляемое при разведении 1:10. У 10-20% пациентов наблюдается достаточно слабый гуморальный иммунологический ответ. У индивидуумов с подобной анергией может наблюдаться отсутствие IgG АТ (особенно до или вначале лечения), что можно отнести на счет превалирования реакций клеточного иммунитета.

Образование IgA АТ не зависит от синтеза IgG АТ и может наблюдаться даже у пациентов с IgG-анергическим статусом. IgA АТ легко образуют комплексы с АГ и играют роль в развитии воспалительных процессов в различных органах. Этот класс АТ без труда можно выявить в сыворотке возможно здоровых индивидуумов из группы риска, в мокроте пациентов, страдающих лТБ и в биологических жидкостях пациентов с вЛТБ. Специфические IgA АТ обнаруживаются у 30% пациентов с гранулематозной болезнью Крона.

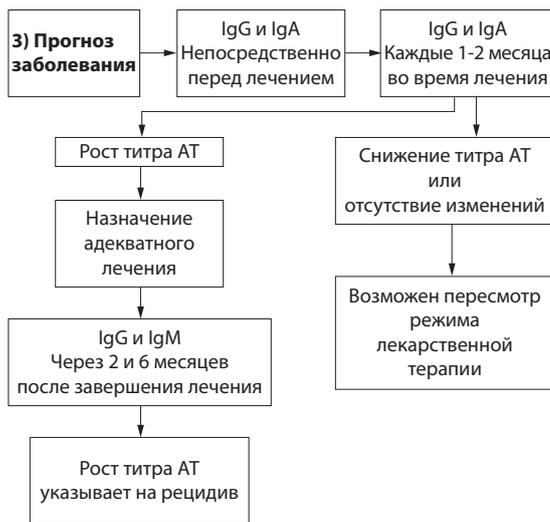
Нельзя не отметить, что серологическая диагностика ТБ ни в коей мере не может заменить классические микробиологические методы, которые и по сей день остаются золотым стандартом в диагностике этого заболевания. Данные серологических исследований всегда необходимо рассматривать **только** в комплексе с результатами, полученными с помощью других диагностических методов (клинические признаки, бактериологические методы и пр.).

Таким образом, к сожалению, среди всех доступных на сегодняшний день диагностических инструментов (микроскопические, культуральные, серологические методы, рентгенологическое исследование, ПЦР), не существует универсального по своему применению и легкого в исполнении метода. Ни одно единичное исследование не позволяет идентифицировать все формы ТБ. Установление диагноза и прогноз исхода заболевания осуществляется с помощью анализа совокупности клинических, радиологических, микробиологических и иммунологических данных.

Использование серологических маркеров в комплексной диагностике ТБ



2) Эпидемиология



Быстрый тест для выявления возбудителя ТБ в мокроте и в других видах образцов

NEW

Тест **patho-tb** относится к методам прямого выявления *M. tuberculosis* под микроскопом. Этот тест был разработан для того, чтобы компенсировать различные технические проблемы, связанные с микроскопическим методом (по Цилю-Нильсену). **Patho-tb** выявляет бактерии, осевшие на фильтре, с помощью специфических АТ. Эти АТ вступают в реакцию с конъюгатом коллоидных частиц золота: о присутствии бактерий можно судить по появлению красно-розового пятна на фильтре. Данный метод не требует 15-минутного просмотра препарата под микроскопом для того, чтобы подтвердить отрицательный результат – в этом случае результат можно получить за несколько секунд. Быстрое получение результатов также позволяет сократить количество ошибок вследствие человеческого фактора. Этот метод соответствует системе диагностики, рекомендованной ВОЗ (WHO) и Международным союзом против ТБ и заболеваний легких (IUATLD): используется стандартный метод деконтаминации (метод KUBICA), все реагенты для которого включены в состав набора. Единоразово деконтаминированная проба при необходимости может быть использована для выделения культуры, приготовления мазков для микроскопии и для теста **patho-tb**. Этот тест также может быть использован не только с образцами мокроты, но и со спинномозговой и плевральной жидкостью, гноем, аспиратами лимфатических узлов, биопсийным материалом и даже непосредственно с культурами для того, чтобы подтвердить принадлежность изолированного патогена к микобактериям.

ANDA-TB GA тест (скрининговое экспресс-исследование без использования приборов)

ANDA-TB GA является скрининговым тестом в диагностике ТБ. Целяная кровь, полученная от пациентов с ТБ, в присутствии альдегида образует гель значительно быстрее, чем кровь, полученная от здоровых лиц. Эта особенность связана с увеличением в крови концентрации фибриногена и/или поликлональных Ig. В пробирку, в которой находится глутаровый альдегид, вносится кровь пациента. Если образование геля происходит менее чем за 10 мин., то в 90% случаев можно говорить о наличии у пациента ТБ. Если образование геля произошло в течение 10-12 мин., то можно говорить о серонегативном результате, а если свыше 12 мин. – то о негативном. Положительный результат должен быть подтвержден с помощью других анализов – серологического или микробиологического. Для каждого пациента данные, полученные в тесте, обязательно должны дополняться результатами основных и обязательных клинических исследований. Необходимо отметить, что

в 12% случаев положительный результат может быть связан с острыми респираторными заболеваниями.

### ТВ-Spot ver.2.0 (тест-гребенка – быстрый серодиагностический тест для выявления ТБ)

NEW

ТВ-Spot – это простой быстрый (20 мин.) и надежный серодиагностический тест, который может обнаруживать антимикобактериальные АТ (амБАТ) в сыворотке, плазме или цельной крови (с антикоагулянтом). Тест идеально подходит для скрининга больных активным ТБ, т.к. не требует никакого оборудования для анализа.

В ТВ-Spot используются два высокоочищенных АГ – липоарабиноманнан (ЛАМ) и рекомбинантный АГ 38 кДа. ЛАМ является высокоиммуногенным ЛПС, присутствующим на клеточной стенке всех представителей рода *Mycobacteria*, он участвует в иммунопатогенезе ТБ. АГ 38 кДа *M. tuberculosis* – уникальный белок, специфичный для патогенных микобактерий всех известных возбудителей ТБ (*M. tuberculosis*, *M. bovis* и *M. africanum*). Смесь из рекомбинантного белка 38 кДа и высокоочищенного ЛАМ, полученного из *M. tuberculosis*, сорбирована в виде пятен на пластиковые гребенки. Когда гребенка инкубируется в образце, специфические амБАТ, если таковые имеются, связываются с АГ. Затем гребенка отмывается от неспецифических АТ и инкубируется в детектирующем реагенте на основе коллоидного золота. Частицы реагента ассоциированы с белком А, который связывается амБАТ, образуя комплекс АГ-АТ-белок А. В итоге, в случае положительного результата на пластиковой гребенке появится окрашенное пятно. Чувствительность теста ТВ-Spot составила 80-85%, а специфичность – 95%.

Из отчета МНПЦ борьбы с ТБ от 10 февраля 2006 г.: «Считаем возможным рекомендовать «ТВ-spot» (rapid serodiagnostic test for tuberculosis) производства «SPAN Diagnostics Ltd.» для применения в учреждениях здравоохранения Российской Федерации (общей лечебной сети и противотуберкулезных диспансерах) с целью диагностики ТБ и прежде всего раннего, предварительного выявления лиц с подозрением на это заболевание».



### Иерсиниозы (*Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*)

NEW

*Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* – грамотрицательные патогенные бактерии. Они распространены повсеместно: от регионов с умеренным климатом до субтропиков. Резервуаром инфекции служат теплокровные животные с латентной инфекцией. Заражение происходит орально через контаминированную воду и пищу. Клинические признаки инфекции *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* сходны. Различают кишечную (абдоминальную), псевдоаппендикулярную и септицемическую (генерализованную) формы заболевания. Типичные симптомы острой инфекции *Y. enterocolitica* – диарея, боль в желудке и лихорадка. Болеют люди всех возрастов, но чаще дети 1-3 лет. Иерсиниоз регистрируется в течение всего года, заболеваемость несколько увеличивается в октябре-ноябре. В то время как диарея является основным симптомом у детей, старшие пациенты в основном страдают от боли в животе, которую можно принять за острый аппендицит. Очень серьезными осложнениями этого заболевания являются острый реактивный артрит, узловая эритема, острый гломерулонефрит и миокардит. Генетический маркер HLA-B27 имеет большую значимость для клинической манифестации острого реактивного артрита, развивающегося после инфекции *Yersinia*. Около 70% пациентов с иерсиниозным артритом имеют маркер HLA-B27.

Маркеры вирулентности локализованы на поверхности клеток и характерны только для патогенных штаммов *Yersinia*. Соответствующие гены локализованы в 70 Kb плазмиде в одном вирулентном опероне («вирулоне»). В специальных условиях эти плазмиды-ассоциированные белки высвобождаются в окружающую среду. Они получили название «YOPs» (*Yersinia* outer membrane proteins – белки наружной мембраны).

На основании серологической дифференциации *Yersinia* по О АГ выделяют около 60 штаммов *Y. enterocolitica* и 7 штаммов *Y. pseudotuberculosis* (О серовары). Серовары 3 и 9 *Y. enterocolitica* обычно вызывают заболевания у людей. После открытия островка патогенности эта дифференциация потеряла свое значение – все инфекции, вызываемые патогенными штаммами *Yersinia*, выявляются с помощью идентификации YOP-специфических АТ.

Бактериологические методы диагностики включают в себя выделение возбудителя из крови, фекалий, мочи, желчи, цереброспинальной жидкости, мокроты, мазка со слизистой оболочки глотки, мезентериальных лимфатических узлов. «Золотым стандартом» серологической диагностики является обнаружение агглютинирующих АТ к Н и О АГ *Y.*

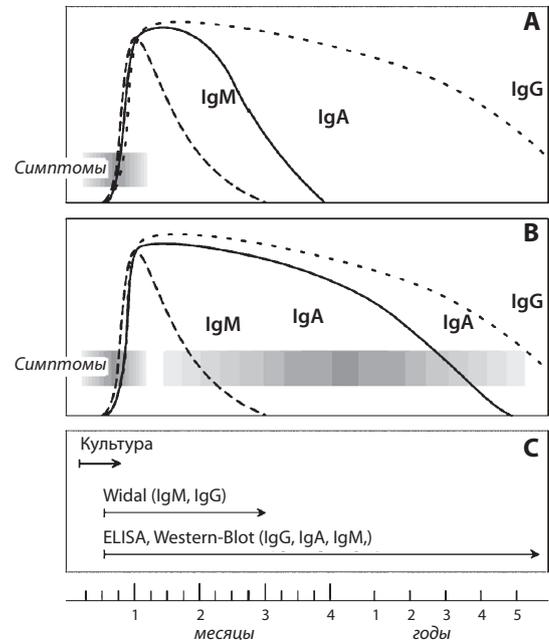
*enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* (Widal). В этом тесте выявляются только IgG и IgM, но не IgA АТ. Как правило, для получения результата этим методом требуется анализ парных сывороток (выявление роста титра). Более того, существуют сложности, обусловленные специфичностью реакции агглютинации Widal (перекрестные реакции с *B. abortus*, *Rickettsia*, *Morganella*, *Salmonella* и др. представителями семейства *Enterobacteriaceae*). Титр в реакции агглютинации, как правило, относительно быстро снижается и повышается незначительно в течение поздней и хронической стадии заболевания. Это означает, что в случае тяжелой инфекции и индуцированного *Yersinia* реактивного артрита не редки ложноотрицательные результаты.

В последнее время на основе рекомбинантных АГ разработаны высоко чувствительные и специфичные ИФА тест-системы и иммуноблоты, позволяющие определять разные классы специфических АТ к YOP. Подобный подход позволяет выявлять все серовары *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*; избежать перекрестных реакций с *Brucella* и др. патогенами; сразу же получить сведения о вирулентности патогена.

IgG АТ к YOP персистируют в организме в течение нескольких лет. Показано, что IgG АТ к *Yersinia* выявляются в среднем у 30-40% (до 50%) популяции. В отношении IgA АТ к *Yersinia* позитивно 11% (до 25%) популяции. При нормальном течении заболевания IgG и IgA АТ исчезают, или, по крайней мере, снижаются до очень низких титров в течение нескольких месяцев. При инфекциях с осложнениями (реактивный артрит, узловатая эритема и пр.) титры IgA обычно остаются достаточно высокими, иногда в течение нескольких лет, в то время как титр IgM быстро падает в течение нескольких месяцев. Поэтому определение IgA очень полезно для прояснения диагноза при признаках реактивного артрита и др. симптомах.

**Диагностически важные YOP, использованные в recomLine *Yersinia* производства Mikrogen, Германия**

Антиген	Размер (кДа)	Функция
YOP M	58	Ингибирование агрегации тромбоцитов
YOP H	46	Резистентность к фагоцитозу, цитотоксичность (?)
V-AG	38	Ингибирование TNF-α
YOP D	35	Ингибирование TNF-α
YOP N	34	Ассоциирован с <i>Yersinia</i> артритом (?)
YOP E	25	Цитотоксичность



- A. Изменение титра специфических антител к иерсиниям в случае остро и неосложненного иерсиниоза: энтерит, псевдоаппендицит, *Yersinia* колит, *Yersinia* сепсис, лимфоаденопатия**
- B. Изменение титра специфических антител к иерсиниям в случае иммунологических осложнений и хронического иерсиниоза: реактивный артрит, узловатая эритема, илеит, лимфоаденопатия, гломерулонефрит, миокардит**
- C. Методы диагностики и ограничения их использования на разных стадиях развития инфекции**

### *Helicobacter pylori* (H.p.)

NEW

Первые описания спиралеобразных микроорганизмов в желудке человека появились в конце прошлого века. Marshall в 1982 г. и Warren в 1983 г. успешно выделили и культивировали микроорганизм от пациента, страдающего активным хроническим гастритом, и представили его детальное описание: *Helicobacter pylori* - это грамотрицательная спиралеобразная бактерия, которая, в первую очередь, обнаруживается в слизистой оболочке антрального отдела желудка. До сих пор не ясно, как передается H.p. Возможно, что передача происходит по орально-оральному или фекально-оральному пути. Существуют причинно-следственные отношения между H.p. и практически всеми дуоденальными и желудочными язвами и MALT (mucosa-associated lymphoid tissue, лимфоидная ткань слизистых оболочек) лимфомами желудка. Она также ассоциирована с повышенным риском аденокарциномы

желудка. Недавно *H.p.* была классифицирована ВОЗ как относящийся к канцерогенам группы 1 патоген. Около 50% всей популяции во всем мире инфицировано, встречаемость в индустриальных странах значительно ниже, чем в развивающихся странах. Инфицирование обычно происходит в детстве, и затем возбудитель персистирует в организме на протяжении жизни. Хотя у всех людей, инфицированных *H.p.*, гистологически развивается гастрит, инфекция клинически не проявляется у большей части пациентов. Примерно у 10% инфицированных пациентов развиваются серьезные заболевания, такие как пептическая язва, карцинома желудка или MALT-лимфома. Различная вирулентность штаммов считается возможной причиной этого явления.

Хотя *H.p.* обладает большим генетическим разнообразием, практически все фенотипические характеристики консервативны. В настоящий момент, единственные известные фенотипические отличия заключаются в ограничении продукции или отсутствии продукции вакуолизирующего цитотоксина VacA и ассоциированного с ним белка CagA. По этому признаку клинические штаммы можно разделить на две группы. Отмечено, что пациенты с язвами 12-перстной кишки гораздо чаще инфицированы VacA и CagA экспрессирующими штаммами *H.p.* (тип 1). Это свидетельствует о том, что инфекция типа 1 приводит к более серьезному течению заболевания. Клинические факты подтверждаются тем наблюдением, что лизаты *H.p.* типа 1, но не 2, или выделенный VacA могут повреждать ткани желудка у мышей. Важность CagA заключается в генетически связанных регионах *picA* и *picB*, которые, как предполагается, ответственны за индукцию цитокинов.

Устранение инфекции *H.p.* комбинированной терапией антибиотиками является методом лечения не только гастритов или пептической язвы, но и низкоккачественных MALT-лимфом желудка. Хотя пептические язвы могут излечиваться и без устранения *H.p.*, в этом случае в отсутствие постоянной терапии для снижения кислотности в течение одного года примерно у половины пациентов наблюдаются рецидивы заболевания. А рецидивы при успешном устранении *H.p.* инфекции возникают менее, чем в 5%.

Методы диагностики инфекции *H.p.* можно условно разделить на две группы – инвазивные тесты (требуют эндоскопии) и тесты, не требующие эндоскопии. Из числа тестов, требующих эндоскопического вмешательства (биопсии слизистой), наиболее распространены: быстрый уреазный тест, гистологическое исследование, культуральный метод и ПЦР (см. табл.). Гастроскопия в первую очередь рекомендуется для исключения злокачественных

заболеваний. Только при культивировании выделенного возбудителя возможно проведение тестов на устойчивость к антибиотикам, которые особенно важны для пациентов, у которых не наблюдается ответа на лечение. Однако, ни гастриты, ни инфекция *H.p.* не могут быть подтверждены или исключены только гастроскопией.

**Инвазивные тесты (требуют эндоскопии и биопсии слизистой) для диагностики инфекции *H.p.***

Тест	Примечание
Гистологическое исследование	Выполняется при исследовании биоптата, полученного при эндоскопии, выявившей патологию
Быстрый уреазный тест	Относительно недорогой метод, позволяющий быстро (1-24 ч) получать результаты; менее точен при остром кровотечении
Культуральный метод	Дорогой и очень трудоемкий метод
ПЦР	Обладает высокой чувствительностью и специфичностью. В будущем перспективен для выявления чувствительности к антибиотикам, определения вирулентности и т.п.

**АГ, использованные в Immunoblot *Helicobacter IgA* и *IgG* (Mikrogen, Германия)**

Белок/АГ м.м. [кДа]	Название	Функции
120/87	CagA/VacA	Цитотоксин-ассоциированный белок, вакуолизирующий цитотоксин
67	–	–
62	UreB	Уреазная субъединица
58	HspA, HspB	Белки теплового шока
54	FlaA	Флагеллин
47	–	–
33	–	–
29	UreA	Уреазная субъединица
28	–	–
25	–	–
19	–	–

Неэндоскопическая диагностика включает в себя серологические методы, дыхательные уреазные тесты (UBT) и выявление АГ *H.p.* в кале (см. табл.). Согласно последнему Маастрихтскому консенсусу (Maastricht III – 2005), разработанному EHSG (European *Helicobacter* Study Group), рекомендуется использовать неинвазивные тесты:

## Не требующие эндоскопического вмешательства тесты для диагностики инфекции Н.р.

	Выявление АТ	Уреазный дыхательный тест (UBT)	Уреазный дыхательный тест (UBiT)	Выявление АГ в кале
Клиническая значимость	Выявление текущей и предшествовавшей инфекции	<ul style="list-style-type: none"> <li>Выявление текущей инфекции</li> <li>Оценка эффективности лечения</li> <li>Подтверждение выздоровления</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Выявление текущей инфекции</li> <li>Оценка эффективности лечения</li> <li>Подтверждение выздоровления</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Выявление текущей инфекции</li> <li>Оценка эффективности лечения</li> <li>Подтверждение выздоровления</li> </ul>
Определяемый показатель	IgG, A, M АТ к Н.р.	Высвобождение <sup>13</sup> CO <sub>2</sub>	Высвобождение <sup>13</sup> CO <sub>2</sub>	АГ Н.р.
Метод	Иммуноферментный анализ, иммуноблот	Масс-спектрометрия (GIRMS)	ИК спектрометрия	ИФА
Первичный реагент	АГ Н.р. (очищенные, рекомбинантные)	<sup>13</sup> С-мочевина	<sup>13</sup> С-мочевина	Поликлональные или моноклональные АТ к Н.р.
*Средняя чувствительность, %: для диагностики для контроля эрадикации	96 -	95 96	Нет данных	96 95
Средняя специфичность, %: для диагностики для контроля эрадикации	96 -	90 96	Нет данных	96 96
Ложноположительные результаты	Предшествующая инфекция (IgG АТ могут персистировать достаточно долгое время после эрадикации)	Другие микроорганизмы, продуцирующие уреазу (например, <i>H. heilmannii</i> )	Ахлоргидрия; другие микроорганизмы, продуцирующие уреазу (например, <i>H. heilmannii</i> )	Не известны
Ложноотрицательные результаты	<ul style="list-style-type: none"> <li>Образцы, отобранные до начала сероконверсии;</li> <li>Очень низкий уровень АТ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ингибиторы протонной помпы</li> <li>Антибиотики</li> <li>Соединения, содержащие висмут</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ингибиторы протонной помпы</li> <li>Антибиотики</li> <li>Соединения, содержащие висмут</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Очень низкий уровень содержания АГ</li> <li>Ингибиторы протонной помпы</li> <li>Антибиотики</li> <li>Соединения, содержащие висмут</li> </ul>
Тип образца	Сыворотка	Выдыхаемый воздух	Выдыхаемый воздух	Кал

\*Для сравнения – чувствительность гистологического метода, быстрого уреазного теста (RUT), культурального метода и ПЦР составляет, в среднем, 93, 90, 90 и 93%, соответственно.

- для диагностики и выбора стратегии лечения (при возможности UBT; выявление АГ в кале; высококачественные наборы для определения АТ);
- для контроля выздоровления после эрадикации (при возможности UBT; выявление АГ в кале).

Выявление АГ Н.р. в кале с помощью ИФА не требует абсолютно никакого инвазивного вмешательства, что особенно важно для детей. Этот тест имеет очень высокую чувствительность и специфичность и

с одинаковым успехом может быть использован как для выявления инфекции, так и для мониторинга за эффективностью лечения.

Иммуноблотинг является очень перспективным серологическим методом диагностики Н.р. Этот метод имеет высокую диагностическую значимость, т.к. позволяет профильно выявлять АТ к высокоиммуногенным и высокоспецифичным АГ вирулентных штаммов.

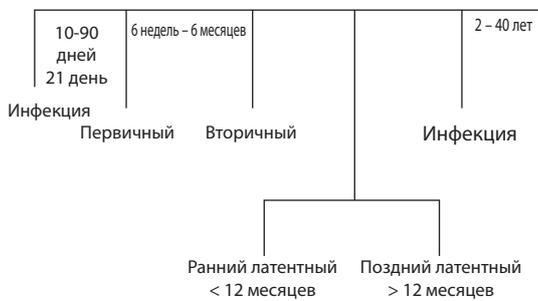
**Сифилис (*Treponema pallidum*)**

NEW

Сифилис остается одним из важнейших заболеваний человека, передающихся половым путем. По приблизительным оценкам ВОЗ, в мире ежегодно заражаются сифилисом 15 млн. человек. По данным Центрального исследовательского кожно-венерологического института Минздрава РФ (ЦНИКВИ), нынешний уровень заболеваемости сифилисом в России превышает европейские показатели почти в 25 раз. В 2002 г. показатель заболеваемости сифилисом в России сохранялся на уровне 119 случаев на 100 тысяч человек, что соответствует показателям в период после второй мировой войны. В странах с нормальным уровнем заболевания сохраняется тестовый показатель 4,9 случая на 100 тысяч населения.

Сифилис – хроническое венерическое заболевание, затрагивающее все органы и ткани. По мере развития болезни различают несколько стадий (см. рис.).

**Нелеченый сифилис**



Заболевание передается при прямом контакте с инфекционными поражениями через микротравмы на коже или слизистой оболочке (обычно при половых контактах), а также при гемотрансфузиях. Возбудитель сифилиса (*T. pallidum*) может передаваться плоду во время беременности. Приблизительно 40% таких случаев заканчивается выкидышем или смертью ребенка сразу после рождения. Вероятность внутриутробного заражения составляет 40-70%. Если у новорожденного нет симптомов, то, при отсутствии соответствующего лечения, они проявляются в течение нескольких недель. Приблизительно 12% инфицированных сифилисом новорожденных детей умирает.

Выделение возбудителя обычно не проводят. Основная диагностика – методы, направленные на обнаружение возбудителя в материале с помощью микроскопии (микроскопия в темном поле и т.п.), ПЦР и выявление АТ серологическими методами (см. табл.).

Липидные антигены *T. pallidum* составляют значительную часть клетки (АТ к ним появляются примерно

на 5-6 неделе после заражения). Однако в организме могут присутствовать и имеющие такое же строение липиды – аутоАГ, образующиеся в результате разрушения органов и тканей (в основном липиды митохондриальных мембран).

Наибольшую диагностическую значимость и высокую иммуногенность имеют специфические белковые АГ *T. pallidum*. Различают общие для патогенных и сапрофитных трепонем (групповые АТ) и специфичные только для патогенных трепонем, например, Тр 47, ТррА, Тр37, Тр17, Тр15 (TROMPs – редкие белки внешней мембраны *T. pallidum*). АТ к этим АГ появляются уже в конце инкубационного периода или в течение первой недели после появления твердого шанкра.

IgM АТ появляются на 2-4 нед. после заражения и исчезают у нелеченных больных примерно через 18 мес. При лечении раннего сифилиса IgM исчезают через 3-6 мес., позднего – через 1 год. IgG АТ появляются обычно на 4 нед. после заражения и, как правило, достигают более высоких титров, чем IgM. АТ этого класса могут сохраняться даже после клинического излечения пациента до 20 лет и более. При скрининговых исследованиях в качестве отборочного теста обычно используют одновременное выявление IgG и IgM АТ. Для уточнения диагноза большую значимость имеет определение IgM АТ.

**Нетрепонемные тесты (по Egglestone, Turner, 2000 с дополнениями)**

Улавливающая система	Тест
При добавлении к плазме или сыворотке крови больного сифилисом эмульсии кардиолипинового антигена образуется преципитат (комплекс АГ-АТ), выпадающий в виде хлопьев белого цвета	Микрореакция преципитации с кардиолипиновым антигеном (MP, РМП)
Суспензия липосом, дающая видимую реакцию флоккуляции с АТ к липидным АГ	VDRL (Venereal Disease Research Laboratories; аналог MP)
Смесь суспензии липосом с частицами угля, образующая темноокрашенные хлопья при захвате угольных частиц системой, построенной из комплексов АГ-АТ	RPR (ускоренный плазмареагиновый тест; аналог MP)
АГ VDRL, сорбированный на поверхности лунок микропланшета и реагирующий с АТ, определяемыми методом ИФА	ИФА (реагины)
АГ VDRL, сорбированный на поверхности лунок микропланшета реагирует с АТ, определяемыми в реакции с эритроцитами, sensibilizированными антивидовыми АТ к IgG и IgM	SPEA (реакция гемабсорбции на твердой фазе)

## Трепонемные тесты (по Egglestone, Turner, 2000 с дополнениями)

Антиген	Улавливающая система	Тест
Живые патогенные трепонемы	Взвесь живых трепонем	РИТ, РИБТ (реакция иммобилизации бледных трепонем)
Интактные трепонемы	Трепонемы, фиксированные на стеклах	РИФ (реакция иммунофлуоресценции), РИФ-абс (РИФ с абсорбцией), РИФ-ц, РИФ с капиллярной кровью из пальца и т.п.
Очищенные и разрушенные ультразвуком трепонемы	Связаны с эритроцитами	РПГА (реакция пассивной гемагглютинации)
	Связаны с желатиновыми частицами	Реакция агглютинации частиц (ТРПА)
	Связаны с поверхностью лунок микропланшета	ИФА
	Белки, разделенные методом электрофореза в полиакриламидном геле и перенесенные на мембраны методом вестерн-блоттинга	Иммуноблоттинг
Рекомбинантные	Связаны с поверхностью лунок микропланшета	Рекомбинантный ИФА
	Белки, разделенные методом электрофореза в полиакриламидном геле и перенесенные на мембраны методом вестерн-блоттинга	Иммуноблоттинг с рекомбинантными АГ
	Связаны с частицами латекса	Латекс-агглютинация

## Подходы к лабораторной серологической диагностике сифилиса: прошлое, настоящее, будущее (Г.А. Дмитриев, 2004)

Приказ №1161 (1985 г.)	Приказ №87 (2001-2006 г.)	После 2006 г. (?)
КСР: РСК (реакции Вассермана) с кардиолипиновым и трепонемным антигенами + РМП – отборочные и диагностические реакции	РМП/RPR и их аналоги – отборочная реакция, качественный и количественный варианты РИФ, РИБТ – диагностические реакции ИФА, РПГА – отборочные и диагностические реакции, в том числе для ликвородиагностики РИФ, РИБТ – диагностические реакции	РМП/RPR и их аналоги – отборочная реакция, качественный и количественный варианты ИФА, РПГА – отборочные и диагностические реакции, в том числе для ликвородиагностики
	РСК (Вассермана) – диагностическая реакция	РИФ, РИБТ – диагностические реакции ↓ только по показаниям

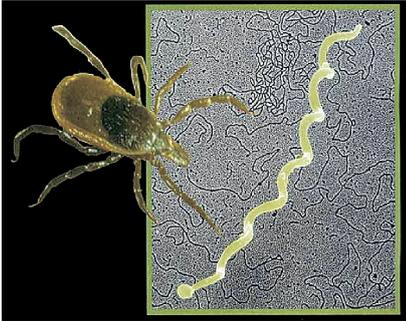
Согласно приказу Министерства Здравоохранения РФ №87 от 26 марта 2001 года «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» до 2006 г. осуществляется замена комплекса серореакций (КСР) при диагностике сифилиса на ИФА и РПГА в качестве отборочных и подтверждающих тестов, т.к. эти тест-системы являются высокочувствительными, специфическими и воспроизводимыми.

Одним из самых современных методов серодиагностики сифилиса является иммуноблоттинг (Western blot) для определения IgM и IgG АТ. По оценке специалистов иммуноблоттинг с рекомбинантными высокоспецифичными АГ по чувствительности и специфичности аналогичен РИФ-абс.

## Лайм-боррелиоз (*B. burgdorferi*, *B. afzelii* и *B. garinii*)

Инфекционное природноочаговое заболевание, передающееся через укусы иксодовых клещей, с преимущественным поражением кожи, нервной системы, опорно-двигательного аппарата, сердца. Болезнь может протекать в острой и хронической формах. Природные очаги Лайм-боррелиоза (ЛБ) имеют широкое распространение в Европе, Северной Америке, Азии и приурочены, главным образом, к лесным ландшафтам умеренного климатического пояса и совпадают с очагами клещевого энцефалита.

В России заболевание регистрируется на значительной территории. Показатель заболеваемости ЛБ в среднем по России превышает заболеваемость клещевым энцефалитом. В большой мере регистрируемая заболеваемость ЛБ в различных странах и регионах зависит от уровня диагностики данной инфекции. По прогнозам, ежегодно в нашей стране может возникать до 10-11 тыс. новых случаев иксодовых боррелиозов.



На территории России наиболее широко распространены два вида боррелий – *B. afzelii* и *B. garinii*. После многолетних исследований в последние годы в нашей стране выявлен и третий – *B. burgdorferi s.s.*, ранее обнаруживаемый только в Америке и Европейских странах.

В отношении ЛБ для Евразии эпидемическое значение имеют клещи *Ixodes ricinus* и *persulcatus*. Западная часть России является местом обитания этих двух видов клещей, тогда как на восточной обнаружен только *Ixodes persulcatus*. В России ЛБ могут переносить от 10 до 80% популяции клещей. Наличие в одном переносчике сразу двух, а иногда и трех разновидностей боррелий приводит к сочетанной инфекции. Если клещ является переносчиком ЛБ и клещевого энцефалита (КЭ), при его укусе может возникнуть смешанная инфекция. Случаи комплексной инфекции ЛБ и КЭ могут составлять 10-15% от всей группы больных. Часто не наблюдается простого сочетания клинических признаков этих двух заболеваний, и болезнь протекает с преобладанием проявлений какой-либо одной инфекции, или же приобретает особенные черты. Это обстоятельство, а также частота микст-инфекции делает необходимыми целенаправленные исследования для исключения как ЛБ, так и КЭ, а также проведения в ряде случаев одновременного лечения боррелиоза и энцефалита.

Кроме белка наружной мембраны OspC (22 кДа) и специфической внутренней части АГ р41 (флагеллин) для диагностики рекомендуется использовать высоко специфичные АГ *B. burgdorferi* р100, VlsE и р18 (белок А, Osp17). OspC, р18 и VlsE представляют собой белки, синтезируемые только *in vivo*. В культуре они либо не

синтезируются совсем, либо присутствуют в крайне небольших количествах, поэтому их получают рекомбинантным способом. Выявление IgM, а также IgG к флагеллину (р41 и его фракции р41i), OspC свидетельствуют об относительно небольшом промежутке времени, прошедшем с момента инфицирования (ранняя стадия ЛБ). Выявление АТ к р18, р100 позволяет сделать заключение о достаточно продолжительном периоде времени, прошедшем с момента инфицирования (даже в случаях бессимптомного течения заболевания). Если после проведенного лечения и выписки пациента из стационара у него вновь выявляются признаки ЛБ на фоне повышенного содержания IgM и IgG (к флагеллину), то это следует расценивать как случаи повторного заражения.

Всегда следует помнить о возможности получения в серологических тестах ложноотрицательных или ложноположительных результатов исследования. Ложноотрицательные результаты могут наблюдаться у пациентов с проявлениями иммунодепрессивных состояний (неопластические процессы, СПИД и др.), а также на ранних стадиях ЛБ. Использование диагностических тест-систем, основу которых составляет ограниченный набор АГ (например, только OspA), может привести к ситуации, когда отрицательный результат исследования обусловлен тем, что иммунная система человека просто не продуцирует против этих АГ специфические АТ, поскольку у боррелий, персистирующих в организме человека, эти белки отсутствуют. Ложноположительные результаты возможны из-за «эффекта перекреста» при наличии у пациентов других (инфекционных и неинфекционных) заболеваний. Например, у больных трепонематозами (возбудители *T. pallidum* и *T. phagedenis*) и другими спирохетозами (возбудители клещевого возвратного тифа: *B. persica*, *B. hermsii*, *B. duttoni* и др.), т.к. вышеуказанные микроорганизмы имеют многие сходные АГ-детерминанты с таковыми у возбудителей ЛБ. Такие перекрестные реакции с АТ, образующимися при сифилисе, возвратном тифе или лептоспирозе полностью исключаются благодаря использованию тест-систем с высокоспецифичными рекомбинантными АГ *B. burgdorferi s.l.*

### ***Mycoplasma pneumoniae* (M.p.)**

М.р.– главная причина атипичной пневмонии и составляет 30% всех пневмоний. М.р. также ассоциируется с нереспираторными заболеваниями, такими, как менингиты, энцефалиты, панкреатиты, синдром Стивена-Джонсона, потеря чувствительности слуха. Данные серологических исследований свидетельствуют о значительном числе бессимптомных форм или носительстве. При атипичных пневмониях вне-

больничного происхождения М.р. является основным возбудителем у детей старше 5 лет (в школах четверть микоплазменных инфекций завершается пневмонией) и молодежи до 25 лет, а также вызывает заболевание и в более зрелом возрасте (8-30% в зависимости от эпидемиологической ситуации и сезона года). Инфекция может возникнуть и у лиц пожилого возраста, но тогда она чаще протекает в форме обострения хронического бронхита. Необходимо отметить, что 20% детей, у которых в крови определяется *Chlamydia pneumoniae*, инфицированы М.р.

Микоплазмы являются самыми мелкими по размерам среди внеклеточно культивируемых патогенных микроорганизмов. К основным биологическим особенностям микоплазм, определяющим их место среди других прокариот, а также во многом определяющим их эпидемиологическое значение и подходы к диагностике и лечению, относятся:

1. Отсутствие ригидной клеточной стенки, что обуславливает полиморфизм клеток; резистентность к различным агентам, подавляющим синтез клеточной стенки, прежде всего к пенициллину и другим бета-лактамам
2. Малый размер генома – около 500 мДа (наименьший для прокариот)
3. М.р. – не внутриклеточный, а мембрано-ассоциированный микроорганизм, уникальный мембранный паразит, способный к длительной персистенции.

Основные трудности, встающие перед врачом при ведении пациентов с атипичной пневмонией, очевидно, лежат в области диагностики, а не антимикробной химиотерапии. Культуральные методы обладают высокой специфичностью, но недостаточной чувствительностью и, кроме того, окончательные результаты бывают готовы через несколько недель. Наконец, с учетом способности М.р. к персистенции, ее выделение не является 100% подтверждением острой микоплазменной инфекции. Поэтому в практических лабораториях для диагностики микоплазменной инфекции наибольшее распространение получили иммунологические методы, основанные на выявлении в клиническом материале микоплазменных АГ или определении специфических АТ к ним.

Наиболее приемлемым стандартом серологической диагностики микоплазменной инфекции сегодня является ИФА с обнаружением специфических IgA, M и G АТ. ИФА демонстрирует высокую чувствительность и специфичность – 92 и 95%, соответственно. Время сероконверсии, т.е. четырехкратного возрастания титра антимикоплазменных АТ при последовательном исследовании проб крови, взятых в остром периоде заболевания и в периоде реконвалесценции, обычно составляет 3-8 недель.

Компания «Savyon» (Израиль) разработала полуколичественные иммуоферментные тесты для диагностики микоплазменной пневмонии, которые способны обеспечить контроль за изменениями концентрации антимикоплазменных IgG, A, M АТ в человеческой сыворотке. Тест SeroMP – ранний и точный маркер микоплазменной инфекции. Одновременное исследование специфических IgM, A и G АТ детектирует 99% всех микоплазменных инфекций – и первичных, и реинфекций. При этом 78% первичных инфекций диагностируются только определением специфических IgM АТ.

### Хламидиоз (*Chlamydia*)

Хламидии являются внутриклеточными энергетическими паразитами слизистой оболочки человека и животных, и родственны грамотрицательным бактериям. Известны три вида хламидий, патогенных для человека: *Chlamydia trachomatis* (ChT), *Chlamydia pneumoniae* (ChP) и *Chlamydia psittaci* (ChPs).

***Chlamydia trachomatis* (ChT).** Вызываемая этим возбудителем инфекция, по оценкам ВОЗ, занимает второе место среди заболеваний, переносимых половым путем после трихомонадных инфекций. Ежегодное распространение по всему миру составляет 50 млн. заболевших. ChT является причиной эндемической трахомы, паховой лимфогрануломы, а также возбудителем многих заболеваний как у новорожденных, так и у взрослых, чаще всего переносимых половым путем. У мужчин ChT приводит к негонорейным/постгонорейным уретритам, эпидидимитам, простатитам, конъюнктивитам, атипичным пневмониям, реактивным артритам, бесплодию. У женщин этот возбудитель является причиной уретритов, цервицитов, сальпингитов, эндометритов, конъюнктивитов, атипичных пневмоний, реактивных артритов, бесплодия, эктопической беременности, а также преждевременных схваток, отхода околоплодных вод и родов. У новорожденных ChT вызывают конъюнктивит, интерстициальную пневмонию. Инфицирование новорожденных происходит во время родов у асимптомно болеющих матерей.

***Chlamydia pneumoniae* (ChP; по новой классификации *Chlamydophila pneumoniae*).** ChP, до 1989 г. описываемая как TWAR, отличается ярко выраженной способностью вызывать респираторные инфекционные заболевания, особенно бронхит и пневмонию. Высокая степень заболеваемости имеет место среди детей и пожилых людей. Считается, что 10-20% от всех случаев пневмонии и 5% случаев синусита и бронхита обусловлено этим возбудителем, хотя целый ряд авторов полагает, что ChP является наиболее распространенной причиной заболеваний с известной эти-

ологией. Каждые 3-6 лет регистрируются эпидемии, связанные с ChP. Этот микроорганизм является ко-фактором для развития реактивного артрита. ChP обнаружены в склеротически измененных коронарных артериях людей. По последней информации в 90% случаях в мозге у пациентов с болезнью Альцгеймера выявляются ChP. В сыворотке таких пациентов при определении IgA АТ положительный результат был получен в 45% случаях, при определении IgG АТ – в 36% случаях. В случае болезни Паркинсона положительный результат для IgA составил 35%, для IgG – 83%.\*

Показано, что, помимо продуктивного цикла, для хламидий возможна их длительная персистенция без выраженной симптоматики. Морфологические методы выявления хламидий (окраска микроскопических препаратов по Романовскому-Гимзе и т.п.) в настоящее время имеют лишь историческое значение. Культуральные методы, основанные на заражении монослоя клеток материалом, полученным от больных, используются сегодня только в научных целях. Поэтому наибольшее распространение получили иммунологические методы. Особо важным считается определение IgG, М и А к АГ-эпитопам главного белка внешней мембраны. Определение ранних IgM АТ наиболее достоверно для подтверждения острой фазы хламидийной инфекции.

***Chlamydia psittaci* (ChPs).** Инфицирует птиц и млекопитающих, при этом спектр заболеваний у животных такой же как, у человека, инфицированного ChT. Заражение человека от болеющих птиц вызывает орнитоз или болезнь попугаев. Заражение человека от домашних животных встречается реже.

Большой проблемой для диагностики хламидийных инфекций является часто бессимптомное, вялотекущее течение заболевания. Так, очень часто первичная инфекция не распознается, и диагностируются лишь осложнения, такие как сальпингиты, эпидидимиты, бесплодие или артриты, возникающие в результате восхождения или персистенции возбудителей.

Антигенными свойствами у хламидий обладают мембраны: основной белок наружной мембраны и липополисахариды внутренней мембраны. На основной белок наружной мембраны приходится 60% от общего количества белка. Белки наружной мембраны содержат видо- и серотип-специфические эпитопы. Однако в этих белках имеются также области с высоким сродством среди видов (родоспецифические эпитопы). Поэтому возможны перекрестные реакции. Основной белок мембраны является основным маркером при определении АТ к ChT как серологическими методами, так и методом ПЦР. ChT включает 15 различных серотипоспецифических иммуногенетических эпитопов. Четыре из 15 эпитопов, а именно эпитопы А, В, Ва, С являются причиной эндемической

трахомы, 8 эпитопов (с D по K) являются причиной заболеваний, передаваемых половым путем, таких как негонорейные/постгонорейные уретриты, эпидидимиты, цервициты, эндометриты, сальпингиты, перитониты, конъюнктивиты и пневмонии, а 3 эпитопа L<sub>1</sub>-L<sub>3</sub> – паховой лимфогрануломы.

При инфицировании АТ к липополисахаридам (ЛПС) внутренней мембраны появляются раньше других. Поэтому ЛПС являются лучшим диагностическим маркером при определении IgM АТ, появляющихся первыми после начала инфекции. Но, ЛПС имеют очень ограниченное диагностическое значение, т.к. представляют собой родоспецифичный АГ.

Хламидии время от времени высвобождаются из клетки и, таким образом, вызывают образование АТ. Принцип диагностики хламидийной инфекции состоит в том, что после инфицирования последовательно образуются АТ классов IgM, G, A. Окончательная постановка диагноза зависит от определения стадии и типа инфекции, а это, в свою очередь, зависит от присутствия АТ определенного класса. Для постановки окончательного диагноза при использовании серологических методов анализа необходимо проводить определение IgA и IgG одновременно. При неясном результате IgA подтверждение осуществляется определением IgM. В диагностике хламидийной инфекции очень важно определение IgA АТ, т.к. они являются маркером как острой, так хронической и персистирующей форм инфекции. IgM АТ – маркеры только острой формы.

Большинство имеющихся на рынке тестов – родоспецифичны (не дают информацию о том, каким видом хламидий вызвано настоящее заболевание). Однако обнаружено, что большая доля населения имеет АТ к ChP (без клинических симптомов). Поэтому для определения АТ желательнее использовать такие тесты, в результате которых можно провести видовую дифференцировку между ChT и ChP.

ЗАО «БиоХимМак» предлагает широкий спектр тест-систем для определения хламидийной инфекции фирмы «Savyon» (Израиль).

### Легионеллез (*Legionella pneumophila*)

NEW

Несмотря на то, что сегодня имеются сведения о более чем 30 видах, способных вызывать атипичную пневмонию, большинство случаев заболеваний у человека все же обусловлено *Legionella pneumophila* серогруппы 1. Атипичная пневмония часто ассоциирована с системными проявлениями. *L. pneumophila* является причиной 10% всех случаев пневмоний, в том числе и внутрибольнич-

\* См. главу «Маркеры повреждения нервной системы», стр. 72

ных (в России – до 8% всех случаев). По мнению целого ряда исследователей относительно невысокий уровень заболеваемости связан с несовершенством лабораторной диагностики. *L. pneumophila* является единственным возбудителем атипичных пневмоний, для которого отсутствуют данные о носительстве и персистенции.

В природных условиях легионеллы обитают в пресноводных водоемах, где они являются симбионтами цианобактерий, паразитируют в водных и почвенных простейших (амебах, инфузориях и пр.). Легионеллы заселяют искусственные водоемы и водные системы (централизованные системы кондиционирования воздуха, градирни, системы охлаждения, компрессорные устройства, душевые установки, джакузи, бассейны, бани, фонтаны, увлажнители воздуха, оборудование для респираторной терапии и т.д.). Эти микроорганизмы колонизируют синтетические, резиновые и металлические (кроме меди) поверхности водопроводных труб, промышленного и медицинского оборудования. Основной фактор передачи инфекции – мелкодисперсный аэрозоль. Большинство существующих сегодня методов дезинфекции способствуют сдерживанию усиленного размножения легионелл в воде (в 1 л должно быть  $<10^4$ ). До сих пор не ясно почему при одинаковой концентрации бактерий в воде и наличии источников аэрозоля в одних случаях возникают заболевания (отдельные или групповые случаи), а в других – нет.

Заболевают чаще всего посетители и персонал гостиниц, больниц, учреждений и промышленных предприятий, торговых и выставочных центров. Болезнь особенно опасна для пожилых людей, детей и людей с ослабленным иммунитетом. На сегодняшний день в мире зарегистрировано несколько сотен крупных вспышек легионеллеза (США, Великобритания, Испания, Италия, Голландия, Франция, Германия, Швеция, Норвегия, Япония, Россия и др.). Одна из крупных вспышек произошла в СССР в 1987 г. среди рабочих завода резиновых изделий в Армавире. Тогда пострадало 100 человек. Возбудитель был выделен из системы кондиционирования воздуха.

Будучи факультативными внутриклеточными паразитами, легионеллы не растут на обычных питательных средах, используемых в клинической микробиологии. Бактериологическое выделение и идентификация культуры *L. pneumophila* из клинического материала занимает не менее 5-7 дней. На практике чаще используют иммунологические методы диагностики легионеллеза. Применение метода прямой иммунофлуоресценции осложняется необходимостью инвазивных процедур для получения клинического материала. Определение АТ против ЛПС *L. pneumophila* с помощью ИФА отличается высокой

специфичностью (99-100%) и более высокой чувствительностью, чем непрямой иммунофлуоресцентный анализ или микроагглютинация.

### Лихорадка Q (*Coxiella burnetii*)

NEW

Коксииеллы Бернета и вызываемая ими лихорадка Q распространены повсеместно.

Лихорадка Q – системное заболевание, сопровождающееся лихорадочными состояниями, атипичной пневмонией, гепатитом или эндокардитом. Во многих случаях инфекция после острой фазы переходит в хроническое течение. Внешне это проявляется как синдром слабости, хроническая усталость, апатия. Потом у части больных развиваются эндокардиты. Через несколько лет это может привести к смерти.

*C. burnetii* относится к облигатным внутриклеточным паразитам. У этого микроорганизма описаны две антигенные фазы, различающиеся своими свойствами. *C. burnetii* в естественных условиях циркуляции принадлежит к фазе I, а в начальный период инфекции переходит в антигенную фазу II. Резервуаром возбудителя в природе являются мелкие млекопитающие, птицы, клещи. В антропургических очагах источником инфекции являются домашние животные. Хроническое (до 2 лет) течение заболевания у домашних животных сопровождается выделением возбудителей с испражнениями, молоком, околоплодной жидкостью и пр. Заражение человека происходит в основном аэрогенным и алиментарным путями, возможны контактный и трансмиссивный механизмы. Для развития инфекционного процесса достаточно попадания в организм единичных клеток возбудителя.

Заболеваемость лихорадкой Q в России официально регистрируется с 1957 г. В СССР с 1957 по 1985 гг ежегодно заболевало от 350 до 1477 человек. Из 73 административных единиц болезнь зарегистрирована в 50 и этот список постоянно расширяется. По заключению специалистов официальная регистрация лихорадки Q на территории бывшего СССР и в России не отражает реальной распространенности коксииеллеза. К сожалению, имеет место гиподиагностика этой инфекции. Эти данные хорошо согласуются с результатами зарубежных исследователей.

Лабораторная диагностика лихорадки Q обычно основана на использовании серологических методов, так как изоляция возбудителя из клинических проб представляет собой значительную трудность.

### Бруцеллез (*Brucella*)

NEW

Бруцеллез (мальтийская лихорадка, болезнь Банга) – зоонозное инфекционно-аллергическое заболевание, носящее хронический

или остро-хронический характер. Бруцеллез сопровождается самыми разнообразными клиническими проявлениями. Болезнь протекает длительно и может приводить к поражениям всех органов и тканей, особенно часто страдают нервная и половая системы, кости, суставы и пр. Причиной этого заболевания служат бактерии рода *Brucella*, являющиеся факультативными внутриклеточными паразитами. Основные возбудители бруцеллеза – *B. melitensis* (козье-овечий), палочка Банга *B. abortus* (бычий) и *B. suis* (свиной). Бактериологическая диагностика бруцеллеза существенно ограничена тем, что бруцеллы относятся к опасным патогенам, выделение которых может быть осуществлено только в специализированных лабораториях. Для серологической диагностики бруцеллеза чаще всего используют прямую агглютинацию, тест с бенгальским розовым, тест Кумбса и ИФА. Определение IgM против ЛПС бруцелл позволяет диагностировать острые формы заболевания, тогда как выявление IgG используется для диагностики всех форм.

### Столбняк (*Clostridium tetani*)

NEW

Столбняк – острое инфекционное заболевание. Возбудителем является спорообразующая бактерия *Cl. tetani*, которая синтезирует два экзотоксина: тетанолизин и тетаноспазмин. Последний является одним из самых сильнодействующих нейротоксинов. Уровень заболеваемости зависит от соотношения вакцинированных и непривитых лиц, а также от проведения мер экстренной профилактики. Диагностика столбняка проводится в основном клинически. Вследствие широкого распространения вакцинации особую важность приобретает выявление АТ против столбнячного токсина (напряженность иммунитета). Наиболее достоверным методом определения уровня столбнячного антитоксина является биологическая проба на мышах, но этот метод очень трудоемок. Поэтому на практике часто используют пассивную гемагглютинацию или ИФА.

### Коклюш (*Bordetella pertussis*)

NEW

Коклюш является высоко контагиозной бактериальной инфекцией респираторного тракта. Возбудитель заболевания – грам-отрицательная бактерия *B. pertussis*. Коклюш относится к эндемичным заболеваниям, однако каждые 3-5 лет случаются эпидемии. Количество случаев коклюша серьезно сократилось вследствие массовой вакцинации, тем не менее, даже в странах с большим охватом вакцинации регулярно случаются всплески заболевания.

Через 10-15 лет после вакцинации иммунитет ослабевает, и человек вновь становится уязвимым для

*B. pertussis*. На фоне массовой иммунизации у значительной части заболевших лиц болезнь протекает бессимптомно или с минимальными клиническими проявлениями, особенно у детей 4-6 лет, не имеющих достаточно высокий уровень поствакцинального иммунитета. В подобных случаях заболевание протекает в более мягкой форме, без проявления классических клинических стадий. Оно характеризуется неспецифическим длительным кашлем, продолжающимся в течение нескольких недель и даже месяцев. Поэтому практически не диагностируется коклюш у взрослых, что вероятно, связано не только со стертой клиникой и с отсутствием лейкоцитоза, но и с традиционным отношением врачей к коклюшу как к исключительно детской инфекции. Подростки и взрослые пациенты с недиагностированным коклюшем могут служить источником инфекции для непривитых детей. Наиболее высокому риску тяжелого заболевания подвергаются дети, которые еще слишком малы для того, чтобы получить полную вакцинацию и те, кто еще не завершил серию первичной вакцинации.

Лабораторная диагностика коклюша включает в себя прямые методы (выделение культуры возбудителя, ПЦР, иммунофлуоресцентный метод) и непрямые серологические тесты. С помощью прямых методов диагностики возбудитель может быть успешно выявлен только в течение первых 2-3 недель после появления симптомов инфекции. Повышенные уровни специфических АТ к коклюшному токсину (КТ) и филаментозному гемагглютиниру (ФГА) считаются очень чувствительными серологическими маркерами для диагностики коклюша у взрослых и не привитых детей.

Достаточно часто диагноз «коклюш» не рассматривается в течение периода, во время которого еще возможно прямое выявление возбудителя. Поэтому, для установления точного диагноза необходимо определение роста титра АТ к *B. pertussis* между острой фазой заболевания (т.е. в сыворотке, полученной в течение первой недели после появления симптомов) и фазой конвалесценции (в сыворотке, отобранной 4-6 недель спустя). В качестве альтернативы для подтверждения диагноза можно использовать определение титра АТ в единичном образце сыворотки, полученной, по крайней мере, через три недели (превышает диагностический cut off уровень IgG АТ к коклюшному токсину или другому АГ).

В первое время после проявления симптомов (когда кашель продолжается до трех недель) для установления диагноза используют прямые методы (выделение культуры, ПЦР); если кашель продолжается три-четыре недели целесообразно одновременное использование ПЦР и серологические тесты (ИФА); по прошествии четырех недель кашля диагноз можно установить только с помощью ИФА.

Выявление специфических IgM- и IgA АТ используют при диагностике острой инфекции. IgA АТ в сочетании с соответствующими симптомами указывают на активную инфекцию. Определение IgM АТ особенно полезно для диагностики у маленьких детей, у которых IgA-ответ зачастую снижен, или отсутствует.

Согласно определениям ВОЗ рост уровней и IgG и/или IgA АТ к одному или нескольким АГ *B. pertussis* у невакцинированных детей подтверждает наличие коклюша. Для оптимальной лабораторной диагностики коклюша у детей должны одновременно использоваться два метода исследования: посев материала из носоглотки и определение уровня специфических IgG, А и М АТ к двум токсинам (КТ и ФГА) с помощью ИФА. При наличии типичных клинических проявлений ИФА позволяет подтвердить диагноз, а при стертых и атипичных формах инфекции этот метод может оказаться решающим при выявлении заболевания.

## Дифтерия (*Corynebacterium diphtheriae*)

NEW

Дифтерия чаще всего встречается в детском возрасте. Это заболевание сопровождается воспалением глотки, гортани и назальной слизистой. Возбудителем дифтерии является *C. diphtheriae*. Патогенность этой бактерии обусловлена секрецией экзотоксина, который, попадая в кровоток, воздействует на сердечную мышцу, почки и ЦНС. Патогенны только токсигенные штаммы. В зависимости от тяжести заболевания различают три его типа – легкий, умеренный и тяжелый. Характер течения заболевания зависит от иммунного статуса ребенка. Обычно встречается умеренное течение дифтерии, в то время как в случаях иммуносупрессии наблюдается тяжелая дифтерия, в результате которой пациент может умереть. В большинстве случаев дети должны быть вакцинированы против дифтерии (АКДС – коклюш, дифтерия, столбняк) после третьего месяца жизни. Мониторинг за иммунным статусом осуществляют с помощью определения IgG АТ к дифтерийному токсину.

## Haemophilus influenzae типа В (HiВ)

NEW

HiВ часто является причиной очень тяжелых заболеваний у детей до 6-летнего возраста. Группы риска: дети до 2 лет; дети, страдающие частыми и хроническими инфекциями респираторного тракта; дети с хроническим отитом; пациенты с подтвержденными иммунодефицитами (IgG2 дефицит, IgA-дефицит); пациенты с дефицитом гранулоцитов; пациенты, проходящие химио- или цитостатическую терапию; дети после спленэктомии; пациенты с серповидно-клеточной анемией; пациенты с синдромом Дауна; отдельные этнические группы.

Симптомы этой инфекции включают в себя перикардит, остеомиелит, менингит, энцефалит, пневмонию, синусит, отит. Во многих случаях заболевание заканчивается летальным исходом или приводит к неврологическим поражениям, которые нельзя предотвратить быстрой антибиотикотерапией. Основная причина часто кроется в латентном иммунодефицитном состоянии с ограниченным гуморальным иммунным ответом на полирибозилрибитолфосфат (PRP), входящий в состав полисахаридной капсулы бактерии-возбудителя. Другая причина – незрелость иммунной системы у детей. В настоящее время достаточно часто используется понятие «иммунокомпроментированные пациенты», объединяющее все приобретенные и врожденные, специфические и неспецифические иммунодефициты. Поэтому часто рекомендуют вакцинацию PRP-содержащими вакцинами детей, начиная с 3-месячного возраста. Такой подход может привести к значительному снижению частоты HiВ-инфекций. Определение титра АТ, продуцируемых после иммунизации, может быть использовано для подтверждения того, что вакцинация прошла успешно. Для мониторинга иммунного статуса детей и лиц из группы риска обычно определяют уровень PRP-специфических IgG АТ, которые появляются в течение 4-6 нед. после полной иммунизации. С помощью анализа парных сывороток можно подтвердить диагноз.

## Тесты на грибковые заболевания

### Кандидоз (*Candida albicans*)

Этот анализ применяется для подтверждения диагноза системного (инвазивного) кандидоза, особенно у иммунокомпетентных лиц. Диагноз инвазивного кандидоза часто очень трудно установить лабораторно. 4-кратный подъем титров АТ между сыворотками в острой и реконвалесцентной стадиях заболевания позволяет предположить наличие болезни. 4-кратное снижение титра АТ может быть показателем успешной химиотерапии или ликвидации колоний *Candida*. У иммунокомпетентного пациента чувствительность этого теста может достигать 80%.

### *Aspergillus fumigatus*

NEW

Наиболее часто встречаемым патогеном рода *Aspergillus* является *A. fumigatus*, которого можно обнаружить в сене, зерне, прелых листьях и фекалиях птиц. К основным условно-патогенным инвазивным грибковым инфекциям можно отнести кандидоз, сопровождающийся аспергиллезом. Обычно инфекция *Aspergillus spp.* передается воздушно-капельным путем. Из-за повсеместной распространенности

*Aspergillus* очень сложно провести различия между носительством и серьезным заболеванием. Обычно у людей инфекция встречается только в уже поврежденных тканях. *Aspergillus spp.* может быть причиной хронической инфекции околоносовых пазух, глаз или легких. Различают три типа легочного аспергиллеза: острая инфекция (бронхопневмония; пневмония), сапрофитная аспергиллома (компактные скопления гифов в легких) и аллергический бронхолегочный аспергиллез (опосредованный IgE). Кроме ИФА для выявления специфических IgG и IgM АТ к *Aspergillus* можно использовать гемагглютинацию (*Aspergillus* HAT). HAT не подходит для скрининга из-за низкой чувствительности. У некоторых пациентов из группы риска показано наличие только очень низкого титра АТ.

### Неоптерин (НП) при инфекционных заболеваниях

Любое инфекционное заболевание, независимо от характера возбудителя, сопровождается активацией иммунной системы, что приводит к повышению содержания НП в сыворотке/плазме крови. Причем увеличение концентрации происходит на ранних стадиях вирусной, внутриклеточной бактериальной или протозойной инфекции и обычно предшествует сероконверсии.

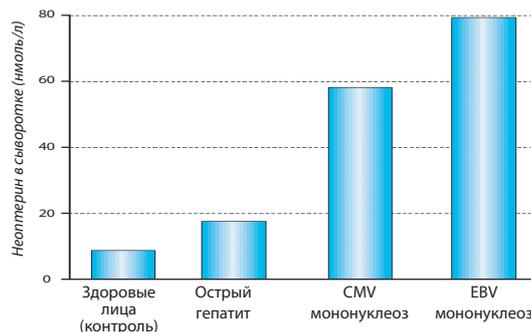
Известно, что содержание НП в биологических жидкостях значительно возрастает во время острых вирусных инфекций, причем концентрация маркера коррелирует с активностью заболевания. Подобная зависимость была продемонстрирована, например при острых и хронических вирусных гепатитах, ВИЧ, инфекциях, вызванных вирусом Эпштейна-Барр, инфекционном мононуклеозе, цитомегаловирусной инфекции, вирусных энцефалитах и энцефаломиелитах, парвовирусной инфекции, кори, эпидемическом паротите, ветряной оспе, краснухе и гриппе. Причем повышенные концентрации НП в биологических жидкостях можно обнаружить уже в конце инкубационного периода перед проявлением клинических симптомов. Максимальный уровень НП наблюдается перед тем как становится возможным определение специфических АТ против вируса. Этот период продолжается от двух до четырех недель с момента начала повышения содержания НП. Во время реконвалесценции концентрация НП падает вплоть до нормального уровня (в том случае, если иммунная система успешно справляется с инфекционным агентом). При хронических вирусных инфекциях (например, ВИЧ) содержание НП снижается после сероконверсии, но не до нормы. В настоящее время уровень НП рассматривается как один из наиболее эффективных индикаторов ВИЧ-инфекции и показателей прогрессирования болезни.

Инфекции, вызванные бактериями, приводят к повышению концентрации НП при хроническом течении

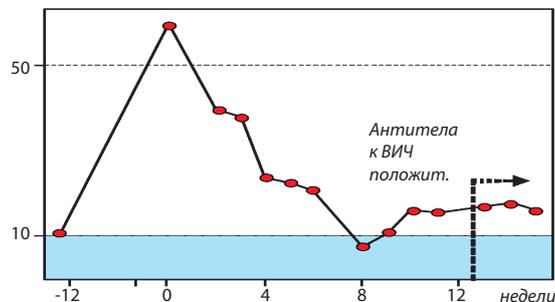
или септицемии. При острых бактериальных инфекциях уровень НП обычно не высок, что связано с преобладанием гуморального иммунного ответа. В случае затяжных бактериальных инфекций концентрация НП возрастает. Максимальное содержание маркера в биологических жидкостях наблюдается при септических осложнениях, связанных с ЛПС грамотрицательных бактерий (например, *Pseudomonas pseudomalei* или *Brucella melitensis*). Кроме того, инфекции, вызываемые бактериями, продуцирующими экзотоксины суперантигенного характера (например, *Streptococcus pyogenes*), обычно ассоциированы с усилением синтеза НП.

Клеточный иммунитет играет центральную роль в иммунной защите организма при инфекциях, обусловленных внутриклеточно паразитирующими бактериями. Значительное повышение концентрации НП выявляется у больных туберкулезом (*Mycobacterium tuberculosis*), лепроматозной и туберкулезной формами проказы (*Mycobacterium leprae*). Внутриклеточные паразитарные инфекции (малярия, шистозомоз) также сопровождаются повышением содержания НП.

Определение уровня НП может оказаться полезным для диагностики и мониторинга инфекционных осложнений у хирургических больных и больных отделений интенсивной терапии, а также для оценки иммунного ответа и эффективности при вакцинации.



### Неоптерин у пациентов с некоторыми вирусными инфекциями



### Уровень неоптерина в сыворотке при ВИЧ-1 инфекции (нмоль/л)

**Неоптерин и гемотрансфузии.** В последние годы достигнут значительный прогресс в обеспечении инфекционной безопасности гемотрансфузий. Это связано, прежде всего, с введением в практику скрининга донорской крови серологических и молекулярно-биологических методов. Тем не менее, гемотрансфузии продолжают нести в себе определенный инфекционный риск. Потенциально опасные патогены могут оставаться не выявленными вследствие того, что рутинные процедуры скрининга не предполагают их определения. С другой стороны всегда существует вероятность неэффективности используемых скрининговых систем. Кроме того, нельзя исключить возможность того, что взятие крови произошло в период так называемого «диагностического окна», когда образование специфических АТ у инфицированного донора еще не поддается детекции. Концентрация НП в сыворотке во время острых инфекционных заболеваний обычно достигает высоких значений. Такое усиление синтеза НП не является специфичным для определенных инфекционных заболеваний, но при этом указывает на активацию иммунологических процессов. Вследствие того, что вирусные инфекции вызывают повышение концентрации НП, скрининг этого соединения может послужить неспецифическим методом, позволяющим снизить риск заражения известными и до настоящего времени не известными вирусными патогенами. Определение содержания НП в донорской крови позволяет выявить и исключить вирусные инфекции острой фазы во время максимальной вирусной нагрузки, а также способствует сокращению диагностического окна в дополнение к специфическим серологическим методам скрининга инфекций.

С 1994 г. скрининг НП в донорской крови стал обязательным в Австрии. Благодаря этому стало возможным выявление субклинических инфекций или скрытых системных нарушений. Донорская кровь с содержанием НП >11 ммоль/л выбраковывается. Было показано, что серологическое подтверждение острой цитомегаловирусной инфекции у доноров с концентрацией НП >10 ммоль/л наблюдается в 19 раз чаще, чем у индивидуумов с более низким его содержанием. Так же случаи острых инфекций, вызванных вирусом Эпштейна-Барр или парвовирусом В19 выявлялись в 3 раза чаще у лиц с концентрацией НП >10 ммоль/л. При хронических и клинически не подозрительных случаях вирусного гепатита С ПЦР-позитивные доноры встречались в 7 раз чаще среди лиц с содержанием НП >10 ммоль/л. Кроме того, выявление высоких концентраций НП позволяет достаточно обоснованно исключать из числа потенциальных доноров лиц с любой патологией, вызывающей стимуляцию клеточного иммунитета.

• См. главу «Онкомаркеры», стр. 208

## Гранзимы А и В при инфекционных заболеваниях

NEW

Гранзимы – это экзогенные сериновые протеиназы, выброс которых происходит из цитоплазматических гранул цитотоксических лимфоцитов (CTLs) и NK-клеток. Само название «гранзимы» происходит от словосочетания: «гранулы + энзимы». Эти гранулы, содержат наряду с гранзимами и другие белки, включая порообразующий белок – перфорин. После связывания CTL с клеткой-мишенью содержимое гранул высвобождается в межклеточное пространство, откуда, после пробоя мембраны перфорином, гранзимы попадают в цитоплазму клетки-мишени. Гранзим В активирует внутриклеточный каскад активации каспаз, приводя в итоге к гибели клетки-мишени. Гранзим А тоже способен индуцировать апоптоз в клетках-мишенях, но вовлекаемые при этом молекулярные механизмы пока не ясны. Процент гранзим А и В положительных CTLs может быть определен методом проточной цитометрии или иммуноцитохимически. Гранзимы поступают в клетку-мишень не полностью, частично «вытекают» в периферический кровоток и другие биологические жидкости. Определяемые количества гранзимов обнаруживаются циркулирующими в крови. Эти циркулирующие гранзимы могут быть измерены методом ИФА.

**Вирусные инфекции.** Повышение уровня растворимых гранзимов было показано у пациентов, у которых ожидается повышенное содержание NK клеток и CTL ответ, вызванный системными вирусными инфекциями, такими как EBV, HIV, CMV, гепатит А и лихорадка Денге.

## 90K/Mac-2 BP при инфекционных заболеваниях

NEW

90K/Mac-2 BP – это широко распространенный секретлируемый сывороточный гликопротеин с м.м. 90 кДа, первоначально выявленный в супернатанте клеток опухоли молочной железы человека. Он идентичен белку Mac-2 BP, лиганду секретлируемого лактоза-галактоза специфического S-лектина Mac-2, который в большой степени экспрессируется клетками макрофагального/моноцитарного ряда, а также многими клетками других типов. Хотя биологические функции и возможная роль 90K/Mac-2 BP в основном неизвестны, есть данные, указывающие на его роль в иммунном механизме защиты.

Сывороточные уровни 90K/Mac-2 BP определяют у пациентов с различными формами неоплазий и при некоторых вирусных инфекциях. При раке молочной железы и при раке желудка, при неходжкинских лимфомах высокий уровень 90K/Mac-2 BP коррелирует с плохим прогнозом. • При ВИЧ инфекции, высокие кон-

центрации 90К/Мас-2 ВР в сыворотке могут служить независимым прогностическим фактором быстрой прогрессии СПИДа, независимо от количества CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. В популяции ВИЧ-инфицированных пациентов была показана корреляция между повышенным уровнем 90К/Мас-2 ВР и плохим ответом на лечение γ-интерфероном. Определение 90К/Мас-2 ВР в сыворотке может быть использовано как ценный параметр для прогноза течения опухолевых и вирусных заболеваний.

## Паразитарные заболевания

### Лямблиоз (*Giardia lamblia*)

NEW

Возбудитель лямблиоза *Lamblia intestinalis* (синонимы: *Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*) является одним из самых распространенных в мире кишечных патогенов человека. Помимо человека, этот вид лямблий может быть обнаружен у различных млекопитающих, а также птиц и рептилий. Некоторые из животных, вероятно, являются резервуаром этой инфекции для человека. Группы высокого риска составляют дети, путешественники, иммунокомпроментированные лица, представители отдельных профессий (работники ассенизационной и ирригационной служб, работники зверопитомников, зоопарков и т.п.) и гомосексуалисты. Более того, лямблиоз представляет собой серьезную проблему для пациентов с мальабсорбцией, иммунодефицитами и кистозным фиброзом. Встречаемость лямблиоза строго зависит от географического расположения, достигает 2-7% в центральной Европе и превышает 50% в тропических странах. В Российской Федерации ежегодно регистрируется более 100 тысяч больных, из них до 90 тысяч детей.

Жизненный цикл *G. lamblia* характеризуется двумя формами: трофозоиты и цисты. Трофозоит это подвижная делящаяся форма, колонизирующая поверхность слизистой оболочки тонкой кишки. Кроме того, этот паразит может инфицировать желчный пузырь. Циста – это инфицирующая форма паразита. Она развивается в кишечнике и экскретируется с фекалиями. При поносах или после назначения слабительного в фекалиях можно выявить и вегетативные формы (трофозоиты). Цисты могут сохранять жизнеспособность в холодной воде в течение нескольких месяцев. Они переносятся с зараженной пищей, питьевой водой, или фекально-оральным путем (загрязненные руки, предметы обихода). В тонком кишечнике из цист высвобождаются подвижные трофозоиты (по два из каждой цисты). Клиническая картина заражения *G. lamblia* варьирует от бессимптомного течения до острого диарейного синдрома, который часто сопро-

вождается болью в животе и метеоризмом. Хронический лямблиоз может вызывать тяжелый синдром мальабсорбции.

Согласно МУ 3.2.1882-04. от 3 марта 2004 г. показанием к обследованию на лямблиоз являются: диарея неустановленной этиологии; хронические заболевания ЖКТ; дисбиоз кишечника; гипотрофия, отставание в физическом развитии; дерматиты, крапивницы, экземы, нейродерматиты; иммунодефицитные состояния; обструктивные бронхиты, бронхиальная астма; аллергии неустановленной этиологии; контакты с больным (паразитоносителем) лямблиозом.

Для диагностики лямблиоза обычно используют микроскопический метод выявления трофозоитов и/или цист в мазках кала после рутинных методов окрасивания или с помощью прямой иммунофлуоресценции. При этом могут потребоваться неоднократные исследования. В ряде случаев используют анализ дуоденальной жидкости или дуоденальную биопсию для выявления трофозоитов. Это методы, требующие достаточно много времени, специально обученного персонала и позволяющие выявлять только паразитов с неизменной морфологией.

Иммунологические методы выявления АГ *G. lamblia*, такие как ИФА, в последнее время широко используются во всем мире для диагностики лямблиоза. Подобные тест-системы обладают очень высокой чувствительностью и специфичностью и позволяют одновременно выявлять как цисты, так и трофозоиты лямблий в образцах кала. Обычно *G. lamblia* выявляется у 50-70% больных после единичного анализа кала, и более чем у 90% больных после 3-кратного анализа.

Выявление АТ различных классов к АГ лямблий является косвенным методом лабораторной диагностики лямблиоза, поэтому может использоваться как дополнительный диагностический метод. Уровень АТ зависит от целого ряда различных факторов. «Серологические исследования при лямблиозе используют в т.ч. и для эпидемиологических целей, т.к. специфические АТ выявляются при манифестной и бессимптомной инфекции у лиц в разгаре болезни или перенесших болезнь в недавнем прошлом. Эти же обстоятельства затрудняют интерпретацию серологической реакции в каждом конкретном случае и ограничивают диагностическую ценность циркулирующих АТ. Значительно более высоким диагностическим потенциалом обладают методы обнаружения АГ лямблий в фекалиях и биоптатах при использовании АТ к цельным трофозоитам или моноспецифических АТ к АГ лямблий с м.м. 65 кДа (GSA-65)». (Профилактика паразитарных болезней. Профилактика лямблиоза. Методические указания. Методика. N МУ 3.2.1882-04. 3 марта 2004 г.).

### Амебиаз (*Entamoeba histolytica*)

NEW

Некоторые простейшие – представители рода *Entamoeba* могут инфицировать человека, однако при этом не все из них ассоциированы с развитием заболевания. Основной причиной заболеваний кишечника и внекишечных инфекций из числа патогенных амеб является *Entamoeba histolytica*. Тем не менее, важны и другие виды, т.к. в процессе проведения диагностических процедур их можно спутать с *E. histolytica*. Амебиаз распространен в мире повсеместно, но особенно в развивающихся странах. В развитых государствах группу риска составляют дети, путешественники, гомосексуалисты, мигранты и закрытые коллективы.

В фекалиях можно обнаружить и цисты (в оформленном стуле), и трофозоиты (в диарейном стуле). Инфицирование человека *E. histolytica* обычно происходит при заглатывании зрелых цист с контаминированной пищей, водой или фекально-оральным путем. Выход трофозоитов из цист (эксцистирование) происходит в тонкой кишке, затем они мигрируют в толстую кишку, где размножаются. Там же происходит формирование цист, и обе жизненные стадии амебы попадают в фекалии. Строение оболочки позволяет цистам выживать дни, и даже недели во внешней среде, что является основой их успешного распространения. Во внешней среде трофозоиты быстро погибают, после проглатывания они разрушаются в желудке. При гомосексуальных контактах инфицирование может происходить как цистами, так и трофозоитами. Во многих случаях распространение трофозоитов ограничено кишечным просветом (неинвазивная инфекция) – асимптоматичные носители, выделяющие цисты со стулом. У некоторых пациентов трофозоиты инвазируют слизистую кишечника (кишечное заболевание), или по кровотоку проникают в печень, мозг, легкие (внекишечное заболевание) с соответствующей патологической манифестацией. Установлено, что инвазивные и неинвазивные формы представлены двумя различными видами, соответственно, *E. histolytica* и *E. dispar*. Морфологически эти два вида неразличимы за исключением того, что *E. histolytica* можно обнаружить с фагоцитированными эритроцитами (эритрофагоцитоз).

Клинические проявления амебиаза разнообразны – от асимптоматичной инфекции до инвазивного кишечного (дизентерия, колит, аппендицит, токсический мегаколон, амебома) и внекишечного амебиаза (абсцесс печени, перитонит, плевропульмонарный абсцесс, кожные и генитальные амебные повреждения). При лабораторной диагностике *E. histolytica* прежде всего необходимо дифференцировать от других кишечных простейших. Дифференциация только по морфологическим признакам цист и трофозо-

итов достаточно трудна. Наиболее удобным методом в этом плане является использование ИФА. Также могут быть использованы молекулярно-биологические методы анализа.

Наиболее распространенным методом диагностики амебиаза является микроскопическая идентификация цист и трофозоитов в свежем кале (неокрашенные и окрашенные препараты). Кроме того, трофозоиты могут быть выявлены с помощью микроскопического исследования аспириатов или биоптатов, полученных во время колоноскопии или хирургических операций. ИФА используется как для выявления собственно АГ *E. histolytica* в кале, так и для выявления АТ к нему в сыворотке. Определение АГ является важным и полезным дополнением к микроскопическому анализу, и позволяет различить патогенные и непатогенные формы, исключить инфекцию *E. dispar*. Исследования показали очень высокую чувствительность и специфичность тест-систем с использованием АТ, распознающих разные эпитопы специфического богатого серином мембранного белка (SREHP) *E. histolytica*.

Определение АТ наиболее полезно для пациентов с внекишечными формами амебиаза (например, амебный абсцесс печени), т.е. в тех случаях, когда амебы обычно не обнаруживаются в стуле. В настоящее время доступен ряд методов: реакция непрямой гемагглютинации (сегодня имеет ограниченное распространение), реакция непрямой иммунофлуоресценции, иммунодиффузия (очень длительный анализ) и ИФА. Последний метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью (не ниже, чем реакция непрямой гемагглютинации), поддается полной автоматизации, характеризуется объективной оценкой результатов. С помощью ИФА специфические АТ к *E. histolytica* выявляются приблизительно у 95% пациентов с внекишечным амебиазом, у 70% пациентов с активной кишечной инфекцией и у 10% пациентов без симптомов, выделяющих цисты *E. histolytica*. Если АТ не обнаруживаются у пациентов с острым течением или с подозрением на амебный абсцесс печени, то необходимо проанализировать еще один образец сыворотки, отобранный спустя 7-10 дней. Если и в этом случае не выявлена сероконверсия, то нельзя исключить наличие других возбудителей. Детектируемые АТ к *E. histolytica* могут персистировать в течение нескольких лет после успешного лечения, таким образом, присутствие АТ не обязательно может указывать на острую или недавнюю инфекцию. Несмотря на то, что есть сообщения об использовании тест-систем для выявления IgM к *E. histolytica*, по разным оценкам чувствительность подобных тестов не превышает 64% для пациентов с текущим инвазивным заболеванием.

**Эхинококкоз (гидатизоз, *Echinococcus granulosus*)**

NEW

Эхинококкоз до недавнего времени считался эндемическим заболеванием в ряде районов юга России, Украины, Белоруссии, Молдавии, Средней Азии, Закавказья, Австралии, Южной и Северной Америки. Однако в последние годы вследствие целого ряда причин наблюдается тенденция к росту количества инвазий этими гельминтами. Возбудителем заболевания человека является личиночная стадия ленточного червя *E. granulosus*. Попав в ЖКТ цестоды проникают в кровь и заносятся в разные органы (печень, легкие, реже – почки, мозг, сердце и пр.). Рост личинки приводит к образованию заполненного жидкостью однокамерного пузыря (однокамерной гидатиды) *E. unicolaris*. Интенсивность иммунного ответа зависит от локализации и интеграции кисты. Гидатиды в печени или в костях более реактивны, чем таковые в легких, мозге или в селезенке.

Диагностика эхинококкоза, особенно ранняя, нередко представляет значительную трудность. Обычно используют ультразвуковое исследование в совокупности с серологическими тестами, при необходимости – инвазивные методы. Использование классической внутрикожной пробы Касони часто оказывается нецелесообразным, вследствие частого развития тяжелых аллергических реакций. Дифференцировать эхинококкоз чаще всего приходится с новообразованиями соответствующих органов. Решающая роль принадлежит иммунологическим методам. В последнее время для диагностики эхинококкоза широко применяют реакцию связывания комплемента, непрямую гемагглютинацию, иммунофлуоресцентный анализ и ИФА. Чувствительность различных серологических тестов в среднем варьирует от 60 до 95%. Широко распространенный ИФА с использованием АГ из овечьей гидатидной жидкости демонстрирует высокую чувствительность в случае печеночных цист и несколько меньшую при пульмонарной локализации. Перекрестные реакции могут наблюдаться у пациентов, инфицированных другими гельминтами (особенно с цистицеркозом), при онкологических процессах и хронических иммунологических нарушениях.

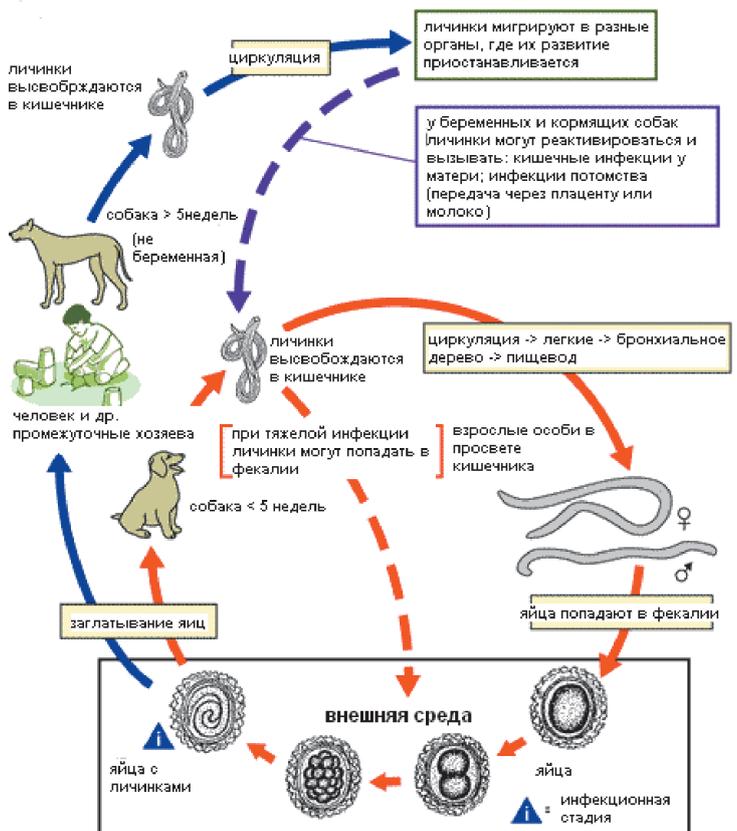
Согласно МУ 3.2.1173-02 от 14 ноября 2002 г. показанием к серологическому обследованию на эхинококкоз являются: наличие объемного образования или кист в печени и других органах; эпидзначимые контингенты – лица, относящиеся к группам риска (охотники и члены их семей; зоотехники; чабаны и пастухи; работники кожевенных предприятий т.д.), лица, проживающие в очагах эхинококкозов.

**Токсокароз (*Toxocara canis*)**

NEW

Возбудители гельминтозов животных, способные в миграционной (ларвальной) стадии паразитировать у человека, вызывают заболевания, которые характеризуются длительным рецидивирующим течением и полиорганными поражениями аллергической природы. Особенно страдают от подобных инвазий дети. Токсокароз – гельминтоз с хроническим течением, вызываемый личиночными стадиями нематоды *T. canis*. Возбудитель обычно паразитирует у собак, волков, лисиц, песцов и других представителей семейства псовых. Передача возбудителя среди животных осуществляется через заражение яйцами из окружающей среды, трансплацентарным и трансмаммарным путями, при каннибализме.

Человек является для этого паразита случайным временным хозяином. После заглатывания из яиц выводятся личинки, которые проникают через стенку кишечника и по кровотоку распространяются по различным органам и тканям (печень, сердце, легкие, мозг, мышцы, глаза), где не развиваются дальше и вызывают тяжелые местные реакции. Два основных клинических проявления токсокароза – висцеральная и глазная формы.



Токсокароз необходимо дифференцировать от ранних стадий других гельминтозов (описторхоза, аскаридоза), стронгилоидоза, а также от эозинофильной гранулемы, бронхиальной астмы, лимфогранулематоза, эозинофильного васкулита, метастазирующей аденомы поджелудочной железы, гипернефромы, хронического неспецифического полиартрита у детей и других заболеваний, протекающих с повышенным содержанием эозинофилов в периферической крови. Диагностика токсокароза достаточно сложна. Это связано с тем, что в организме человека токсокары не достигают половозрелого состояния, поэтому нельзя выявить взрослых особей или их яйца в образцах кала или дуоденального содержимого, как в случае других гельминтозов. Паразитологический диагноз очень сложно установить, только при исследовании биоптатов или секционного материала, когда в тканях удается обнаружить и верифицировать личинки токсокар.

Обе формы заболевания сопровождаются выделением специфических АТ, зависящим от интенсивности инвазии, локализации возбудителя и иммунного статуса пациента. В практическом здравоохранении для диагностики токсокароза используют ИФА (Профилактика паразитарных болезней. Профилактика токсокароза. МУ 3.2.1043-01 ГГ санитарный врач РФ: Методические указания от 28.05.2001 N МУ 3.2.1043-01).

### Висцеральный лейшманиоз (*Leishmania infantum*)

**NEW** Лейшманиозы относят к группе зоонозных протозойных инфекций, проявляющихся интоксикацией, лихорадкой, поражениями висцеральных органов или покровных тканей. Висцеральный лейшманиоз, вызываемый *L. infantum*, характеризуется хроническим течением, лимфаденопатией, лейкопенией, анемией, гепатоспленомегалией, значительным увеличением содержания Ig в крови и развитием вторичных инфекций. При висцеральном лейшманиозе возбудители не остаются на месте инокуляции в кожу, а диссеминируют по ретикулоэндотелию крупных паренхиматозных органов – селезенке, печени и костному мозгу. В основном клинические проявления наблюдаются у детей младшего возраста. Среди взрослых обычно преобладают лица с латентной инфекцией. В последнее время в эндемичных странах Средиземноморского региона (Италии, Испании, Португалии, Франции), резко возросла заболеваемость у взрослых горожан, что связано с распространением ВИЧ-инфекции. Микробиологическая диагностика достаточно сложна и основана на исследовании биоптатов костного мозга, печени, селезенки и лимфатических узлов. В связи с этим очень удобны иммунологические методы исследования.

### Цистицеркоз (*Taenia solium*)

**NEW** Свиной цепень (*T. solium*) – солитер, паразитирующий в просвете кишечника у человека. Промежуточным хозяином, как правило, служит свинья, хотя личиночные стадии гельминта могут встречаться у людей, собак, кошек и овец. Цистицеркозом называется инвазия у человека, вызываемая личиночными стадиями паразита. Заражение человека обычно происходит фекально-оральным путем при заглатывании онкосфер с контаминированными объектами внешней среды (вода, пищевые продукты) или при несоблюдении гигиенических правил. В организме промежуточного хозяина – свиньи (реже – собаки, кошки, и иногда человека) онкосферы освобождаются из яиц, проникают в кишечную стенку и по кровотоку разносятся по всему организму в различные органы и ткани (наиболее часто в мышцы языка, туловища и конечностей, подкожную клетчатку, головной мозг, переднюю камеру и стекловидное тело глаза, реже – в сердце, легкие, печень, брюшную полость, кости). Онкосферы через 2 мес. превращаются в финны (цистицерки), сохраняющие жизнеспособность до 5 лет. При заглатывании цистицерков с мясом животных в тонкой кишке человека формируется ленточная стадия свиного цепня, обуславливающая развитие тениоза. Цистицеркоз распространен в очагах тениоза и регистрируется повсеместно, особенно в Индии, Северном Китае, в Африке и Южной Америке, случаи болезни выявляются в России, на Украине, в странах Прибалтики, Белоруссии, Казахстане.

Диагностика тениоза основывается на выявлении в кале яиц паразита, члеников или самих паразитов. В течение первых 3 мес. после заражения (до тех пор, пока не сформируются взрослые формы паразита) подобная диагностика невозможна. Более того, морфологически яйца *Taenia sp.* практически невозможно отличить от яиц цестод *Echinococcus*. Диагностика цистицеркоза базируется на анализе клинических проявлений, биопсии подкожных узлов, данных рентгенологического исследования. Цистицеркоз необходимо дифференцировать с опухолями, воспалительными заболеваниями органов и эхинококкозом. Выявление специфических АТ с помощью ИФА является очень полезным диагностическим инструментом, дополняющим другие диагностические исследования, особенно на ранних стадиях заболевания.

### Трихинеллез (*Trichinella spiralis*)

**NEW** Трихинеллез — острое инвазивное (нематодоз) заболевание человека, сопровождающееся лихорадкой и выраженными аллергическими проявлениями. Возбудителем трихинеллеза

являются три вида (морфологически не различимых) трихинелл: *T. spiralis* (разнообразные плотоядные и всеядные животные), *T. nativa* (белые медведи), *T. nelsoni* (африканские хищники и падальщики). Между всеми видами вырабатывается перекрестный иммунитет. Основные проявления заболевания обусловлены **аллергией** к продуктам обмена веществ и распада трихин.

Трихинеллы характеризуются специфическим циклом развития, ни одна из стадий развития паразита не выходит во внешнюю среду. Заражение происходит при употреблении в пищу мяса животных, пораженных трихинеллами. Освобождение мышечных (инвазионных) личинок трихинелл от капсул начинается сразу же при попадании их в желудок и идет одновременно с перевариванием мышц. Развитие личинок в половозрелых червей происходит непосредственно на кишечной стенке. У человека половозрелые трихинеллы паразитируют в стенке тонкого и начале толстого кишечника, личинки – в поперечно-полосатой мускулатуре. Инкапсулированные личинки трихинелл сохраняют жизнеспособность годами, на определенном этапе их капсулы начинают постепенно кальцифицироваться. Заболеваемость в России регистрируется практически повсеместно, преобладает заражение человека вследствие употребления недостаточно приготовленной свинины (>95% случаев). От мяса диких животных (кабан, медведь, барсук) заражается не более 3%. Легкие формы заболевания часто протекают без выраженных клинических признаков и трудны для диагностики. Часто наблюдается полиморфное клиническое течение заболевания. При интенсивной инвазии трихинеллез может осложняться органными и системными поражениями.

Трихинеллез необходимо дифференцировать с острыми кишечными инфекциями, **брюшным** или **сыпным** тифом, **гриппом** и **ОРЗ**, отеком Квинке, пневмонией, **токсической дифтерией зева**, **лептоспирозом**, **геморрагической лихорадкой с почечным синдромом** и др. Диагноз трихинеллеза устанавливается на основании типичной клинической картины, эозинофилии, данных биопсии, эпидемиологических предпосылок и исследования мяса, которое могло служить причиной заражения, на личинки трихинелл. Серологические тесты (выявление специфических АТ) являются очень ценным инструментом для диагностики трихинеллеза.

Выработка специфических АТ происходит в период миграции личинок трихинелл и концентрации их в мышцах. У пациентов можно выявить IgG, М, и Е АТ, тем не менее, определение IgG АТ демонстрирует наибольшую чувствительность. В зависимости от интенсивности заражения, АТ можно выявить через 15-20 суток после заражения (высокая или средняя инвазия) или через 4-6 недель (низкая степень инвазии). В

течение 2-4 месяцев титры АТ могут нарастать, затем они снижаются, и остаются на диагностическом уровне не менее 1,5 лет (а при интенсивном заражении >2,5 лет). Для ранней серологической диагностики трихинеллеза используют реакцию непрямой гемагглютинации и ИФА. Ложноположительные результаты анализа чаще наблюдаются при острой фазе ряда гельминтозов (описторхоз, клонорхоз и др.), в связи с чем для дифференциального диагноза требуется тщательное изучение клинико-эпидемиологического анамнеза. Специфическая терапия трихинеллоцидными препаратами вызывает подъем титров АТ, которые сохраняются в диагностических значениях на протяжении 6-12 месяцев, а затем снижаются.

Согласно МУ 3.2.1173-02 («Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний») показаниями к серологическому обследованию на трихинеллез являются: наличие клинических симптомов (лихорадка неясного генеза, отек лица, миалгия, эозинофилия и др.); миокардиты, менингоэнцефалиты неясного генеза, лейкомоидная реакция по эозинофильному типу неясного генеза у пациентов, употреблявших в пищу свинину, медвежатину, кабана и мясо других животных – потенциальных хозяев трихинелл; расшифровка случаев групповой заболеваемости трихинеллезом (вспышки) и выявление контактных взаимодействий на эндемичных территориях (на неэндемичных территориях: при наличии в эпиданамнезе указаний на употребление в пищу мяса и мясopодуkтов из свинины, медвежатины и других животных – потенциальных хозяев трихинелл).

### Аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*)

**NEW** Аскарида является самым крупным представителем нематод. Мужские особи могут достигать в длину до 25 см, а женские – до 40 см. Особое значение для медицины представляет аскарида *A. lumbricoides*, т.к. именно для этого рода человек является основным носителем. Половозрелые круглые черви живут в тонком кишечнике. Женские особи производят до 200000 яиц в день, которые попадают в окружающую среду с фекалиями. Личинки развиваются внутри яиц после перорального заражения и вылупляются в верхнем отделе тонкого кишечника. Они проникают внутрь стенок кишечника и попадают в венозную кровь, с которой они достигают печени и легких, проникают через стенки сосудов в альвеолы, где линяют. Личинки мигрируют в трахею и через глотку после вторичного заглатывания опять попадают в тонкий кишечник. Там и происходит созревание до взрослой особи. Примерно через 10-12 недель после инвазии черви начнут выделяться из организма с фекалиями. Срок жизни взрослых особей составляет около 18 месяцев.

*A. lumbricoides* – широко распространенный по всему миру паразитарный патоген. Основными эндемическими областями являются Восточная Азия, Африка и Средняя и Южная Америка. Дети заражаются чаще, чем взрослые. Заражение паразитом ведет к аскаридозу, в основном прогрессирующему латентно. В общем случае взрослые аскариды не вызывают симптомов. Миграция личинок может сопровождаться воспалением, инфильтрацией эозинофилов в легкие, и вызывать кашель, одышку и легкую лихорадку. Конгломераты аскарид могут вызывать непроходимость кишечника. Миграция аскарид в желчный пузырь, поджелудочную железу или желудок могут вызывать соответствующие клинические симптомы. Клубки аскарид могут вызывать абдоминальные боли и кишечную непроходимость. Аскаридоз диагностируется обнаружением яиц микроскопически в кале и серологически по наличию АТ.

### Токсоплазмоз (*Toxoplasma gondii*)

Токсоплазмоз – паразитарное заболевание, возбудителем которого является внутриклеточный паразит *T. gondii*. Представители семейства кошачьих являются хозяевами этого патогена. Половой цикл развития происходит только в организме кошачьих, приводя к выделению ооцист возбудителя. При альтернативном пути жизненного цикла, человек может заразиться при употреблении недостаточно термически обработанного мяса, т.к. *T. gondii* персистирует у свиней, коз и других млекопитающих. Еще одним источником инфекции может быть трансплацентарная передача паразита от недавно инфицированной матери к плоду (врожденный токсоплазмоз).

Токсоплазмоз – одно из наиболее частых паразитарных заболеваний в центральной Европе. Частота сероположительных случаев в популяции высока и повышается с возрастом. Она увеличивается примерно на 1% за год жизни. Встречаемость врожденного токсоплазмоза в центральной Европе примерно 5-6 случаев на 1000 выживших новорожденных. Течение инфекции *T. gondii* у иммунокомпетентных людей обычно бессимптомное, редко развиваются неспецифические симптомы, похожие на грипп. Начальная инфекция переходит в пожизненную персистенцию паразита или приводит к пожизненному иммунитету к инфекции *T. gondii*.

После инфекции патоген вначале проходит фазу обязательной внутриклеточной пролиферации в форме быстро делящихся трофозоидов. Затем начинается дифференцировка трофозоидов в брадизоиты под влиянием иммунного ответа. Брадизоиты персистируют на протяжении жизни хозяина в нервных тканях и мускулатуре образуя цисты. Врожденный токсоплазмоз

может вызывать серьезные повреждения плода. Вероятность заражения повышается, хотя тяжесть клинических проявлений снижается при увеличении срока беременности. Инфицирование в первом триместре обычно приводит к гибели плода. Другие исходы включают энцефалит, с тяжелыми неврологическими расстройствами. У субклинически зараженных детей могут проявляться незначительные отставания в умственном развитии или вообще отсутствовать какие-либо симптомы. Лекарственная терапия может быть назначена при подтверждении первичной инфекции в период беременности. Как правило, такие мероприятия снижают тяжесть симптомов и, в дальнейшем, осложнений, вызванных внутриутробной инфекцией *T. gondii*. Токсоплазмоз также может приводить к серьезным осложнениям у иммунокомпрометированных больных. Так как течение токсоплазменной инфекции обычно проходит бессимптомно, диагностические процедуры обычно основаны на серологических методах.

Метод Sabin-Feldman (нейтрализационный тест, в котором микроорганизмы подвергаются лизису в присутствии АТ и комплемента), предложенный в 1948 г., до сих пор остается «золотым стандартом» в диагностике токсоплазмоза благодаря очень высокой чувствительности. Однако сам метод достаточно дорогой и сложный в постановке и в настоящий момент используется достаточно редко, в основном как референсный. Другими используемыми методами являются метод иммунофлуоресценции, реакция связывания комплемента и реакция агглютинации. Главной задачей серологической диагностики в период беременности, является выяснение наличия первичной инфекции у беременной женщины, или присутствия продуктивной инфекции перед зачатием. Гуморальный иммунный ответ начинается с образования IgM АТ через несколько дней после инфекции, пик может наблюдаться уже через 2-4 недели. Во многих случаях, также определяется титр IgA АТ. Титр IgG начинает расти примерно через 2 недели после инфекции, достигает пика в период от 6-8 недель до 3 месяцев и после начинает постепенно снижаться. Первые 3 месяца после инфекции называют I фазой (сероконверсия). В этот период рекомендуется проводить контроль титров каждые 2-3 недели. В последующей II фазе в норме персистируют высокие титры, но нет дополнительного увеличения титра АТ. Эта фаза распространяется на период ~3-6 месяцев и называется фазой активной инфекции. Также рекомендуется проводить контроль титра каждые 2-3 недели на протяжении II фазы. Фазы I и II объединяют как период острой инфекции. В последующем течении заболевания (в фазе III) концентрация АТ начинает снижаться, начиная с IgA и М, а затем и IgG. Специфические IgM АТ в норме персистируют до одного года, но в некоторых случаях встречаются

на протяжении 3 лет и дольше. Эта фаза (период с 6 по 12/36 месяц) называется фазой подострой инфекции. На этой фазе рекомендуется проводить контроль титра АТ для демонстрации отсутствия их роста. В последующей фазе латентной инфекции ни IgA, ни IgM АТ не выявляются, тогда как присутствуют средние или низкие титры IgG. Существует иммунитет к последующему инфицированию *T. gondii*.

Подводя итог, можно сказать, что выявление IgM АТ достаточно для диагностики острого токсоплазмоза. В редких случаях острая инфекция сопровождается очень низким или практически неопределяемым уровнем IgM АТ («IgM low responder»). В случае очень раннего начала терапии титры АТ, в особенности IgM, быстро снижаются. Диагностика инфекции может быть упрощена определением авидности IgG АТ. Цикл их созревания характеризуется тем, что АТ на ранней фазе обладают низкой авидностью, а АТ после завершения инфекции обладают высокой авидностью. Низкоавидные АТ можно определять как с помощью ИФА, так и с помощью иммуноблота.

**Отдельные АГ *T. gondii*, имеющие очень важное диагностическое значение**

Антиген	Характеристики
R0P1 (p66)	АГ трофозоидов и брадизоитов, характерен IgM ответ, IgM АТ персистируют, как правило, в подострой фазе инфекции, IgA АТ редки, и обычно только в острой фазе, часто встречаются низкоавидные IgG АТ в латентной фазе, нет титра IgG, если инфекция давно прошла
MAG1 (p65)	АГ брадизоитов, обычно вызывает очень слабый IgA и IgM ответ, присутствуют IgG АТ (с низкой авидностью), как правило, не в начале фазы I, нет низкоавидных IgG АТ в подострой и латентной фазе
SAG1 (p30)	АГ трофозоидов, иногда неспецифически взаимодействует с IgM АТ, IgG АТ (с низкой авидностью), как правило, не появляются до фазы II, нет низкоавидных IgG АТ в латентной фазе, титр IgG АТ обычно персистирует пожизненно
GRA7 (p29)	АГ трофозоидов и брадизоитов, IgM АТ встречаются редко, но обычно исключительно в острой фазе, IgG АТ (с низкой авидностью) уже присутствуют на ранней I фазе, повышение авидности IgG АТ до конца фазы I, титр IgG АТ часто персистирует пожизненно
GRA8 (P35)	АГ трофозоидов и брадизоитов, в острой фазе обычно присутствуют IgM АТ, в подострой фазе их уровень снижается, IgG АТ (с низкой авидностью) уже присутствуют на ранней острой фазе, АТ с низкой авидностью часто встречаются также в подострой и латентной фазе, нет титра IgG если инфекция давно прошла.

**Малярия (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* и *P. malariae*)**

Малярия является серьезным, иногда приводящим к фатальному исходу, паразитарным заболеванием, характеризующимся лихорадкой, ознобом и анемией. Болезнь вызывают паразиты, которые переносятся от одного человека к другому через укусы инфицированных комаров *Anopheles*. Известно четыре вида *Plasmodium*, которые могут инфицировать человека: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* и *P. malariae*. При попадании в организм человека паразиты (спорозоиты) мигрируют в печень, где они созревают и высвобождаются из нее уже в другой форме, в виде мерозоитов. Это заболевание является очень серьезной проблемой в тропиках и субтропиках. Более 200 млн. людей в мире страдают малярией.

В настоящее время малярия диагностируется путем выявления паразитов в капле крови. Кровь помещают в слайд для микроскопирования и окрашивают; таким образом, паразиты становятся различимыми при просмотре препарата под микроскопом. С недавнего времени для диагностики используется выявление малярийных АТ в человеческой крови или сыворотке с помощью иммунологического анализа. В настоящее время подобные анализы доступны в двух форматах – ИФА и иммунохроматографические (быстрые) тесты.

***Campylobacter jejuni* и *coli***

**NEW** *Campylobacter* сегодня считается одним из самых распространенных бактериальных возбудителей острых заболеваний ЖКТ.

Род *Campylobacter* представлен граммотрицательными спиралевидными палочками. Связь этой бактерии с пищевыми инфекциями была доказана в 1981 г. Основным резервуаром является пищеварительный тракт домашних теплокровных животных. *C. jejuni* встречается в 90% случаев, а *C. coli* – приблизительно в 9% случаев.

Чаще всего заболевание приурочено к употреблению контаминированных домашней птицы, воды, мяса, молочных продуктов. Несмотря на то, что попадание в организм даже незначительного количества возбудителя (менее 1000 клеток) может вызвать инфекцию, крупные вспышки этого заболевания обычно не фиксируются. Это связано с тем, что *Campylobacter* не способны размножаться в пищевых продуктах. Кроме того, заглатывание даже значительного количества возбудителя приводит к развитию заболевания только у ограниченного числа людей. Описаны случаи заражения от домашних животных. Показана возможность передачи возбудителя при гомосексуальных контактах.

**Острое заболевание.** Течение инфекции всегда связано с поражением ЖКТ. Редко встречаются случаи системной инфекции, включая менингит (им-

мунокомпроментированные пациенты, маленькие дети, пожилые лица). Заболевание может протекать бессимптомно или сопровождаться болезненными симптомами (диарея, часто с кровью; лихорадка, псевдоменингит, миалгия). Острая клиническая картина у большинства пациентов обычно наблюдается всего несколько дней.

**Осложнения:** реактивный артрит, миелополирадикулоневрит (синдром Guillain-Barré = GBS). Неврологические нарушения при GBS включают в себя как исключительно моторные («AMAN» – острая моторная аксональная невропатия; «AIDP» – острая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия), так и сенсорные и смешанные типы («ANSAM» – острая моторно-сенсорная аксональная невропатия).

Гастроинтестинальную форму необходимо дифференцировать от гастроэнтеритов другой этиологии (сальмонеллез, дизентерия Зонне, ротавирусные заболевания, гастроэнтериты, обусловленные вирусом Норфолк и родственными ему, отравления, отравление стафилококковым энтеротоксином и др.), холеры, а также от острого аппендицита и панкреатита. Генерализованную форму – от сепсиса другой этиологии. Хроническую форму необходимо дифференцировать от других хронических заболеваний (бруцеллез, токсоплазмоз и др.).

Стандартным методом диагностики при подозрении на инфекцию *Campylobacter* является бактериологическое выделение на селективных средах возбудителя из стула. Однако подобный анализ может потребовать нескольких дней.

Как и в случае других энтеральных бактериальных инфекций, результаты серологического анализа (выявление АТ) не имеют решающего значения у больных с острым заболеванием, но они очень полезны для установления этиологии в то время, когда выделение патогена уже невозможно. Тем не менее, как правило, *Campylobacter spp.* продолжает спорадически экскретироваться со стулом во время выздоровления (в ряде случаев, в течение нескольких недель). Поэтому может наблюдаться чередование положительных и отрицательных результатов анализа.

Вследствие относительно высокой частоты встречаемости этого патогена среди общего числа случаев тяжелых постинфекционных осложнений, серологическая диагностика (выявление специфических АТ к *Campylobacter spp.*) является необходимой обязательной диагностической процедурой для пациентов, страдающих от последствий инфекции. Обычно для этих целей используют реакцию связывания компонента (РСК), ИФА или иммуноблот. К сожалению, в настоящее время исключительная важность этой инфекции во многих случаях остается недооцененной.

Поэтому обычно подобное тестирование либо вообще не проводится, либо ограничивается использованием РСК. Специфичность этого метода оставляет желать лучшего (происходит большое количество перекрестных реакций, обусловленных присутствием неспецифических белков). Более того, с помощью РСК можно определять только IgG и IgM АТ (без возможности их дифференциации) и невозможно определять IgA АТ. Всех этих недостатков лишены ИФА тест-системы и иммуноблоты, основанные на использовании высокоспецифичных рекомбинантных АГ, таких как МОРР (основной белок наружной мембраны), РЕВ4 (цитоплазматический белок), РЕВ2 (периплазматический белок), РЕВ1 (периплазматический белок, фактор связывания клеток) и ОМР18 (белок наружной мембраны, пептидогликан-ассоциированный липопротеин).

### Острые гастроинтестинальные инфекции

NEW

Последние десятилетия XX века были ознаменованы значительным расширением спектра патогенных микроорганизмов, вызывающих острые заболевания ЖКТ. Наряду с сальмонеллами, шигеллами, ротавирусами все чаще в роли этиологического фактора выступали энтерогеморрагические штаммы *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *C. jejuni*, *C. difficile*, калицивирусы и другие энтеропатогенные вирусы.

**Наиболее часто встречающиеся в развитых странах возбудители острых заболеваний ЖКТ взрослых и детей**

<b>Бактерии</b>	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Campylobacter E. coli</i> O157:H7 и подобные серовары <i>C. difficile</i>
<b>Вирусы</b>	Калицивирусы (Норфолк-подобный вирус и пр.) Ротавирусы Аденовирусы, тип 40 и 41 Астровирусы
<b>Простейшие</b>	<i>Giardia</i> <i>Cryptosporidium</i> <i>E. histolytica</i>

Многие из этих микроорганизмов легко передаются от человека к человеку. Пища или вода могут служить первичными источниками заражения или, в свою очередь, быть контаминированы инфицированными людьми или животными. Заражение также может быть результатом контакта с инфицированными животными. Некоторые из этих патогенов чрезвычайно опасны для лиц с иммунодефицитными состояниями и с патологией ЖКТ.

• **симптоматическое течение заболевания обычно характерно для младенцев и детей младшего возраста**

•• **подробнее о возбудителях см. в разделе «Паразитарные инфекции»**

## Энтерогеморрагические *E. coli* (ЕНЕС)

NEW

Инвазивные и токсигенные штаммы *E. coli* являются причиной диарей у детей и взрослых. Среди патогенных штаммов особенно выделяется группа энтерогеморрагических *E. coli* (ЕНЕС), которые вызывают угрожающие жизни геморрагические колиты и гемолитический уремический синдром (HUS), приводящие к развитию острой почечной недостаточности и гемолитической анемии с тромбоцитопенией. Особенно тяжело протекает заболевание у маленьких детей и пожилых пациентов. Летальность при HUS обычно составляет 10%. ЕНЕС распространены в мире повсеместно. Заражение обычно происходит фекально-оральным путем при употреблении в пищу контаминированного мяса, молока, овощей и пр.; также встречается вторичная инфекция. Попадание в организм даже небольшого количества этих бактерий способно вызвать тяжелое заболевание. Передача возбудителя от человека к человеку обычно встречается в детских садах или яслях, психиатрических заведениях, внутри семей и т.п.

*E. coli* O:157; O:26; O:111 и другие серовары синтезируют цитотоксины (веротоксины 1 и 2 или шигаподобные токсины 1 и 2). Для диагностики используют бактериологические методы (выделение культуры возбудителя из кала). Начальная диагностика ЕНЕС основывается на выявлении веротоксина. Прямое выявление токсина возможно в специализированных лабораториях с помощью теста цитотоксичности на клетках Vero и последующего теста нейтрализации. Также можно использовать методы молекулярной диагностики, например, ПЦР для определения соответствующих генов, кодирующих токсины. К сожалению, это очень трудоемкие методы, требующие больших затрат времени, что делает их малоприменимыми для рутинной практики. С помощью иммунологических методов, таких как ИФА, можно быстро, с очень высокой специфичностью выявлять веротоксин в образцах стула. Для увеличения чувствительности этого метода обычно рекомендуют проводить предварительное обогащение ЕНЕС на селективной среде.

## *Clostridium difficile*

NEW

*C. difficile* является основной причиной нозокомиальных колитов у пациентов во время или после лечения антибиотиками, особенно такими как цефалоспорины 3 поколения. Около 2-3% здоровых взрослых и 20-50% здоровых детей являются носителями (колонизированы) *C. difficile*. Тем не менее, заболевание обычно имеет экзогенное происхождение и является результатом контакта либо с больничным персоналом, либо со спорами *C. difficile*, которые обычно контаминируют туалеты, постельное белье и т.п.

Оба экзотоксина этой спорообразующей бактерии (А и В) вызывают деполимеризацию актиновых филаментов путем внутриклеточной ферментативной модификации *rho*-белков. В результате повышается проницаемость клеточной мембраны, происходит проникновение нейтрофилов, и развивается характерная клиническая картина *C. difficile*-ассоциированных диарей и колита, что в итоге приводит к псевдомембранозному колиту (PMC). Вследствие тесной корреляции синтеза токсинов и вспышки заболевания, диагностика *C. difficile* базируется в основном на выявлении токсинов в образцах кала. Золотым стандартом диагностики по сегодняшний день является трудоемкий и длительный тест на цитотоксичность. В последнее время разработаны высокочувствительные и специфичные иммуноферментные тест-системы, идеально пригодные для использования в рутинной лабораторной практике.

## Ротавирусы

NEW

Ротавирусы являются одной из основных причин детских гастроэнтеритов и диарей. При отсутствии соответствующего лечения ротавирусная инфекция может привести к развитию тяжелого заболевания, сопровождающегося обезвоживанием и нарушением нормального электролитного баланса организма, особенно у детей младшего возраста и дошкольников. Ротавирусы вызывают более 50% требующих госпитализации случаев диарей у новорожденных и маленьких детей. Эти вирусы индуцируют обезвоживание организма, что является основной причиной госпитализации новорожденных как в развитых, так и в развивающихся странах, а также причиной смертности новорожденных (до 4%). Во время заболевания ротавирусы экскретируются в огромных количествах ( $10^9$ - $10^{11}$  вирусных частиц на гр. кала). Это одна из причин достаточно широкого распространения внутрибольничных инфекций, особенно в детских палатах и больницах. Также ротавирусы могут быть причиной «диареи путешественника» у взрослых и выявляются в образцах кала у бессимптомных носителей.

В зоне умеренного климата это заболевание чаще наблюдается во время холодного периода года. В тропическом климате ротавирусная инфекция встречается круглый год. Наиболее восприимчивыми являются новорожденные и дети, а также престарелые. Инфекция распространяется орально-фекальным путем от человека к человеку или через зараженный персонал. Диагностика ротавирусных гастроэнтеритов основана на выявлении ротавирусных частиц в кале, для этого используют ряд методов. Культивирование вируса в первичных клетках почки обезьяны или линиях клеток является очень трудоемким и длительным процессом, и поэтому этот метод не распространен. «Золотым стан-

дартром» является прямое выявление вируса с помощью электронной микроскопии. Кроме того, разработаны методы детекции, основанные на иммунологических методах, таких как реакция агглютинации, иммунохроматография или ИФА с использованием поликлональных или моноклональных АТ к специфическим АГ.

## Аденовирусы

**NEW**

Аденовирусы являются причиной целого ряда заболеваний человека, поражая преимущественно респираторный тракт, глаза и ЖКТ. Респираторные заболевания включают в себя острый фибриллярный фарингит, фарингоконъюнктивальную лихорадку, пневмонию и ОРЗ. Аденовирусная инфекция глаз может проявляться в трех видах: эпидемический кератоконъюнктивит, фарингоконъюнктивальная лихорадка и неспецифический фолликулярный конъюнктивит. Кроме того, некоторые аденовирусы энтеропатогены и известны как одна из основных причин гастроэнтеритов в педиатрии. Аденовирусные инфекции распространяются фекальным или воздушно-капельным путем. Большинство инфекций имеют легкое или средней тяжести течение и не длятся дольше одной недели. Аденовирус ответственен за 2-8% всех инфекций респираторного тракта и 7-17% диарейных заболеваний у детей. 30% вирусных диарей у пациентов с ослабленным иммунитетом обусловлены аденовирусной инфекцией.

Морфологически аденовирусы представляют собой безоболочечные икосаэдральные структуры диаметром 80 нм. Известен 41 аденовирус человека, их можно дифференцировать, главным образом, серологически или с помощью анализа ДНК. Многие известные серотипы вызывают специфические синдромы у людей. Диагноз аденовирусной инфекции преимущественно ставится прямым выявлением патогена в образцах кала или смывах. Из-за сложности культивирования в образцах ткани или клеточных культур до настояще-

го момента выявление вируса проводилось методом электронной микроскопии. Теперь разработаны иммунологические методы для выявления АГ аденовирусов, такие как иммунохроматография или ИФА.

## Астровирусы

**NEW**

Астровирусы были впервые описаны в 1975 г. и получили свое название за звездообразную структуру. Астровирусы принадлежат семейству *Astroviridae*. У человека они подразделяются на 7 серотипов. Вместе с ротавирусами и аденовирусами, они являются одной из наиболее частых причин гастроэнтеритов небактериального происхождения у детей до 5 лет во всем мире. Так, 80% детей в возрасте 5-10 лет имеют АТ к астровирусам. Эти вирусы вызывают гастроэнтериты у взрослых, также наблюдаются нозокомиальные инфекции. Заболевания обычно длятся короткий период. После инкубационного периода в 1-2 дня развивается гастроэнтерит (продолжается 1-4 дня), сопровождающийся рвотой, диареей, лихорадкой и абдоминальной болью. В итоге развивается обезвоживание. Хотя астровирусные инфекции наблюдаются в течение всего года, большая часть заболеваний приходится на зимний период. Астровирусные инфекции передаются фекально-оральным путем, от человека к человеку или через зараженные вещи или пищу. Инфицированный человек экскретит большое количество вирусных частиц с фекалиями.

Выявление астровирусов может быть выполнено методом электронной микроскопии или с помощью молекулярно-биологических методов, таких как ПЦР. При этом иммунологические методы, такие как ИФА, представляются более предпочтительными для рутинной лабораторной диагностики, т.к. они требуют меньших затрат времени и труда, экономичнее, а также возможна полная автоматизация анализа.

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



### Герпесвирусы

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
743-8030	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу простого герпеса I типа, 96
743-8033	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу простого герпеса I и II типа, 96
743-8040	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу простого герпеса II типа, 96
743-8039	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу простого герпеса I и II типа, 96
743-8037	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу простого герпеса I типа, 96
743-8038	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу простого герпеса II типа, 96
743-8010	BCM Diagnostics	IgG-антитела к цитомегаловирусу, 96
743-8015	BCM Diagnostics	IgM-антитела к цитомегаловирусу, 96
743-1092	BCM Diagnostics	IgG-антитела к цитомегаловирусу, определение avidности, 24
481-5502	Mikrogen	Иммуноблот CMV IgG, 20

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
481-5503	Mikrogen	Иммуноблот CMV IgM, 20
743-0303	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу ветряной оспы, 48
743-0304	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу ветряной оспы, 48
743-0101	BCM Diagnostics	IgG-антитела к раннему антигену вируса Эпштейна-Барр, (EBV-EA), 96
743-0103	BCM Diagnostics	IgG-антитела к ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр, (EBV-EBNA), 96
743-0104	BCM Diagnostics	IgG-антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр, (EBV-VCA), 96
743-0105	BCM Diagnostics	IgM-антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр, (EBV-VCA), 96
481-4502	Mikrogen	Иммуноблот EBV IgG, 20
481-4503	Mikrogen	Иммуноблот EBV IgM/IgA, 20
481-4572	Mikrogen	Иммуноблот EBV IgG [авидность], 50
481-1101	Mikrogen	Blot, Line-реагент для определения авидности, 25
481-4573	Mikrogen	Иммуноблот EBV IgM [IgA], 50
V17HHV6	Biotrin	IgM-антитела к вирусу герпеса 6 типа (иммунофлуоресцентный метод), 4x10
S001	Vircell	Сорбент IgG человека, для определения IgM методами ELISA и IFA, 2 x 1,2 мл
V15HHV6	Biotrin	IgG-антитела к вирусу герпеса 6 типа, 96
V19HHV8	Biotrin	IgG-антитела к вирусу герпеса 8 типа, 96

### Вирусные гепатиты

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
<b>Вирусный гепатит А</b>		
N0136	DiaSorin	Анти-HAV (суммарные антитела – качественно/количественно), 96
N0142	DiaSorin	Анти-HAV IgM (качественно), 96

#### Вирусный гепатит В

N0019	DiaSorin	HBsAg (поверхностный антиген – качественно), 192
310110	DiaSorin	HBsAg – подтверждающий тест, 40
P001603	DiaSorin	Анти-HBs (антитела к поверхностному антигену – количественно/качественно), 96
N0137	DiaSorin	Анти-HBc (антитела к ядерному антигену – качественно), 192
N0138	DiaSorin	Анти-HBc IgM (IgM-антитела к ядерному антигену – качественно), 96
N0140	DiaSorin	HBeAg (HBe-антиген – качественно), 96
N0139	DiaSorin	Анти-HBe (антитела к HBe-антигену – качественно), 96

#### Вирусный гепатит D

P002097	DiaSorin	HDAg (Антиген гепатита дельта – качественно), 96
P2808	DiaSorin	Анти-HDV (антитела к HDV – качественно), 96
P001653	DiaSorin	Анти-HDV IgM (IgM-антитела к HDV – качественно), 96

#### Вирусный гепатит С

N0146	DiaSorin	Анти-HCV (антитела к HCV – качественно), 96
N0147	DiaSorin	Анти-HCV (антитела к HCV – качественно), 5 x 96
25972	SPAN	Гепатит С (Signal HCV Flow Through), 10
481-4302	Mikrogen	Иммуноблот HCV IgG, 20

#### Вирусный гепатит Е

481-5002	Mikrogen	Иммуноблот HEV IgG/IgM, 20
----------	----------	----------------------------

### Другие вирусы

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
743-8050	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу краснухи, 96
743-8055	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу краснухи, 96
743-1095	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу краснухи, определение авидности, 24
743-0501	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу паротита, 96
743-0502	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу паротита, 96
743-0401	BCM Diagnostics	IgG-антитела к вирусу кори, 96
743-0402	BCM Diagnostics	IgM-антитела к вирусу кори, 96
481-4404	Mikrogen	Набор для определения антител к парвовирусу B19 IgG, 96
481-4405	Mikrogen	Набор для определения антител к парвовирусу B19 IgM, 96
V619IM	Biotrin	IgM-антитела к парвовирусу B19, 96
V519IG	Biotrin	IgG-антитела к парвовирусу B19, 96
481-4402	Mikrogen	Иммуноблот парвовирус IgG/IgM, 20

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
481-4872	Mikrogen	Иммуноблот <i>Bunyavirus</i> IgG/IgM, 25
534-1050	Vircell	Профильное определение IgG-антител к респираторно-синцитиальному вирусу; вирусам гриппа А, В; вирусам парагриппа 1,2 и 3 ( <i>Pneumovirus</i> IgG), 16Х6
535-1004	Vircell	IgG/IgM-антитела к аденовирусу, 96
41206	Savyon	Аденовирус (антиген), 25
535-1009	Vircell	IgG/IgM-антитела к парагриппу 1, 96
535-1010	Vircell	IgG/IgM-антитела к парагриппу 2, 96
535-1011	Vircell	IgG/IgM-антитела к парагриппу 3, 96
536-1006	Vircell	IgG/IgM-антитела к респираторно-синцитиальному вирусу, 96
41209	Savyon	Респираторно-синцитиальный вирус (RSV) (антиген), 25
V6HMPV	Biotrin	Метапневмовирус, 96

### Туберкулез

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
311910	ANDA Biological	IgG-антитела к <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 96
311907	ANDA Biological	IgA-антитела к <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 96
311915	ANDA Biological	IgM-антитела к <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 96
311918	ANDA Biological	IgG/IgM-антитела к <i>M. tuberculosis</i> , 32 для IgG, 24 для IgM
401901	ANDA Biological	Набор для удаления IgG при определении IgM, 40
500901	ANDA Biological	Экспресс-метод диагностики туберкулеза (ANDA TB GA), 40
711904	ANDA Biological	Экспресс-метод определения <i>Mycobacterium tuberculosis</i> в мокроте, 50
25987	SPAN Diagnostics	Экспресс-серодиагностический тест, для выявления антимикобактериальных антител в сыворотке, в плазме или в цельной крови (TB Spot), 24

### Иерсиниозы

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
481-4604	Mikrogen	Набор для определения <i>Yersinia</i> IgG, 96
481-4605	Mikrogen	Набор для определения <i>Yersinia</i> IgM, 96
481-4606	Mikrogen	Набор для определения <i>Yersinia</i> IgA, 96
481-4672	Mikrogen	Иммуноблот <i>Yersinia</i> IgG, 50
481-4673	Mikrogen	Иммуноблот <i>Yersinia</i> IgA, 50
14900-6	Dynal	HLA-B27 (микрoлимфоцитотоксический тест), 18
558.21	Dynal	HLA-B27 (ПЦР типирование), 48

### *Helicobacter pylori*

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
743-0201	BCM Diagnostics	IgA-антитела к <i>H. pylori</i> , 96
743-0202	BCM Diagnostics	IgG-антитела к <i>H. pylori</i> , 96
7004	BCM Diagnostics	IgG-антитела к <i>H. pylori</i> , 96
7006	BCM Diagnostics	IgM-антитела к <i>H. pylori</i> , 96
473-6920	BCM Diagnostics	Антиген <i>H. pylori</i> в кале, 96
481-4702	Mikrogen	Иммуноблот <i>H. pylori</i> IgG, 20
481-4703	Mikrogen	Иммуноблот <i>H. pylori</i> IgA, 20

### Сифилис

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
N0148	DiaSorin	IgG+IgM-антитела к <i>Treponema pallidum</i> , 96
N0149	DiaSorin	IgG+IgM-антитела к <i>Treponema pallidum</i> , 5 x 96
481-5104	Mikrogen	Набор для определения <i>Treponema</i> IgG, 96
481-5105	Mikrogen	Набор для определения <i>Treponema</i> IgM, 96
743-0601	BCM Diagnostics	IgG-антитела к <i>Treponema pallidum</i> , 96
743-0602	BCM Diagnostics	IgM-антитела к <i>Treponema pallidum</i> , 96
743-0609	BCM Diagnostics	Набор для определения сифилиса (рекомбинантный), 2 x 96
534-1080	Vircell	Профильное определение IgG-антител к вирусу герпеса 2, <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Treponema pallidum</i> (STD IgG), 32Х3
481-5102	Mikrogen	Иммуноблот <i>Treponema</i> IgG, 20
481-5103	Mikrogen	Иммуноблот <i>Treponema</i> IgM, 20

## Другие бактерии

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
800-3110	BCM Diagnostics	Антитела к <i>Borrelia burgdorferi</i> общие, 96
800-3150	BCM Diagnostics	IgM-антитела к <i>Borrelia burgdorferi</i> , 96
442-1032	Biomedica	IgG-антитела к <i>Borrelia afzelii</i> и <i>Borrelia garinii</i> , 96
442-1042	Biomedica	IgM-антитела к <i>Borrelia afzelii</i> и <i>Borrelia garinii</i> , 96
481-4204	Mikrogen	IgG-антитела к <i>Borrelia afzelii</i> и <i>Borrelia garinii</i> , 96
481-4205	Mikrogen	IgM-антитела к <i>Borrelia afzelii</i> и <i>Borrelia garinii</i> , 96
481-4202	Mikrogen	Иммуноблот <i>Borrelia</i> IgG, 20
481-4203	Mikrogen	Иммуноблот <i>Borrelia</i> IgM, 20
B-261	Savyon	IgG-антитела к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , 192
B-262	Savyon	IgM-антитела к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , 192
481-6172	Mikrogen	Иммуноблот <i>Chlamydia</i> IgG, 25
481-6173	Mikrogen	Иммуноблот <i>Chlamydia</i> IgA, 25
B-263	Savyon	IgA-антитела к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , 192
A-183	Savyon	IgA-антитела к <i>Chlamydia trachomatis</i> (SeroCT, IgA), 96
A-181	Savyon	IgG-антитела к <i>Chlamydia trachomatis</i> (SeroCT, IgG), 96
B-181	Savyon	IgG-антитела к <i>Chlamydia trachomatis</i> (SeroCT, IgG), 192
41101	Savyon	<i>Chlamydia trachomatis</i> (антиген), 20
A-193	Savyon	IgA-антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i> (SeroCP, IgA), 96
A-191	Savyon	IgG-антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i> (SeroCP, IgG), 96
A-192	Savyon	IgM-антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i> (SeroCP, IgM), 96
A-113	Savyon	IgA-антитела к родовым антигенам <i>Chlamydia</i> (SeroELISA, IgA), 96
A-111	Savyon	IgG-антитела к родовым антигенам <i>Chlamydia</i> (SeroELISA, IgG), 96
A-112	Savyon	IgM-антитела к родовым антигенам <i>Chlamydia</i> (SeroELISA, IgM), 96
O11	Savyon	IgG/IgA-антитела к <i>Chlamydia</i> (IPAzyme, IgG/IgA), 144 (непрямой иммунопероксидазный метод)
O12	Savyon	IgM-антитела к <i>Chlamydia</i> (IPAzyme, IgM), 96 (непрямой иммунопероксидазный метод)
513	Savyon	IgA-антитела к видовым антигенам <i>Chlamydia</i> (SeroFIA, IgA), 105 (иммунофлуоресцентный метод)
511	Savyon	IgG-антитела к видовым антигенам <i>Chlamydia</i> (SeroFIA, IgG), 105 (иммунофлуоресцентный метод)
512	Savyon	IgM-антитела к видовым антигенам <i>Chlamydia</i> (SeroFIA, IgM), 105 (иммунофлуоресцентный метод)
590-01	Savyon	SeroFIA <i>Chlamydia pneumoniae</i> , 105 (иммунофлуоресцентный метод)
580-01	Savyon	SeroFIA <i>Chlamydia trachomatis</i> , 105 (иммунофлуоресцентный метод)
570-01	Savyon	SeroFIA <i>Chlamydia psittaci</i> , 105 (иммунофлуоресцентный метод)
A-231	Savyon	IgG-антитела к <i>Bordetella pertussis</i> (коклюш), 96
A-233	Savyon	IgA/IgM-антитела к <i>Bordetella pertussis</i> (коклюш), 96
534-1040	Vircell	Профильное определение IgG-антител к <i>Legionella pneumophila</i> серогруппа 1, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> (Pneumobact IgG), 24X4
535-1040	Vircell	Pneumobact IgM, 24X4
534-1003	Vircell	IgG-антитела к <i>Brucella</i> , 96
535-1006	Vircell	IgM-антитела к <i>Brucella</i> , 96
534-1001	Vircell	IgG-антитела к <i>Coxiella burnetii</i> , 96
535-1001	Vircell	IgM-антитела к <i>Coxiella burnetii</i> , 96
534-1000	Vircell	IgG-антитела к <i>Legionella pneumophila</i> (серогруппа 1), 96
535-1000	Vircell	IgM-антитела к <i>Legionella pneumophila</i> (серогруппа 1), 96
536-1001	Vircell	(IgG+IgM)-антитела к <i>Legionella pneumophila</i> (серогруппы 1-6), 96
535-1005	Vircell	IgG/IgM-антитела к <i>Rickettsia conorii</i> , 96
534-1008	Vircell	IgG-антитела к токсину <i>Clostridium tetani</i> , 96
RE56351	IBL	IgG-антитела к <i>Haemophilus influenzae</i> B, 96
RE56191	IBL	IgG-антитела к дифтерийному токсину, 96

## Грибы

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
606-3458	BCM Diagnostics	IgG-антитела к <i>Candida albicans</i> , 96
606-3459	BCM Diagnostics	IgM-антитела к <i>Candida albicans</i> , 96

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
RE56111	IBL	IgG-антитела к <i>Aspergillus fumigatus</i> , 96
RE56121	IBL	IgM-антитела к <i>Aspergillus fumigatus</i> , 96
RE56101	IBL	IgA-антитела к <i>Aspergillus fumigatus</i> , 96

### Эндогенные маркеры инфекций

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
RE59321	IBL	Неоптерин, 96
BMS2026	Bender MedSystems	Человеческий гранзим А, 96
BMS2027	Bender MedSystems	Человеческий гранзим В, 96
BMS234	Bender MedSystems	Человеческий s90K/Мас-2BP, 96

### Паразитарные заболевания

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
E-038	Seramun	<i>Giardia lamblia</i> (антиген в кале), 96
E-018	Seramun	<i>Entamoeba histolytica</i> (антиген в кале), 96
RE58631	IBL	IgG-антитела к <i>Entamoeba histolytica</i> (амебиаз), 96
RE58731	IBL	IgG-антитела к <i>Taenia solium</i> (Цистицеркоз), 96
RE58661	IBL	IgG-антитела к <i>Trichinella spiralis</i> , 96
RE58721	IBL	IgG-антитела к <i>Toxocara canis</i> , 96
534-1006	Vircell	IgG-антитела к однокамерному эхинококку ( <i>Hydatidosis</i> ), 96
536-1000	Vircell	(IgG+IgM)-антитела к <i>Leishmania infantum</i> , 96
16548HRP	Dr. Fooke	Аскаридоз – <i>Ascaris</i> IgG-HRP, 48
606-4208	BCM Diagnostics	Стронгилоидоз IgG ( <i>Strongyloides stercoralis</i> ), 96
743-7010	BCM Diagnostics	IgG-антитела к токсоплазме, 96
743-7015	BCM Diagnostics	IgM-антитела к токсоплазме, 96
743-7018	BCM Diagnostics	IgA-антитела к токсоплазме, 96
743-1098	BCM Diagnostics	IgG-антитела к токсоплазме, определение авидности, 24
481-5972	Mikrogen	Иммуноблот Тохо IgG (авидность), 25
481-5973	Mikrogen	Иммуноблот Тохо IgM, 25
481-5971	Mikrogen	Иммуноблот Тохо IgA, 25
41108	Savyon	Малярия (суммарные антитела отдельно к <i>Plasmodium falciparum</i> и <i>P. vivax</i> ), 30

### Острые гастроинтестинальные инфекции

Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
481-6204	Mikrogen	Набор для определения <i>Campylobacter</i> IgG, 96
481-6205	Mikrogen	Набор для определения <i>Campylobacter</i> IgA, 96
481-6272	Mikrogen	Иммуноблот <i>Campylobacter</i> IgG, 25
481-6273	Mikrogen	Иммуноблот <i>Campylobacter</i> IgA, 25
E-030	Seramun	<i>E. coli</i> EHEC (веротоксин 1 и 2 в кале), 96
E-040	Seramun	<i>Clostridium difficile</i> (токсин A/B в кале), 96
E-020T	Seramun	Ротавирус (антиген в кале), 96
41205	Savyon	Ротавирус (антиген в кале, экспресс-тест), 25
41207	Savyon	Адено и ротавирус (антигены в кале, экспресс-тест), 25
E-017T	Seramun	Аденовирус (антиген в кале), 96
41206	Savyon	Аденовирус (антиген, экспресс-тест), 25
E-045	Seramun	Астровирус (антиген в кале), 96
E-018	Seramun	<i>Entamoeba histolytica</i> , 96 (антиген в кале), 96
RE58631	IBL	IgG-антитела к <i>Entamoeba histolytica</i> , 96
E-038	Seramun	<i>Giardia lamblia</i> (антиген в кале), 96