



Иммунологическая диагностика инфекционных заболеваний.

Зав. лабораторией АНО "ВЕРА" Б.А. Никулин

Иммунологическая диагностика инфекционных заболеваний основана на выявлении антител в организме пациента к возбудителю инфекции методами серологических исследований. В основе всех серологических реакций лежит взаимодействие антигена и антитела с образованием иммунных комплексов, которые можно обнаружить в тестах *in vitro*.

Серологические реакции применяются в двух направлениях.

1. Обнаружение с диагностической целью антител в сыворотке крови обследуемого. В этом случае из двух компонентов реакции (антитела, антиген) неизвестным является сыворотка крови. Постановка реакции проводится с заведомо известными антигенами (диагностикумами). Положительный результат реакции свидетельствует о наличии в крови антител, гомологичных применяемому антигену; отрицательный результат указывает на отсутствие таковых. Достоверные результаты получают при исследовании "парных" сывороток крови больного, взятой в первые дни болезни и через разные промежутки времени от начала заболевания. В этом случае удается наблюдать динамику нарастания антител. При вирусных инфекциях лишь четырехкратное и большее повышение титра антител во второй сыворотке имеет диагностическое значение.

2. Установление родовой, видовой и типовой принадлежности микроба или вируса. В этом случае неизвестным компонентом реакции является антиген. Для этой цели используются диагностические иммунные сыворотки, полученные от животных после вакцинации соответствующими антигенами. Это серологическая идентификация микроорганизмов.

При инфекционных заболеваниях серологические исследования для обнаружения специфических антител являются более доступным методом лабораторной диагностики, чем бактериологическое выявление возбудителя. В ряде случаев серологические исследования являются единственным методом диагностики инфекционных заболеваний.

Серологические реакции протекают *in vitro* в две фазы:

специфическая - фаза взаимодействия, в которой происходит комплементарное соединение активных центров антител и эпитопов антигена. Обычно эта фаза длится несколько секунд или минут;

неспецифическая - фаза проявления, характеризуется внешними признаками образования иммунных комплексов. Эта фаза может развиваться от нескольких минут до нескольких часов.

Реакции антиген-антитело в системе *in vitro* могут сопровождаться возникновением нескольких феноменов - агглютинации, преципитации, лизиса. Внешние проявления реакции зависят от физико-химических свойств антигена (размеры частиц, физическое состояние), класса и вида антител (полные и неполные), а также условий опыта (консистенция среды, концентрация солей, pH, температура).

Поливалентность антигенов и антител обеспечивает возникновение видимых невооруженным глазом агрегатов. Это происходит в соответствии с теорией образования сетей, согласно которой к образовавшемуся комплексу антиген-антитело последовательно присоединяются другие молекулы антител и антигена, реагируя со свободными детерминантами и антидетерминантами. В результате формируются сетевые структуры, которые превращаются в агрегаты, выпадающие в осадок. Характер и выраженность реакции зависят от количественного соотношения антигенов и антител. Наиболее интенсивно реакции проявляются в том случае, если реагенты находятся в эквивалентном соотношении. Агрегаты, способные выпадать в осадок, образуются при соединении антигенов с полными антителами. Неполные антитела (моновалентные) не вызывают образования сетевых структур и крупных агрегатов. Для выявления таких антител используются специальные методы, основанные на использовании антииммуноглобулинов. Серологические реакции, благодаря высокой специфичности и

чувствительности, применяют для выявления и количественного определения антигенов и антител. Количество иммунореагентов в реакциях выражают титром - максимальным разведением сыворотки или антигена, при котором еще наблюдается реакция. Чувствительность используемых серологических методов приведена в таблице.

Чувствительность методов серологических реакций.

МЕТОДЫ	ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ, г/мл.
Реакция преципитации	$10^4 - 10^6$
Реакция агглютинации	$10^6 - 10^7$
Реакция связывания комплемента	10^6
Реакция пассивной гемагглютинации	$10^7 - 10^9$
Реакция иммунофлуоресценции	10^7
Реакция коагглютинации	$10^8 - 10^9$
Иммуноферментный анализ	$10^6 - 10^7$
Радиоиммунный анализ	10^9 и менее
Иммуноблотинг	$10^7 - 10^9$

Краткая характеристика серологических методов исследования.

Реакция агглютинации (РА). В этой реакции принимают участие антигены в виде частиц (микробные клетки, эритроциты и другие корпускулярные антигены), которые склеиваются антителами и выпадают в осадок. В зависимости от вида используемого иммунодиагностикума различают реакцию микробной агглютинации, гемагглютинации, латексагглютинации, коагглютинации и т.д. Для диагностики инфекционных заболеваний реакцию агглютинации проводят в двух направлениях: определяют вид выделенного от больного микроба-возбудителя с помощью диагностической агглютинирующей сыворотки (серологическая идентификация микроба) и обнаруживают специфические антитела в сыворотке больного, используя стандартный микробный диагностикум (серодиагностика заболевания, постановка серологического диагноза). Различают прямую и непрямую реакции агглютинации.

Реакция прямой агглютинации микробов. В этой реакции антитела (агглютинины) непосредственно агглютинируют корпускулярные антигены (агглютиногены). Обычно используется взвесь инактивированных микроорганизмов. Для определения вида микроорганизмов используют специальные диагностические агглютинирующие сыворотки, полученные путем гипериммунизации лабораторных животных взвесью бактерий. Титром такой сыворотки является ее наибольшее разведение, при котором наблюдается отчетливая агглютинация соответствующего антигена. Развернутую РА проводят в пробирках или лунках пластин. Диагностическую сыворотку разводят до титра и вносят одинаковые количества антигена. При положительной реакции на дне пробирки (лунки) образуется рыхлый осадок в виде «зонтика», при отрицательном - осадок в виде «пуговицы». Для определения антител в сыворотке больного (серологический диагноз) используют стандартный микробный диагностикум, содержащий взвесь известных микробов или их антигенов.

Реакция прямой агглютинации клеток. Используется для определения групп крови. Применяются стандартные сыворотки крови доноров, содержащие известные анти-А или анти-В антитела. Реакцию ставят на стекле или пластинах. При наличии на эритроцитах А (2-ая группа крови), В (3-я группа крови) антигенов или обоих антигенов А и В (4-ая группа крови) соответствующие сыворотки агглютинируют эритроциты (сыворотка анти-А агглютинирует эритроциты 2-ой и 4-ой групп).

Реакция непрямой (пассивной) агглютинации. Для получения феномена агглютинации антиген предварительно адсорбируют на корпускулярном носителе, которым служат инертные частицы (латекс, целлюлоза, полистирол и др.) или клетки (эритроциты барана, 1(0)-группы крови человека). В реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) в качестве носителя используют эритроциты. Нагруженные антигеном эритроциты склеиваются в присутствии специфических антител к данному антигену и выпадают в осадок. Если нагрузить эритроциты антителами, то их

можно применять для выявления антигенов. Реакция непрямой гемагглютинации используется для определения в сыворотке больного антител к сальмонеллам, шигеллам, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*. РНГА применяется для выявления антител к *Tp. pallidum* при лабораторной диагностике сифилиса.

Прямая и непрямая антииммуноглобулиновые реакции Кумбса. Используются для выявления «неполных» (неагглютинирующих) антител, которые образуются при различных заболеваниях: резус конфликте, аутоиммунных заболеваниях. Для постановки этих реакций необходима антиглобулиновая сыворотка, которую получают путем иммунизации кролика глобулинами человека. Такая сыворотка содержит полные (бивалентные) антитела-антииммуноглобулины. Прямая реакция: к отмытым эритроцитам крови больного добавляют антииммуноглобулиновую сыворотку. Если на эритроцитах есть неполные антитела (гемолитическая анемия, резус конфликт), то они агрегируются. Непрямая реакция выявляет свободные антиэритроцитарные антитела в сыворотке крови больного. К сыворотке крови больного добавляют отмытые эритроциты донора 0(1) группы крови. Смесь инкубируют при 37 градусах Цельсия в течение 30 минут и отмывают эритроциты. Затем к ним добавляют антииммуноглобулиновую сыворотку. Если в сыворотке больного были неполные антиэритроцитарные антитела, то наступает агглютинация.

Реакция связывания комплемента (РСК). В РСК помимо антигена и антител принимает участие третий компонент - комплемент, который способен связываться с комплексом антиген-антитело. Образование комплексов антиген-антитело и фиксация комплемента не сопровождаются видимыми изменениями. Для обнаружения связывания комплемента используют дополнительную индикаторную гемолитическую систему (эритроциты барана, обработанные гемолитической антисывороткой). В присутствии комплемента (сыворотки морской свинки) происходит лизис эритроцитов. Если в опытной системе образовались комплексы антиген-антитело, которые связывают комплемент, то лизис эритроцитов в индикаторной системе не произойдет (реакция положительная). РСК используется при определении антител к вирусу Коксаки, при лабораторной диагностике сифилиса - реакция Вассермана.

Реакция лизиса. Сущность реакции состоит в том, что при взаимодействии специфических антител с антигенами клеток (эритроцитов, бактерий), на их поверхности образуется комплекс, который активирует комплемент по классическому пути, вследствие этого происходит лизис этих клеток. Эта реакция используется при типировании антигенов системы HLA на лимфоцитах. К типизируемым лимфоцитам добавляют антисыворотки против различных HLA-антигенов, затем их отмывают и добавляют комплемент. Присутствие соответствующего антигена приводит к лизису лимфоцитов.

Реакция иммунофлуоресценции. Прямой метод иммунофлуоресценции (по Кунсу) основан на взаимодействии антител, меченных флуорохромом с антигеном, который находится на клетке, в клетке или тканях. В качестве флуорохрома часто используют флуоресцеинизотиоцианат (ФИТЦ). Этот краситель дает зеленое свечение в ультрафиолетовых лучах, а тетраметилродаминизотиоцианат (ТРИТЦ) - оранжево-красное свечение. Прямой метод одноэтапный: на фиксированный мазок клеток с антигеном наносят диагностическую сыворотку с мечеными антителами, инкубируют, отмывают и учитывают свечение в люминесцентном микроскопе. Непрямой метод иммунофлуоресценции заключается в том, что антиген обрабатывают обычной диагностической сывороткой, а для обнаружения образовавшегося комплекса антиген-антитело используют антисыворотку, меченную флуорохромом. Непрямой метод позволяет обнаруживать различные комплексы антиген-антитело с помощью одной меченой антиглобулиновой сыворотки. Метод иммунной флуоресценции применяют для идентификации бактерий, вирусов, клеточных рецепторов и антигенов.

Иммуноферментный анализ (ИФА). В методах иммуноферментного анализа используют иммунореагенты, меченные ферментами. Наиболее широко используется твердофазный ИФА. В качестве твердой фазы используют полистироловые или поливиниловые планшеты или шарики, на которых адсорбированы антигены или антитела. Для выявления антител известный антиген адсорбируют в лунках полистироловой пластины. Затем вносят исследуемую сыворотку, в которой хотят обнаружить антитела к данному антигену. После инкубации лунки промывают для удаления несвязавшихся белков и вносят в них антииммуноглобулиновые антитела, меченные ферментом. После инкубации и отмывания в лунки добавляют специфичный для фермента

субстрат и хромоген для регистрации конечных продуктов расщепления субстрата. О наличии и количестве антител судят по изменению цвета и интенсивности окраски раствора. Методы ИФА обладают высокой чувствительностью и специфичностью и получили наиболее широкое распространение среди иммунологических методов клинико-лабораторной диагностики.

Радиоиммунологический анализ. Принцип радиоиммунологического анализа (РИА) основан на выявлении комплекса антиген-антитело, в котором один из иммунореагентов был мечен радиоактивным изотопом. Обычно используют изотопы йода ($I-125$ и $I-131$). Учет реакции проводят по убыванию или по возрастанию радиоактивности (в зависимости от методики РИА) с помощью специальных счетчиков ионизирующего излучения. Метод высокочувствителен, но постепенно вытесняется иммуноферментным анализом, учитывая не безопасность работы с радиоактивными изотопами и необходимость в сложном регистрирующем оборудовании.

Иммуноблотинг. Вариант ИФА, повышающий чувствительность метода при изучении гетерогенной смеси антигенов. Смесь антигенов подвергают дискэлектрофорезу в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия. Полученные таким образом индивидуальные полосы антигенов переносят на нитроцеллюлозные полоски с помощью специального аппарата для переноса. В дальнейшем ход реакции сводится к гетерогенному не конкретному ИФА. Нитроцеллюлозные полоски с перенесенными на них антигенами обрабатывают испытуемой сывороткой. Имеющиеся в ней антитела связываются с индивидуальными антигенами, представленными в виде отдельных полос. Связавшиеся антитела проявляют при обработке конъюгатом фермента с антителами к иммуноглобулинам человека. На последнем этапе определяют активность фермента. Таким образом, можно определить против каких антигенов смеси направлены антитела сыворотки больного. На основе реакции иммуноблотинга созданы диагностические наборы для определения в сыворотке больного антител к вирусу гепатита С и ВИЧ-1-2.

Гибридизационный анализ (ГА). Проводится определение нуклеиновых кислот по связыванию с ДНК- и РНК- зондами. Метод ГА основан на отжиге одноцепочечного фрагмента нуклеиновой кислоты на комплиментарный ему участок другой молекулы анализируемой нуклеиновой кислоты с образованием двух цепочечной гибридной молекулы. Зонд может быть получен либо химическим синтезом олигонуклеотидов. Либо с помощью синтеза ДНК на одной из нитей детектируемой ДНК с помощью фермента ДНК-поли-меразы (для РНК с помощью РНК-зависимой ДНК-полимеразы). Полученная копия может быть встроена в плазмиду и затем размножена в составе каких-либо бактерий. Зонд должен иметь репортерную группу, выявляемую ферментативно или физическим методом. В настоящее время в медицинской практике успешно применяются ДНК-зонды, в которых в качестве репортерных групп используют биотин, дегексигенин, комплексы платины и др. Введение меток может производиться с помощью химических, физических, фотохимических и ферментативных реакций. В частности при амплификации. Также разнообразны методы детекции образовавшегося гибрида нуклеиновых кислот: с помощью хромогенных и хемилюминесцентных субстратов высокоактивных ферментов (пероксидаза, щелочная фосфатаза), люминесценции и др. На основе нерадиоизотопного ГА созданы диагностикумы для выделения вируса папилломы, герпеса, хламидий и уреоплазмы.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). ПЦР - это метод умножения числа копий нуклеиновых кислот (амплификация) *in vitro*. Перед проведением реакции из биологического материала выделяют ДНК или РНК возбудителя инфекционного заболевания или ДНК генома клеток человека. Полимеразная цепная реакция проводится с использованием двух или более олигонуклеотидных праймеров («затравки»), фланкирующих участок ДНК (РНК), специфический для определяемого участка генома. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров ДНК-полимеразой. Праймеры ориентированы таким образом, что синтез с помощью полимеразы протекает только между ними, удваивая количество копий этого участка ДНК в каждом последующем цикле. Как правило, проводится не менее 30 последовательных циклов реакции. Амплифицированный участок именуют «ампликоном». В результате реакции происходит экспоненциальное увеличение количества копий специфического фрагмента. При амплификации используется термостабильная ДНК-полимераза, выделенная из бактерий *Thermus aquaticus* (Taq), живущих в горячих источниках.

Иммуноферментный метод диагностики сифилиса. Из всех серологических методов диагностики сифилиса ИФА метод является наиболее чувствительным (свыше 95%) и специфичным (100%). При использовании метода ИФА выявляются антитела класса IgM и IgG. Антитела класса IgM имеют важное значение для диагностики первичного, вторичного и врожденного сифилиса. Выявление антител к иммуноглобулинам класса M говорит о наличии у больного первичного, вторичного или врожденного сифилиса. В процессе лечения уровень антител класса IgM у больного снижается. По его уровню можно следить за эффективностью проводимого лечения. После успешного лечения уровень антител класса IgM снижается до отрицательных результатов. Антитела класса IgG появляются в острый период заболевания и могут сохраняться у вылечившихся пациентов до 20 лет и более. При использовании ИФА метода сифилис диагностируется в более ранние сроки, чем при использовании РВ. Согласно приказа Минздравмедпрома РФ №286 от 7 декабря 1993 года “О совершенствовании контроля за заболеваниями, передаваемыми половым путем” в качестве специфического теста для подтверждения сифилиса, вместо реакции иммобилизации бледных трепонем и РИФ рекомендуется использовать иммуноферментный анализ.

Серологическая диагностика вирусных инфекций.

Диагностика цитомегаловирусной инфекции. Возбудитель цитомегаловирусной инфекции принадлежит к семейству Herpesviridae (герпесвирус человека 5), подсемейству бета, роду Cytomegalovirus (CMV - ЦМВ). Как и другие вирусы этого семейства ЦМВ способен вызывать персистентную и латентную инфекцию и реактивироваться в условиях ослабления иммунитета. ЦМВ распространен повсеместно. От 0,5% до 2,5% новорожденных детей инфицируются им в период внутриутробного развития, 10% из них погибают в течение года. Инфицирование плода может вызвать нарушение функциональных механизмов дифференцировки клеток и тканей органов. 10-60% детей заражаются при прохождении через родовые пути и в первые 6 месяцев жизни через грудное молоко.

В серологической диагностике ЦМВ инфекции используется много реакций, однако по-настоящему полезны те из них, которые могут выявить антитела, относящиеся к классам иммуноглобулинов M и G. Наличие антител IgM свидетельствует о свежем инфицировании или реактивации латентной и персистентной инфекции. Однако, повышение антител класса IgM может не выявляться в течение первых 4 недель после начала заболевания. В то же время до 2 лет после выздоровления титры могут оставаться высокими. В связи с этим однократное определение уровня антител IgM бесполезно при оценке остроты инфекции. Важно наблюдать за динамикой изменения уровня антител IgM (нарастание их уровня или снижение). Наличие антител IgM у беременных является показанием для кордоцентеза и исследования крови плода на наличие антител IgM. При наличии антител IgM он считается инфицированным.

Известно, что 15-20% вирусных гепатитов обусловлено поражением печени ЦМВ. Кроме того, продукты IE-генов ЦМВ способны трансактивировать экспрессию Hbs- и Core-антигенов вирусного гепатита В. Поэтому, возможно, ЦМВ играет этиологическую роль в возникновении карцином печени. Установлена связь ЦМВ-инфекции с развитием сахарного диабета. ЦМВ поражает многие типы клеток крови и может персистировать в моноцитах, макрофагах, мегакариоцитах, что в ряде случаев приводит к тромбоцитопении.

Группой наибольшего риска для ЦМВ-инфекции являются лица с искусственной или естественной иммуносупрессией - ВИЧ-инфицированные, реципиенты органов, тканей, клеток, онкологические больные. При оценке результатов выявления антител IgM следует учитывать, что наличие циркулирующих ревматоидных факторов может привести к ложноположительным результатам исследования. Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет. Частота выявления антител класса IgG может достигать 100% среди различных групп населения.

Диагностика герпетической инфекции. Герпесвирусы человека типа 1 (HSV-1) и типа 2 (HSV-2) характеризуются эффективным разрушением зараженных клеток, относительно коротким репродуктивным циклом и способностью пребывать в латентной форме в ганглиях нервной системы. Ранее считалось, что HSV-1 вызывает преимущественно назолабиальный герпес, а HSV-2 - генитальный. В настоящее время установлено, что оба возбудителя вызывают герпетические поражения и той, и другой локализации. Генерализованный герпес чаще вызывает HSV-2.

Основным методом диагностики герпетической инфекции в настоящее время является серологический метод - выявление антител к вирусу герпеса простого типа 1 и 2 в сыворотке.

Антитела к вирусу простого герпеса обнаруживают у 80-90% взрослых людей. В развитых странах западной Европы генитальный герпес встречается в 7 раз чаще, чем сифилис и занимает второе место среди инфекций, передающихся половым путем после трихомониаза. Однократное определение уровня антител к вирусу герпеса простого типа 1 и 2 в сыворотке бесполезно при оценке остроты инфекции. Важно наблюдать за динамикой изменения уровня антител (нарастание их уровня или снижение). При острой инфекции или реактивации вируса выявляется нарастание уровня антител к вирусу герпеса простого типа 1 и 2. Пик титров антител к вирусу герпеса простого типа 1 и 2 в крови отмечается через 4-6 недель после развития клинической картины заболевания. Реинфекция у лиц с существующими до этого антителами не вызывает существенного изменения в титре антител даже при выраженной клинической картине.

Диагностика кори. Возбудитель кори - *Polinosa morbillarum* относится к классу РНК-вирусов. Заболевают корью чаще дети дошкольного возраста. Однако лица, не болевшие корью, остаются высоко восприимчивыми к ней в течение всей жизни и могут заболеть в любом возрасте. Заболеваемость корью выше в холодные периоды года (с ноября по март); через каждые 2-4 года наблюдаются подъемы заболеваемости. Для лабораторной диагностики кори используются РНГА, РСК и метод иммуноферментного анализа, определение антител IgM и IgG к вирусу кори в сыворотке. Серологические методы исследования применяются для подтверждения диагноза, особенно стертых, атипичных форм. Наиболее часто используется РТГА и РСК. Поскольку в этих реакциях учитывается нарастание титра антител в парных сыворотках, то специфическая диагностика является ретроспективной. Первую пробу крови берут не позже 3-го дня периода высыпаний, вторую спустя 10-14 дней. Диагноз считается верифицированным только при нарастании титра антител в 4 раза и более. При применении метода иммуноферментного анализа выявляются антитела классов IgM и IgG. Антитела IgM появляются в острый период инфекции (пик к 10-му дню) и могут сохраняться до 2 лет (обычно исчезают к 90-му дню). Наибольшая вероятность выявления антител IgM отмечается в период высыпаний. Определение антител IgM применяется для диагностики острого периода коревой инфекции. Ложноположительные реакции можно получить при хроническом активном гепатите, СКВ, инфекционном мононуклеозе. Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет. Появление антител IgG в конце острого периода заболевания является прогностически благоприятным признаком. Определение антител IgG применяется для диагностики кори и оценки напряженности противокоревой иммунитета.

Диагностика вирусного паротита. Возбудитель эпидемического паротита относится к миксовирусам. Эпидемическим паротитом чаще болеют дети 3-10 лет. В распространении инфекции большое значение имеют бессимптомные формы эпидемического паротита. Частота этих форм составляет 21,8-88% по отношению к общему числу инфицированных. Основным методом лабораторной диагностики эпидемического паротита является определение антител классов IgM к вирусу паротита в сыворотке. Дети до 2 лет болеют эпидемическим паротитом редко, но затем заболеваемость возрастает и достигает пика к 5-9 годам. Диагностика эпидемического паротита основывается на клинической картине заболевания. Серологическое подтверждение острой инфекции может быть получено с помощью иммуноферментного метода, позволяющего определять антитела класса IgM. Антитела IgM появляются в острый период инфекции (в первые дни заболевания) и сохраняются до 2 лет (Казанцев А.П., 1988).

Диагностика ветряной оспы. Ветряная оспа и опоясывающий герпес - инфекционные болезни, вызываемые одним и тем же вирусом. Восприимчивость к ветряной оспе является всеобщей, но главным образом поражаются дети от 6 месяцев до 7 лет. В типичных случаях заболевания, т.е. у большинства больных, диагностика заболевания основана на клинических данных. Для лабораторного подтверждения диагноза используется иммуноферментный метод определения антител IgM к вирусу ветряной оспы в сыворотке. Верифицировать диагноз можно, используя метод иммуноферментного анализа, с помощью которого выявляются антитела класса IgM. Антитела IgM появляются в острый период инфекции и сохраняются до 2 лет.

Диагностика Т-клеточного лейкоза. HTLV I и HTLV II (human T-lymphotropic virus) относятся к группе ретровирусов. Вирус HTLV I обнаруживается у больных Т-клеточным лейкозом, а вирус HTLV II у больных так называемым волосатоклеточным лейкозом. Обе формы

лейкоза характеризуются злокачественной трансформацией Т-лимфоцитов. Т-клеточный лейкоз встречается sporadически в Европе и Северной Америке, эндемическая форма обнаружена в южной части Японии и странах Карибского моря. Инфекция HTLV протекает как лихорадочное заболевание с обратимым процессом Т-клеточной пролиферации, лишь дополнительные транслокации приводят к злокачественной пролиферации. Вирус HTLV I повышает риск появления транслокаций. Выявление антител к вирусу Т-клеточного лейкоза помогает клиницисту в установлении этиологических причин лихорадки неясного генеза. У больных антитела появляются в конце острого периода заболевания, но выявляются не у всех больных. Различают две основные формы клеток при Т-клеточном лейкозе: клетки хелперы/индукторы (маркер CD4) или супрессоры/цитотоксические клетки (маркер CD8). Хелперный тип протекает как агрессивный лейкоз с высоким лейкоцитозом и относительно короткой продолжительностью жизни. Если клетки, в основном, несут маркер CD8, прогноз заболевания несколько более благоприятный (Лысенко А.Я., 1995). Современные эпидемиологические исследования показали смешанное присутствие обоих вирусов (HTLV I и HTLVII) среди различных групп населения, относящихся к группам высокого риска (использующие частые внутривенные введения лекарств и пациенты после трансфузий). Для выявления антител к вирусам HTLV I и HTLV II используются иммуноферментные наборы, которые имеют высокую чувствительность и специфичность. Исследование является скрининговым, и для подтверждения первично выявленных положительных результатов необходимо подтверждение - проведение иммуноблотинга. HTLV вирус может быть возбудителем следующих заболеваний: - острые и хронические лейкозы, острый и хронический лимфолейкозы, Т-клеточная лимфома, синдром Сезари, волосатоклеточный лейкоз, лимфоаденопатии, лимфопролиферативные заболевания.

Диагностика краснухи. Возбудитель краснухи относится к РНК-вирусам. Заболевание широко распространено во всех странах. Для серологической диагностики используется РТГА и ИФА. Точный диагноз краснухи можно установить только посредством выделения и идентификации вируса, либо на основании изменений титров специфических антител. Специфические антитела в реакции торможения гемагглютинации можно обнаружить на 2-й день после появления высыпаний, причем количество их увеличивается в течение последующих 10-21 дней. Для диагностики краснухи используются также иммуноферментный метод на выявление специфических антител классов IgM и IgG. Динамика выявления антител при использовании иммуноферментного метода соответствует результатам реакции торможения гемагглютинации. Антитела IgM появляются в острый период инфекции. Наличие специфических антител класса IgM свидетельствует о недавно произошедшем заражении краснухой (в пределах 2 месяцев), однако в некоторых случаях они могут сохраняться до 1 года. На первом году жизни у детей с врожденной краснухой часто обнаруживают специфические антитела класса IgM, они могут исчезнуть на 3-м или 4-м году жизни. Однократные титры, даже > 256, не могут считаться показателем свежей инфекции, поэтому титр антител класса IgM следует смотреть в динамике. Определение антител класса IgM используется для диагностики острого периода заболевания. Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет и более. Определение антител класса IgG используется для оценки напряженности поствакцинального иммунитета и определения инфекции в анамнезе.

Диагностика гриппа. Возбудители гриппа относятся к семейству ортомиксовирусов, включающих 3 рода вирусов гриппа: А, В, С. Вирусы гриппа содержат РНК, наружную оболочку, в которой размещены 2 антигена - гемагглютинин и нейраминидаза, способные менять свои свойства, особенно у вируса типа А. Точная идентификация возбудителя заболевания проводится посредством РСК или методом иммуноферментного анализа. При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5-7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. По сравнению с РСК метод иммуноферментного анализа отличается большей чувствительностью. Как и при РСК, для использования в диагностических целях иммуноферментного анализа требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания.

Диагностика парагриппа. Известно 4 типа вирусов парагриппа: 1, 2, 3, 4, все они относятся к РНК-вирусам. Выделение вируса во внешнюю среду происходит в течение первой недели заболевания. В межэпидемическое по гриппу время парагриппозные заболевания составляют до 15-30% всех острых респираторных инфекций у взрослых. Точная идентификация

возбудителя заболевания проводится посредством РСК или методом иммуноферментного анализа. При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5-7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. По сравнению с РСК метод иммуноферментного анализа отличается большей чувствительностью. Как и при РСК, для использования в диагностических целях иммуноферментного анализа требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания.

Диагностика аденовирусной инфекции. В настоящее время у человека выделено более 40 серотипов аденовирусов. Аденовирусные заболевания широко распространены как в виде спорадических случаев, так и в виде вспышек. Аденовирусными инфекциями чаще всего болеют младенцы и дети. Среди острых респираторных заболеваний в меж-эпидемическое время удельный вес аденовирусных инфекций колеблется от 3 до 20%, во время вспышек - может достигать до 80-90% (Матков-ский В.С., Казанцев А.П., 1970).

Точная идентификация возбудителя заболевания проводится посредством РСК или методом иммуноферментного анализа. При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5-7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. По сравнению с РСК метод иммуноферментного анализа отличается большей чувствительностью. Как и при РСК, для использования в диагностических целях иммуноферментного анализа требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания.

Диагностика респираторно-синтициальной инфекции. Респираторно-синтициальный вирус относится к парамиксовирусам. Заболевание характеризуется преимущественным поражением органов дыхания (бронхиты, пневмонии). Респираторно-синтициальный вирус является важнейшим возбудителем респираторных заболеваний у детей младшего возраста и частой причиной патологии нижних отделов дыхательных путей у младенцев. Точная идентификация возбудителя заболевания проводится посредством РСК или методом иммуноферментного анализа. При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5-7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток, но этот метод исследования менее чувствителен у детей в возрасте до 4 месяцев. По сравнению с РСК метод иммуноферментного анализа отличается большей чувствительностью при выявлении уровня подъема антител у новорожденных. Как и при РСК, для использования в диагностических целях иммуноферментного анализа требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания. Повышенные значения уровня антител при однократном исследовании могут указывать на ранее перенесенную инфекцию. Повторная инфекция сопровождается повышением уровня антител при исследовании в динамике.

Диагностика инфекционного мононуклеоза. Вирус Эпштейн-Барра - вирус из группы герпеса, обладает тропизмом к В-лимфоцитам, длительно персистирует в клетках хозяина в виде латентной инфекции. Вирус Эпштейн-Барра вызывает заболевание - инфекционный мононуклеоз. Он широко распространен во всем мире. С вирусом Эпштейн-Барра связывают этиологию и лимфомы Беркитта. Лабораторные исследования, в зависимости от применяемых методов, позволяют выявить антитела различного класса.

Из серологических методов диагностики заболевания наиболее распространена реакция Пауля-Буннеля, направленная на выявление гетерофильных антител в сыворотке. Диагностический титр - 1:32 и выше. Антитела к эритроцитам барана называются гетерофильными антителами, которые можно обнаружить у 50% детей и 90-95% подростков и взрослых с мононуклеозом. Если исследование проводится в первую неделю заболевания, то у 10-15% пациентов с мононуклеозом результаты исследования могут быть отрицательными. Поэтому, если клиническая картина заболевания сходна с таковой при инфекционном мононуклеозе, то исследование на наличие гетерофильных антител следует повторить на 2-й или 3-й неделе заболевания. Уровень гетерофильных антител снижается по окончании острого периода инфекционного процесса, однако их титр можно определить в течение 9 месяцев после появления клинических симптомов. На смену методу определения антител к эритроцитам барана с титрованием в пробирке пришел метод "одного пятна", который является более чувствительным и специфичным. Если гетерофильные антитела не выявляются, а клиническая картина заболевания

соответствует инфекционному мононуклеозу, необходимо исследовать сыворотку крови на специфические антитела классов IgM и IgG в ИФА. Диагностическим критерием первичной инфекции является обнаружение антител класса IgM, представляющих собой антитела к антигену вирусного капсида. Антитела класса IgM появляются в острой стадии заболевания и исчезают через 1-3 месяца. Практически у всех пациентов с клиническими проявлениями заболевания имеются антитела, относящиеся к IgG (также антитела к капсидному антигену вируса), которые сохраняются пожизненно. Вследствие этого антитела класса IgG целесообразно использовать главным образом в качестве критерия подверженности инфицированию вирусом Эпштейн-Барра, но нельзя применять для диагностики первичной инфекции.

Серологическая диагностика бактериальных инфекций.

Диагностика инфекций, вызываемых стрептококками А,В,С,D,F,G. Стрептококки относятся к самым распространенным возбудителям бактериальных инфекций у человека. На основании антигенных различий большая часть стрептококков, выделенных от человека, относятся к группам А,В,С,D,F,G. Стрептококки группы А имеют исключительно важное значение, поскольку часто вызывают инфекционные заболевания у человека и играют существенную роль в развитии ревматизма и гломерулонефрита. Стрептококки группы В часто гнездятся в женских половых путях и на слизистых оболочках глотки и прямой кишки. Стрептококки групп С и G представляют собой комменсалы, но они способны вызывать фарингиты. Стрептококки группы D часто служат причиной инфекции мочевых путей у больных с их структурными аномалиями и более чем в 10% случаев относятся к этиологическим факторам при бактериальном эндокардите.

Ведущее место в диагностике заболеваний, вызываемых стрептококком, отводится бактериологическим методам. Серологическая диагностика направлена на выявление титра антител в сыворотке больного. Диагностическим считается нарастание титра антител через 10-14 суток не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. Однократное исследование диагностического значения не имеет, так как практически у 100% взрослых в сыворотке определяются антитела к стрептококкам. Маркер острой стрептококковой инфекции - антитела против стрептококкового гемолизина-О (АСЛО). Уровень повышается в острый период инфекции (7-14 день) и снижается в период реконвалесценции и выздоровления. В клинической практике используется для наблюдения за динамикой ревматического процесса. Титр АСЛО повышается у 80-85% больных с ревматической лихорадкой. Диагностическое значение имеет стойкое значительное повышение активности АСЛО. К 3-й неделе заболевания ревматизмом титр значительно повышается, достигая максимума к 6-7 неделе. При благоприятном течении процесса к 4-8 месяцу активность АСЛО снижается до нормы. Под влиянием проводимой терапии эти сроки могут сократиться. Отсутствие снижения активности антистрептолизина-О к 6 месяцу заболевания позволяет предположить возможность рецидива. Стойкое и длительное повышение активности после ангины может быть предвестником ревматического процесса. В 10-15% случаев ревматизма повышения активности АСЛО не определяется.

Повышение АСЛО находят у некоторых больных с ревматоидным артритом, однако уровень повышения АСЛО при этом заболевании ниже, чем при ревматизме. При выделении β -гемолитических стрептококков группы А повышенные титры АСЛО выявляются у 40-50% бактерионосителей. Повышение уровня АСЛО характерно для: ревматизма, острой стрептококковой инфекции: ангины, скарлатины, пиодермии, гнойных воспалительных процессов, хронического тонзиллита, острого нефрита, гломерулонефрита.

Диагностика инфекций, вызываемых стафилококками. Стафилококк является одним из наиболее часто встречающихся микробов. У человека стафилококк чаще всего вызывает гнойные заболевания и осложнения при соматических и хирургических заболеваниях. Ведущее место в диагностике заболеваний, вызываемых стафилококком отводится бактериологическим методам. Серологическая диагностика направлена на выявление титра антител в сыворотке больного. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7-10 суток при исследовании парных сывороток. Однократное исследование диагностического значения не имеет, так как практически у 100% взрослых в сыворотке определяются антитела к стафилококкам.

Диагностика инфекций, вызываемых пневмококками. Пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*) чаще всего встречается как возбудитель пневмонии, у маленьких детей он может

вызывать менингит, а у взрослых изредка вызывает сепсис. Лабораторная диагностика пневмококковых инфекций складывается, в основном, из бактериоскопического и бактериологического исследований, серологическая диагностика играет вспомогательную роль. Серологическая диагностика направлена на выявление титра антикапсулярных антител в сыворотке больного. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7-10 суток при исследовании парных сывороток.

Диагностика инфекций, вызываемых гемофильной палочкой. Палочка инфлюэнцы инфицирует только людей и локализуется, прежде всего, в верхних дыхательных путях. За последние 30-45 лет заболеваемость системными формами инфекции, вызываемой палочкой инфлюэнцы типа b, увеличилась в 4 раза, причем чаще стали распознаваться случаи поражения у взрослых. Выделение палочки инфлюэнцы при бактериологических посевах из носоглотки диагностического значения не имеет ввиду широкого распространения носительства палочки среди здоровых людей (у 90%). Для диагностики исследуются кровь, моча, жидкость из плевры, суставов, спинномозговая жидкость и др. Определение антител к гемофильной палочке в сыворотке является ретроспективным методом диагностики заболевания, так как необходимо исследовать сыворотку в первую неделю заболевания и через 10-14 суток. Диагностическим считается нарастание титра антител через 10-14 суток не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток.

Диагностика менингококковой инфекции. Возбудителем менингококковой инфекции является грамотрицательный диплококк *Neisseria meningitidis*. Выделяют 5 серологических типов менингококка - А,В,С,D,Е. В период эпидемий преобладает тип А, во внеэпидемический период - тип В. В диагностике менингококковой инфекции главное место отводится бактериологическому методу исследования. Однако, культивирование менингококков и выделение их в чистой культуре удается лишь у 30-40% больных. В связи с этим для диагностики используются серологические методы, наиболее чувствительны и информативны из них - РНГА и иммуноферментный методы. Исследуется сыворотка крови больного на 1-3 день от начала заболевания и на 7-10 день. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7-10 суток не менее чем в 4 раза.

Диагностика бруцеллеза. Возбудитель бруцеллеза - бруцеллы - мелкие неподвижные грамотрицательные бактерии. При постановке диагноза бруцеллеза полученные клинико-эпидемиологические данные должны быть подтверждены лабораторно. С этой целью используются бактериологический, биологический и серологический методы исследования.

Реакция Хеддельсона на стекле используется для полуколичественного определения антител к возбудителю бруцеллеза и является ориентировочным тестом. Самым надежным серологическим тестом определения антител к возбудителю бруцеллеза в сыворотке является реакция агглютинации Райта, посредством которой определяют уровень антител, реагирующих, главным образом, с липополисахаридными антигенами бруцелл. Увеличение титров антител в 4 и более раз в пробах сыворотки крови, полученных с интервалом 1-4 недели, позволяет идентифицировать этиологический фактор заболевания. У большинства больных повышение титров специфических антител отмечается на 3-5-й день от начала заболевания, а на 3-й неделе фактически у всех происходит сероконверсия. Достоверным считается титр антител не менее 1:200 с последующим его нарастанием. Причиной ложноположительных результатов может служить проведение кожной пробы на бруцеллез, вакцинация против холеры, а также инфекции, вызванные холерным вибрионом, иерсиниями.

Агглютинирующие антитела IgG можно определить в реакции агглютинации путем экстрагирования с 2-меркаптоэтанолом. Антитела IgG появляются на 2-3-й неделе от начала заболевания, титры их достигают максимума примерно через 8 недель и сохраняются весь период активной инфекции, благодаря чему они свидетельствуют о продолжающемся активном инфекционном процессе. На фоне проводимого лечения титры антител IgG быстро снижаются и в течение года приближаются к нулю. В случае рецидивов уровень антител IgG снова повышается. Наличие однократного повышения титра антител IgG > 1 : 160 является надежным объективным указанием на текущую или недавно имевшую место инфекцию и необходимость проведения лечения. После проведенного лечения и выписки больного из стационара рекомендуется проведение серологических исследований в течение первого года через 1,2,3,6,9,12 месяцев, а в течение второго года - ежеквартально.

Диагностика сальмонеллезной инфекции. Описано более 2200 серологических вариантов сальмонелл, из них у человека более 700. Наиболее часто встречаются следующие сальмонеллы: *S.typhimurium*, *S.heidelberg*, *S.enteritidis*, *S.anatum*, *S.derby*, *S.london*, *S.panama*, *S.newport*. Ежегодно 20-35% изолятов приходится на *S.typhimurium* (Пак С.Г. с соавт., 1988).

Антигенная структура сальмонелл сложна. Она содержит О- и Н-антигены. О-антиген связан с соматической субстанцией клетки, термостабилен, одним из его компонентов является Vi-антиген; Н-антиген обладает жгутиковым аппаратом, термолабилен. Различия в строении О-антигенов позволили выделить серологические группы сальмонелл: А,В,С,Д,Е и др. На основании различий в строении Н-антигенов внутри каждой группы установлены серологические варианты. В лабораторной диагностике сальмонеллезной инфекции используются бактериологические и серологические методы диагностики. Среди серологических методов диагностики до последнего времени широко применялась реакция Видаля, которая в последние годы постепенно утрачивает свое значение.

В настоящее время для выявления антител к сальмонеллам наиболее широко используются РПГА и иммуноферментный метод, которые более чувствительны и дают положительные результаты с 5-го дня заболевания (реакция Видаля на 7-8 день). Антитела у больных брюшным тифом, паратифом или другими серологическими типами сальмонелл появляются в крови уже к 4-му дню болезни и резко нарастают к 8-10-му дню. Количество их еще более увеличивается на 2-3-й неделе заболевания (Пак С.Г. с соавт., 1988). В первые месяцы после выздоровления исследование на антитела к сальмонеллам может служить и для целей ретроспективного диагноза. Необходимо, однако, учитывать индивидуальные отклонения от нормального цикла иммуногенеза и изложенной динамики изменения титра антител. В ослабленном организме со сниженной реактивностью слабо и медленно вырабатываются антитела. Интеркуррентные заболевания также могут задержать их формирование. Таким образом, титр антител менее 1:200 не позволяет исключить заболевание, поэтому чрезвычайно важно исследовать титр антител в динамике в начале заболевания и через 10-14 суток. Нарастание титра антител через 10-14 суток не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток свидетельствует об инфекционном процессе.

На основании антигенной структуры, присущей различным видам сальмонелл, разработаны О- и Н-монодиагностикумы, которые позволяют установить серологический вариант сальмонелл. Первоначально исследуется сыворотка в РПГА с комплексным препаратом диагностикума эритроцитарного сальмонеллезного-О. Далее, при наличии агглютинации с комплексным диагностикумом, РПГА ставят с препаратами групп А (1,2,12), В (1,4,12), С1 (6,7), С2 (6,8), Д (1,9,12) и Е (3,10). В таблице представлена антигенная характеристика сальмонелл, на основании которой и осуществляется диагностика серологических вариантов сальмонелл.

Антигенная характеристика сальмонел.

Группа.	Сальмонеллы.	Антигены.	
		Соматические - О.	Жгутиковые - Н специфические.
А	<i>S.paratiphi A</i>	1, 2, 12	a
В	<i>S. paratiphi B</i>	1, 4, 5, 12	b
	<i>S.typhimurium</i>	1, 4, 5, 12	i
	<i>S.heidelberg</i>	4, 5, 12	r
	<i>S.derby</i>	1, 4, 12	f,g
С1	<i>S.paratiphi C</i>	6, 7, Vi	c
	<i>S.choleraesuis</i>	6, 7,	c
	<i>S.newport</i>	6, 8	e, h
D1	<i>S.typhi</i>	9, 12, Vi	d
	<i>S.enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m
E1	<i>S.anatum</i>	3, 10	e, h
	<i>S.london</i>	3, 10	l, v

Vi-антителам в инфекционном процессе не придают диагностического и прогностического значения. Иначе обстоит дело с выявлением Vi-антител у бактерионосителей. Большая

резистентность содержащих Vi-антиген носителей к защитным механизмам человека обуславливает более длительное носительство этих форм (Vi-форм) тифозных палочек, вследствие чего в крови носителей обнаруживаются Vi-антитела. Vi-антитела являются прямым доказательством носительства брюшнотифозных бактерий.

Диагностика туберкулеза. Возбудитель туберкулеза - *Mycobacterium tuberculosis*. Туберкулез широко распространенная инфекция. Основным методом ее диагностики является бактериологическое исследование. Однако, микобактерии очень медленно растут на питательных средах, и для получения даже предварительного ответа при бактериологическом исследовании требуются 3 недели, что очень не устраивает клиницистов. В таких случаях до получения ответа результатов бактериологического исследования используют серологические методы диагностики и метод цепной полимеразной реакции.

Определение антител к возбудителю туберкулеза в сыворотке является новым и очень перспективным методом серологической диагностики туберкулеза. Применяемый в настоящее время бактериологический метод выделения микобактерий туберкулеза, требует значительных временных затрат (от 4 до 8 недель) и весьма эффективен, в основном, при легочных формах туберкулеза. Использование серологических методов диагностики, в частности иммуноферментного метода, позволяет значительно сократить время лабораторного подтверждения клинического диагноза, активно применять его для диагностики внелегочных форм туберкулеза, и особенно ценен он для диагностики туберкулеза у детей (трудности со сбором мокроты, множественные рентгенологические исследования). Диагностическим считается нарастание титра антител через 10-14 суток не менее чем в 4 раза.

Диагностика дифтерии. Возбудитель дифтерии *Corynebacterium diphtheriae*, был выделен в чистом виде Леффлером в 1884 году. *Corynebacterium diphtheriae* отличается полиморфизмом. В последние годы отмечается резкий рост заболеваемости дифтерией. Диагностика дифтерии основывается на клинических и эпидемиологических данных. Для подтверждения диагноза используют бактериологический метод исследования, направленный на выявление этиологического фактора - палочки Леффлера. Возбудители дифтерии могут быть выделены через 8-12 часов, в том случае, если больной не принимал противобактериальных препаратов. Однако, следует учитывать, что при лечении антибиотиками, особенно пенициллином или эритромицином, до взятия материала на бактериологическое исследование, роста бактерий можно не получить в течении 5 дней, либо роста не бывает совсем. В этих случаях используются серологические методы диагностики, которые играют все более важную роль.

Из серологических методов используют реакцию непрямой гемагглютинации и иммуноферментного анализа. Определяют уровень антител в начале заболевания (1-3 день) и через 7-10 суток, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза. РНГА отличается высокой чувствительностью и специфичностью. В последние годы на смену РНГА приходит метод ИФА, обладающий еще большей чувствительностью и специфичностью. При выявлении контингента для проведения вакцинации определяют уровень антител до вакцинации, и если уровень антител отсутствует или низок, этим пациентам показано проведение вакцинации, об ее эффективности судят по нарастанию уровня антител после вакцинации. Главной целью активной иммунизации является выработка специфического иммунитета. Анатоксин служит непреодолимым барьером для дифтерийного токсина и защищает организм от интоксикации. При подборе контингента для вакцинации необходимо учитывать, что в большинстве случаев дифтерия развивается только у лиц, не имеющих антитоксина или с низкими его концентрациями - менее 0,03 АЕ/мл.

Диагностика коклюша. Возбудитель коклюша *Bordetella pertussis* - короткая палочка с закругленными концами, грамотрицательна, неподвижна. Чаще болеют дети до 5 лет, у взрослых болезнь нередко протекает атипично. Основной метод лабораторной диагностики - бактериологический, серологические методы диагностики непригодны для ранней диагностики коклюша. Для обнаружения антител к *Bordetella pertussis* в сыворотке используется реакция прямой гемагглютинации (РПГА). При исследовании в парных сыворотках для подтверждения диагноза необходимо получить нарастание титра антител в 4 раза и более (кровь на исследование берут с интервалом в 10-14 дней). Поэтому этот метод пригоден только для нужд ретроспективной диагностики.

Диагностика легионеллезной пневмонии. *Legionella pneumophila* - бактерии палочковидной формы, грамотрицательные. Легионеллез - острая инфекционная болезнь, обусловленная различными видами легионелл, характеризуется лихорадкой, интоксикацией, пневмонией, и в ряде случаев поражением ЦНС, почек. Нередко развивается у больных СПИДом. Для подтверждения диагноза используются серологические методы диагностики.

Антитела в сыворотке крови к легионелле пневмонии появляются с 6-7 дня болезни, титр их нарастает ко 2-3 неделе заболевания. Диагностическим считается нарастание титра антител в 4 раза и более, а при однократном исследовании - высокий уровень содержания специфических антител (титры не менее 1:128).

Диагностика иерсиниоза. Возбудитель иерсиниоза - грамотрицательный микроорганизм *Yersinia enterocolitica*. По антигенной структуре различают более 50 сероваров иерсиний. Наибольшее значение в патологии человека имеют серовары 03, 05, 07, 08, 09 (Сомов Г.П. с соавт., 1990). *Yersinia enterocolitica* - возбудитель кишечного иерсиниоза, которому свойственны преимущественное поражение желудочно-кишечного тракта. Поскольку бактериологическая диагностика иерсиниозов трудоемкая, длительная и не всегда завершается выделением возбудителя, главная роль в лабораторной диагностике принадлежит серологическим методам. Серологическая диагностика имеет большое значение для подтверждения не только клинического диагноза, но и определения этиологической роли выделенных иерсиний. Исследуются сыворотки, взятые в начале (1-3 день от начала заболевания) и повторно на 7-10 день. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7-10 суток не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. Характерно значительное нарастание титра антител на 3-4-й неделе и снижение их уровня после 5-й недели заболевания. Наиболее часто выявляются антитела к иерсинии энтероколитика 03 и 09.

Диагностика псевдотуберкулеза. Возбудитель псевдотуберкулеза - *Yersinia pseudotuberculosis*, грамотрицательная палочка, относится к семейству энтеробактерий. Заболевание характеризуется общей интоксикацией, скарлатиноподобной сыпью, поражением желудочно-кишечного тракта и суставов. Серологический метод является основным методом лабораторной диагностики псевдотуберкулеза. Определение антител к возбудителю псевдотуберкулеза в сыворотке является ретроспективным методом диагностики псевдотуберкулеза. Исследуются парные сыворотки больного. Для выявления специфических антител кровь на исследование берут в начале заболевания и через 7-10 суток после первичного исследования. Диагностическим признаком псевдотуберкулеза является нарастание титра антител через 7-10 суток не менее чем в 4 раза. РНГА является высокоспецифичным методом и дает положительные результаты более чем у 80% больных (Сомов Г.П. с соавт., 1990). Антитела с помощью РНГА выявляются уже в первую неделю заболевания.

Диагностика хеликобактериоза. Возбудитель хеликобактериоза *Helicobacter pylori* - грамотрицательная палочка, чаще всего имеющий S-образную форму. *Helicobacter pylori* встречается в среднем у 87% больных язвенной болезнью и 75% больных острыми гастритами (Браунвальд Е., 1993). После проникновения бактерий в желудок происходит его адгезия к клеткам желудочного эпителия в области межклеточных промежутков. Последнее обусловлено хемотаксисом бактерий к местам выхода мочевины и гемина, которые используются для жизнедеятельности микробов. Расщепляемая уреазой бактерий мочевина превращается в аммиак и углекислый газ, которые создают вокруг колоний микробов защитный слой, предохраняющий их от неблагоприятного pH желудочного сока. В настоящее время предложен ряд механизмов, объясняющих действие *Helicobacter pylori* на слизистую оболочку. Во-первых, аммиак, получаемый в результате разложения мочевины уреазой, вырабатываемой бактериями, обладает способностью прямо или косвенно разрушать эпителиальный барьер. Во-вторых, бактерии *Helicobacter pylori* обладают способностью продуцировать цитопатические токсины. В третьих, бактерии способны продуцировать протеиназу и ферменты, разрушающие слизистую оболочку желудка. В четвертых, бактерии снижают гидрофобную емкость эпителиального слоя, что связано с действием липаз продуцируемых бактериями.

Жизнедеятельность хеликобактеров связана исключительно лишь с эпителием желудочного типа. Поэтому патология двенадцатиперстной кишки (или других отделов кишечника и пищевода), обусловленная *Helicobacter pylori* возможна лишь при наличии желудочной дисплазии в двенадцатиперстной кишке (или других отделах желудочно-кишечного тракта).

Для диагностики *Helicobacter pylori* используются следующие методы диагностики.

1. Бактериологические:

а) обнаружение бактерий в мазках отпечатках;

б) выделение культуры *Helicobacter pylori*.

2. Серологические: РСК, РНГА, иммуноферментный анализ.

3. Морфологические: выявление хеликобактеров в биоптате при окраске по Романовскому-Гимзе, по Граму и др.

4. Биохимические:

а) уреазный тест с биоптатами;

б) анализ выдыхаемого воздуха (аэротест, при котором в выдыхаемом воздухе определяется содержание аммиака, или проводится более сложный анализ содержания в выдыхаемом воздухе количества C^{13} и C^{14} после принятия пациентом внутрь мочевины, предварительно меченой указанными изотопами).

5. Полимеразная цепная реакция

Уреазный тест основан на способности бактерий *Helicobacter pylori* выделять большое количество уреазы. Полученный при фиброгастроскопии биоптат погружают в полужидкую среду желтого цвета, где содержится мочевина и вещество-индикатор pH, которой в щелочной среде, возникающей при расщеплении мочевины уреазой бактерий (при их наличии в биоптате), дает красное окрашивание.

Из серологических методов определения антител в крови к *Helicobacter pylori* наибольшей чувствительностью обладает иммуноферментный метод. Он обладает высокой чувствительностью и специфичностью, в отличие от уреазного, при котором велика вероятность получения ложноположительных результатов вследствие возможности обсеменения биопта другими видами бактерий, обладающих уреазной активностью. Определение антител к *Helicobacter pylori* является хорошим методом контроля за эффективностью проведенного лечения. Уровень антител определяется перед началом курса лечения и через 1-1,5 месяца после его окончания. Исчезновение антител в крови больного говорит об успешном лечении заболевания.

Диагностика хламидийной инфекции. Хламидии представляют большую группу облигатных внутриклеточных паразитов, очень близких к грамотрицательным бактериям. Их можно рассматривать как грамотрицательные бактерии, которые утратили способность синтезировать АТФ, ГТФ и ряд других ферментных систем, иными словами, утратили способность выработки метаболической энергии. Этот дефект обуславливает их внутриклеточный рост, благодаря которому они имеют доступ к богатым энергией промежуточным продуктам метаболизма клеток хозяина. Род *Chlamidia* делят на 4 вида: *Chlamidia trachomatis*, *Chlamidia psittaci*, *Chlamidia pneumonia*, *Chlamidia percolum*. Все хламидии сходны по морфологическим признакам, имеют общий групповой антиген и размножаются в цитоплазме организма-хозяина, проходя определенные стадии развития. Инфекционным началом является так называемое “элементарное тельце” - маленькая клетка диаметром около 0,3 мкм. Эта частица проникает в клетку хозяина при фагоцитозе. Из поверхностных мембран клетки хозяина вокруг этой маленькой частицы образуется вакуоль. Элементарное тельце делится, превращаясь в “ретикулярное тельце” диаметром около 0,5-1,0 мкм. Внутри образованной вакуоли крупная частица увеличивается в размерах и многократно делится путем образования поперечной перегородки. В конечном счете, вся вакуоль заполняется элементарными частицами (из одного элементарного тельца получается от 200 до 1000 инфекционных единиц) и превращается во “включение” в цитоплазме клетки хозяина. Новообразованные элементарные тельца выходят из клетки, так как она в конечном счете разрывается, и могут инфицировать новые клетки. Весь цикл развития занимает 48-72 часа.

Заболевания вызываемые *Chlamidia trachomatis*.

Трахома. Хронический кератоконъюнктивит, который начинается с острых воспалительных изменений конъюнктивы и роговицы и приводит к образованию рубцов и слепоте.

В соскобах с конъюнктивы методом флюоресценции определяют хламидийные антигены в эпителиальных клетках. Чаще их обнаруживают на ранних стадиях заболевания в верхней части конъюнктивы.

Генитальные хламидии и конъюнктивит. Частота обнаружения хламидий у мужчин с негонококковым уретритом составляет 30-50%. Инфицированность женщин, имеющих первую

беременность достигает 5-20%, делающих аборт - 3-18%. Среди больных, имеющих признаки цервицита, хламидийная инфекция выявляется в 20-40%; сальпингит - в 20-70%; инфекцию мочевых путей - в 5-10%. У больных со смешанной урогенитальной инфекцией хламидиоз в сочетании с гонореей наблюдается в 23,5%, с трихомониазом - в 39,5%, с гоноореей и трихомониазом в 36,8% (Делекторский В.В. с соавт., 1996). В последние годы инфекция нередко ассоциирована с микоплазменной и уреоплазменной инфекцией, гарднереллезом. По данным различных авторов 6-7% детей уже при рождении оказываются инфицированными хламидиями. Иммунологические типы *Chlamidia trachomatis* D-K являются возбудителями заболеваний, передаваемых половым путем, при которых могут развиваться и инфекционные поражения глаз (конъюнктивиты). У мужчин *Chlamidia trachomatis* являются возбудителями негонекокковых уретритов, эпидидимитов, простатитов, проктитов, болезни Рейтера. У женщин *Chlamidia trachomatis* вызывает цервициты, сальпингиты, воспалительные заболевания органов малого таза, перигепатит, уретрит. В результате у мужчин и у женщин может развиваться бесплодие. Считается, что около 80% трубного бесплодия вызвано хламидиями. При любой локализации инфекции может развиваться соответствующая симптоматика заболевания. В то же время болезнь может протекать бессимптомно (примерно 50% случаев у женщин), но передаваться половым путем партнерам (Козлова В.И., Пухнер А.Ф., 1995).

Поражения дыхательных путей, вызываемых *Chlamidia trachomatis*. У взрослых, больных хламидийным конъюнктивитом, нередко появляются симптомы поражения верхних дыхательных путей (фарингит, ринит, отит и др.), которые развиваются, по-видимому, в результате распространения хламидийной инфекции через слезноносовой канал. Развития пневмонии у взрослых обычно не наблюдается. У новорожденных, заразившихся от матерей, через 2-12 недель после родов могут развиваться поражения респираторной системы вплоть до пневмонии.

Венерическая лимфогранулема. Эта форма хламидиоза распространена в тропических и умеренных зонах. Для нее характерно развитие гнойного пахового лимфаденита. Возбудителями являются *Chlamidia trachomatis* иммунологических типов L1-L3.

Синдром Рейтера. Для синдрома Рейтера характерна классическая триада: уретрит, конъюнктивит и артрит. При данном синдроме хламидии могут быть обнаружены в синовиальной жидкости. Наблюдается возрастание титра антител классов IgA, IgM, IgG в ходе развития активной инфекции суставов.

Эндокардиты. Клинически протекают молниеносно со значительным поражением клапанов аорты.

Первым и самым ответственным этапом при диагностике инфекционного процесса, является забор материала у пациента.

1. Методика забора материала из уретры у мужчин:

- пациент не должен мочиться за 1 час до забора материала;
- ввести маленький капроновый тампон в уретру на 2-4 см, повернуть тампон на 360° и вынуть его;
- сразу же после забора материала поместить тампон на предметное стекло и вращая тампон по кругу, равномерно распределить материал по поверхности предметного стекла;
- высушить мазок на воздухе и доставить в лабораторию.

2. Методика забора материала из цервикального канала с использованием цитощеточки:

- удалить ватой или тампоном слизь;
- ввести щеточку в цервикальный канал и повернуть ее на 360° вынуть, не касаясь поверхности влагалища;
- поместить щеточку на предметное стекло и вращая по кругу, равномерно распределить материал по поверхности предметного стекла;
- высушить мазок на воздухе и доставить в лабораторию.

3. Методика приготовления мазков с конъюнктивы:

- нанести местный анестетик на один или оба глаза;
- используя малый тампон, осторожно протереть им внутреннюю поверхность нижнего, а затем верхнего века, при заборе материала с обоих глаз вначале протирают менее пораженный глаз.

Во время острой хламидийной инфекции и вскоре после нее наблюдается повышение титра антител IgA, IgM и IgG к хламидия трахоматис в крови. Инфицированный *Chlamidia trachomatis* организм обычно продуцирует антитела, однако эти антитела имеют слабое защитное действие: обычно возбудители персистируют даже при наличии высоких титров антител. Раннее интенсивное лечение может угнетать синтез антител. Вследствие относительно большой "антигенной массы" хламидий при генитальных инфекциях сывороточные антитела IgG обнаруживаются довольно часто и в высоких титрах. Так, у детей с хламидийной пневмонией они могут быть очень высокими - 1:2000 - 1:4000. Антитела класса IgM выявляются в острый период инфекции, наличие антител IgM свидетельствует об активности хламидиоза. Немного позже появляются антитела класса IgG. Выявление антител класса IgA свидетельствует о выраженном аутоаллергическом процессе у больного и наиболее часто определяется у больных с синдромом Рейтера. Наличие антител класса IgA говорит о тяжелом течении заболевания у пациента. Определение уровня антител к хламидиям в крови необходимо проводить в динамике, оценка результатов исследований, основанная на однократном исследовании, ненадежна.

Новорожденные и их матери обследуются в 1-3 сутки после родов и в случае отрицательного результата при наличии клинической картины заболевания - повторно на 5-7 и 10-14 сутки. Отсутствие у новорожденных антихламидийных антител не означает отсутствие хламидийной инфекции.

Определение антител к хламидия трахоматис в крови является вспомогательным тестом диагностики хламидиоза, так как из-за низкой иммуногенности у 50% больных хламидиозом антитела не обнаруживаются.

Экспресс-диагностика урогенитального хламидиоза.

Метод основан на выявлении антигенов хламидия трахоматис в соскобах из уретры, цервикального канала и конъюнктивы методом иммуноферментного анализа с визуальной оценкой результата. Данный метод основан на наличии у хламидий родоспецифического липополисахаридного антигена. Этот метод позволяет проводить быстрый скрининг возбудителя, однако окончательный диагноз устанавливается при помощи метода флюоресцирующих антител или ПЦР. Результаты исследования выражаются в виде положительного или отрицательного ответа. Чтобы получить удовлетворительные результаты исследования, необходимо соблюдать определенные правила: материал должен быть правильно взят (соскоб) и своевременно доставлен в лабораторию (в течение 2-х часов).

Определение хламидия трахоматис в материале методом флюоресцирующих антител.

Принцип метода заключается в использовании моноклональных антител, меченных флюоресцирующим изотиоцианатом против главного белка внешней мембраны хламидий, имеющегося во всех сероварах *Chlamidia trachomatis*, а также у элементарных и ретикулярных телец. Чувствительность данного метода достигает 95%, а применение моноклональных антител обуславливает высокую специфичность.

Количественное определение антигена хламидия трахоматис в материале иммуноферментным методом.

Данный метод исследования дополняет спектр других методов диагностики хламидиоза и позволяет диагностировать до 15 серотипов хламидий. ИФА метод используется для количественного определения антигена хламидий в эндоцервикальном, уретральном и ректальном отделяемом, а также в моче, в глазном отделяемом больных с целью диагностики заболевания. Специфичность данного метода составляет 97%, чувствительность - 92%, что является сравнимым с методом полимеразной цепной реакции (99,8% и 94,6% соответственно). Вместе с тем, этот метод является менее трудоемким. Метод основан на прямом определении образовавшегося иммунокомплекса антитело-липосахаридный антиген хламидии. В качестве антител используются кроличьи антихламидия антитела.

Диагностика микоплазменной инфекции. В настоящее время описано несколько штаммов микоплазм. Микоплазмы - группа весьма разнообразных и характерных по морфологии бактерий размером 150-200 нм. Они не имеют плотной клеточной стенки и покрыты трехслойной цитоплазматической мембраной. Микоплазмы грамотрицательны и обладают крайне низкой чувствительностью к большинству красителей. Микоплазмы можно подразделить в зависимости от вызываемых ими патологических процессов у человека на 6 групп:

1. Микоплазмы - возбудители респираторных заболеваний, основной возбудитель *Mycoplasma pneumoniae*.

2. Микоплазмы, связанные с заболеваниями мочеполового тракта, основные возбудители *Mycoplasma hominis* тип I, реже *Mycoplasma hominis* тип II и *Ureaplasma urealyticum*.

3. Микоплазмы - возбудители ревматоидных процессов.

4. Микоплазмы - возбудители сложных воспалительных синдромов.

5. Микоплазмы, связанные с разнообразными по их локализации воспалительными процессами.

6. Микоплазмы - условные сапрофиты, встречающиеся в выделениях практически здоровых людей.

Здесь мы рассмотрим диагностику только первых двух групп заболеваний. Наибольший интерес среди заболеваний первой группы представляет диагностика микоплазменной пневмонии.

Диагностика микоплазменной пневмонии.

Mycoplasma pneumoniae является возбудителем заболеваний респираторного тракта человека, паразитируя на клеточных мембранах. Удельный вес респираторных микоплазмозов, в общей группе респираторных заболеваний, колеблется для разных групп населения от 35 до 40%. Микоплазменные пневмонии составляют 10-17% случаев от общего числа пневмоний. С интервалами в несколько лет могут развиваться эпидемии пневмонии, вызываемой *M. pneumoniae*, и при этом частота случаев развития заболевания может вдвое превышать ее обычный уровень. Лабораторная диагностика заболевания осуществляется бактериологическими и серологическими методами.

Правила забора материала для исследования.

Клинический материал (лаважная жидкость, мазки из носоглотки и пр.) получают с помощью ватных тампонов, полученный материал наносят тонким слоем на поверхность чистого обезжиренного предметного стекла, подсушивают на воздухе и фиксируют.

Выявление антигенов *Mycoplasma pneumoniae* в материале методом прямой иммунофлюоресценции.

Полученный мазок с материалом от больного обрабатывают поликлональными антителами к цитоплазматической мембране *Mycoplasma pneumoniae*, меченных ФИТЦ. При просмотре препарата в люминисцентном микроскопе в результате произошедшей реакции антиген-антител определяется зеленая флюоресценция микоплазм. Положительная оценка результатов исследования предполагает выявление в препарате не менее 10 ярко-зеленых гранул, четко выявляющихся на красноватом фоне препарата. При получении меньшего количества светящихся гранул в препарате и отсутствие в препарате эпителиальных клеток исследование рекомендуется повторить. Если количество эпителиальных клеток в препарате достаточно, а количество светящихся гранул менее 10, выдается отрицательный результат. Серологическая диагностика основана на выявлении титра антител к микоплазме пневмонии в сыворотке. Кровь на исследование берут в первые дни болезни - до 6-го дня и спустя 10-14 дней, диагностическим считается нарастание титра антител в 4 раза и более. Максимальное увеличение титра антител достигается через 4 недели заболевания. Однако, интерпретация результатов серологического исследования требует определенной осторожности, так как вследствие активации поликлональных В-клеток могут появиться "неспецифические антитела"; другие возбудители инфекционных заболеваний, включая цитомегаловирус, вирусы Эпштейн-Барра и кори, могут вызывать развитие сходных эффектов, что затрудняет оценку результатов исследования.

Диагностика микоплазменной инфекции урогениталий.

Микоплазменные инфекции урогениталий в настоящее время занимают ведущее место среди инфекций, передающихся половым путем. Она часто сочетается с гонококками, трихомонадами и условно патогенными микроорганизмами. Проведенные бактериологические исследования показали, что микоплазмоз выделяется в виде моноинфекции у 12,8% больных, в сочетании с одним микроорганизмом у 76,5% и в сочетании с 2-3 видами уретральной микрофлоры - у 10,7% больных (Козлова В.И., Пухнер А.Ф., 1995). Факторами, обуславливающими патогенность микоплазм, являются способность их прикрепляться к различным клеткам (эпителию, лейкоцитам, сперматозоидам) и оказывать токсическое и деструктивное действие. Обследование на микоплазмоз должно проводиться у всех мужчин, женщин и детей, обратившихся к врачу по поводу воспалительных заболеваний мочеполовых

органов, а также у всех половых контактеров или предполагаемых источников заражения микоплазмозом и у лиц с клиническими подозрениями на наличие заболевания. Необходимо учитывать, что характерной особенностью микоплазменной инфекции является существование латентной формы и микоплазмонительство в мочеполовых органах у мужчин и женщин.

Диагноз урогенитального микоплазмоза основывается на данных анамнеза, клинического обследования и результатах лабораторных исследований. Диагноз во всех случаях должен быть подтвержден выделением микоплазм в культуре (бактериологический метод). В последние годы наибольшее распространение в лабораторной диагностике микоплазмоза урогениталий нашли серологические методы - РСК и РНГА, позволяющие выявить нарастание титров антител в крови в процессе болезни при исследовании парных сывороток; метод иммунофлюоресценции, позволяющий идентифицировать микоплазмы в различном материале, взятом от больных, а также метод ПЦР, который обладает наиболее высокой чувствительностью и специфичностью.

Правила забора материала для исследования.

Клинический материал берется с доступных исследованию слизистых оболочек (уретра, цервикс, влагалище) с помощью ватных тампонов, ложки Фолькмана и других инструментов, полученный материал наносят тонким слоем на поверхность чистого обезжиренного предметного стекла, подсушивают на воздухе и фиксируют.

Выявление антигенов *Mycoplasma hominis* в материале методом прямой иммунофлюоресценции.

Mycoplasma hominis вызывает острые и хронические воспалительные заболевания урогенитального тракта, послеродовую лихорадку и сепсис, септические и спонтанные аборты. *Mycoplasma hominis* обнаруживается методом прямой иммунофлюоресценции при воспалительных заболеваниях урогениталий по данным разных авторов в 15-90% случаев.

Полученный мазок с материалом от больного обрабатывают поликлональными антителами к цитоплазматической мембране *Mycoplasma hominis*, меченных ФИТЦ. При просмотре препарата в люминисцентном микроскопе, в результате произошедшей реакции антиген-антитело, определяется зеленая флюоресценция микоплазм. Положительная оценка результатов исследования предполагает выявление в препарате не менее 10 ярко-зеленых гранул, четко выявляющихся на красноватом фоне препарата. При получении меньшего количества светящихся гранул в препарате и отсутствие в препарате эпителиальных клеток, исследование рекомендуется повторить. Если количество эпителиальных клеток в препарате достаточно, а количество светящихся гранул менее 10, выдается отрицательный результат.

Выявление антигенов *Ureaplasma urealítica* в материале методом прямой иммунофлюоресценции.

Ureaplasma urealítica относится к виду микоплазм. Название “уреаплазмы” происходит от способности этого вида микоплазм продуцировать фермент уреазу, расщепляющий мочевины с образованием углекислого газа и аммиака. *Ureaplasma urealítica* вызывает воспалительные заболевания урогенитального тракта и может являться причиной развития бесплодия как у мужчин, так и женщин. У мужчин *Ureaplasma urealítica* вызывает простатит и оказывает влияние на сперматогенез, что приводит к снижению фертильности. Бесплодие женщин обусловлено воспалительными процессами гениталий. Забор материала на исследование, его проведение и оценка результатов аналогична диагностике *Mycoplasma hominis*.

Диагностика гонореи. Гонококки вызывают гнойное воспаление половых путей - гонорею. Трудность их обнаружения заключается в их слабой жизнеспособности, которая не позволяет широко пользоваться бактериологическим методом. В последние годы наибольшее распространение нашли серологические методы диагностики. Они дают положительные результаты исследования не только при острых формах заболевания, но, что наиболее важно, в случаях затяжных и хронических процессов, а также при осложненной гонорее и при отдаленных метастазах.

Экспресс-диагностика гонореи в отделяемом материале из уретры.

Метод основан на выявлении антигенов нейсерий в соскобах из уретры, цервикального канала и конъюнктивы методом иммуноферментного анализа с визуальной оценкой результата. Данный метод основан на наличии у нейсерий родоспецифического липополисахаридного антигена. Этот метод позволяет проводить быстрый скрининг возбудителя. Результаты исследования выдаются в виде положительного или отрицательного ответа. Чтобы получить

удовлетворительные результаты исследования, необходимо соблюдать определенные правила: материал должен быть правильно взят (соскоб) и своевременно доставлен в лабораторию (в течение 2-х часов).

Тест используется для диагностики гонококковой инфекции при заболеваниях: уретрит, простатит, вагинит, цервицит, аднексит.

Серологическая диагностика инфекций, вызываемых простейшими.

Диагностика амебиаза. Возбудитель амебиаза - *Entamoeba histolytica*, существует в трех формах: тканевой (*forma magna*), просветной (*forma minuta*) и цистной (*forma cystica*). Заболевание встречается повсеместно. Во многих районах здоровые носители составляют 14-20% всего населения. Диагноз кишечного амебиаза устанавливается на основании обнаружения возбудителя в фекалиях или тканях. Диагностика внекишечного амебиаза затруднена. В таких случаях ведущее место в диагностике заболевания занимают серологические методы исследования. Самым чувствительным из имеющихся методов является РНГА и иммуноферментный метод. Антитела к амебе хистолитика в сыворотке выявляются почти у всех больных с амебным абсцессом печени и у значительного большинства лиц с острой амебной дизентерией. Диагностическим считается нарастание титра антител через 10-14 суток не менее чем в 4 раза. Антитела обычно не определяются у бессимптомных цистовыделителей, что свидетельствует о том, что для продукции антител требуется внедрение возбудителя в ткани. Повышенный титр антител может сохраняться в течение нескольких месяцев или лет после полного выздоровления.

Диагностика токсоплазмоза. Токсоплазмоз относится к болезни, вызываемой облигатным внутриклеточным простейшим *Toxoplasma gondii*. Для токсоплазмоза присущ ряд особенностей, которые следует учитывать при лабораторной диагностике этого заболевания. Во-первых, возбудитель токсоплазмоза - *Toxoplasma gondii* - обладает низкой патогенностью и в большинстве случаев при попадании в организм человека не вызывает у него развития манифестного выраженного процесса, т.е. инфицирование организма, как правило, реализуется в носительстве паразита. Клинические проявления заболевания у человека, чаще всего связаны с наличием у последнего первичного или вторичного иммунодефицита. Во-вторых, широкая пораженность населения токсоплазмой (в США от 10 до 67% лиц в возрасте старше 50 лет) обуславливает и наличие значительного числа людей, положительно реагирующих на токсоплазмоз в результате адекватного иммунного ответа макроорганизма на внедрившийся (персистирующий) инфект. Такое состояние имеет место как у абсолютно здоровых лиц (носительство), так и у больных другими, обычно ведущими заболеваниями (микст-инфекция), и, конечно, у больных именно этой инфекцией (токсоплазмоз), которая у беременных женщин имеет тенденцию преимущественно к бессимптомному течению. При токсоплазмозе следует различать токсоплазموинфекцию (инфицированность, носительство) и токсоплазменное заболевание (токсоплазмоз). Поэтому основным в лабораторной диагностике является не сам факт обнаружения положительного иммунного ответа (антител), а уточнение характера течения процесса - носительство или болезнь. Комплексное определение антител классов IgM и IgG дает возможность быстро подтвердить или опровергнуть диагноз. Антитела IgM появляются в острый период инфекции и могут сохраняться до 2 лет. Ранняя диагностика токсоплазмоза особенно важна у беременных женщин, так как риск внутриутробного заражения плода увеличивается от 17% в первом триместре до 60% в третьем триместре беременности в случае острого токсоплазмоза беременной. Специфическое лечение женщин на ранних стадиях инфекционного процесса снижает риск поражения плода на 60%. В результате внутриутробного токсоплазмоза может произойти внутриутробная гибель плода (самопроизвольный аборт) или рождение ребенка с серьезными поражениями: гидроцефалия, кальцификаты в ткани мозга, хориоретинит. Поскольку антитела класса IgM не проникают через плаценту, обнаружение их в крови новорожденного свидетельствует о врожденной инфекции. Определение антител класса IgM применяется для диагностики острого периода токсоплазменной инфекции. Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет. Определение антител класса IgG применяется для диагностики периода реконвалесценции токсоплазмоза и для оценки напряженности поствакцинального иммунитета.

Диагностика криптоспоридиоза. Возбудителем криптоспоридиоза являются мелкие кокцидии (простейшие), паразитирующие в поверхностном слое эпителия слизистой оболочки желудка, тонком и толстом кишечнике. Криптоспоридиоз - протозойная инвазия человека и животных. О криптоспоридиозе следует думать при появлении поноса у каждого больного с

нарушениями иммунного статуса. Диагностика заболевания основана на выявлении антигенов криптоспориум в кале. Исследуются фекалии больных немедленно после их получения на наличие овоцист криптоспоридий методом иммунофлюоресценции. Метод является весьма чувствительным и специфичным. При выявлении в мазке даже одного флюоресцирующего пятна исследование считается положительным. Сероконверсия происходит в пределах 60 дней острой фазы инвазии как у больных с нормальным иммунным статусом, так и у больных СПИДом.

Серологическая диагностика паразитарных инфекций.

Диагностика эхинококкоза. Эхинококкоз - это тканевой гельминтоз, вызываемый личиночными стадиями *Echinococcus granulosus* или *E. multilocularis*, различающихся морфологически и биологически. У человека *E. granulosus* вызывает образование кист, главным образом в печени и легких, в то время как *E. multilocularis* вызывает образование многокамерных (альвеолярных) очагов поражения, обладающих способностью к инвазивному росту в прилегающих тканях. Диагностика заболевания представляет определенные трудности. Если при разрыве эхинококковой кисты или истечении из нее жидкости развивается анафилактическая реакция с эозинофилией и повышением содержания IgE, это позволяет заподозрить эхинококкоз. Однако, эозинофилия отмечается менее чем в 25% случаев. Для диагностики эхинококкоза разработаны серологические методы диагностики: РНГА, РСК, реакция латекс-агглютинации с антигеном из жидкости эхинококковых пузырей. Однако использование этих методов ограничено тем, что у многих носителей эхинококковых кист иммунный ответ не развивается и антитела в крови не образуются. РНГА дает положительные результаты у 90% больных с кистами в печени и только у 50-60% больных с поражением легких. После хирургического удаления кист определение антител к эхинококку в сыворотке используется для контроля за радикальностью проведенной операции. Исчезновение антител через 2-3 месяца после операции говорит о радикальности удаления кисты, снижение уровня антител и последующий рост их уровня в послеоперационном периоде свидетельствует о рецидиве кисты.

Диагностика токсокароза. Токсокароз является широко распространенным заболеванием. Возбудитель токсокароза - нематода семейства Anisakidae рода *Toxocara*, которая обычно паразитирует у собак, волков, лисиц и других представителей семейства псовых. Инфицированность этих животных у нас в стране составляет от 10 до 70%, среди людей, число больных составляет 380 человек на 100 тысяч населения. Клинически симптомы заболевания разнообразны. В зависимости от преобладающих симптомов выделяют висцеральную форму - 23% и глазную - 67%. Токсокароз по клиническим проявлениям нередко напоминает аскаридоз. Наиболее постоянным симптомом токсокароза является высокая эозинофилия периферической крови - до 60-80%. При тяжелых формах заболевания могут быть обнаружены гранулематозные поражения различных органов и тканей. Диагностика токсокароза сложна. Это обусловлено 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 случаях других гельминтозов. Основным методом диагностики токсокароза является обнаружение антител к токсокара в сыворотке крови методом ИФА. Степень повышения уровня антител в крови тесно коррелирует с тяжестью течения заболевания. Повторные исследования уровня антител в крови больного позволяют оценивать эффективность проводимого лечения - об эффективности говорит снижение уровня антител.

Диагностика пневмоцистоза. Возбудитель пневмоцистоза - условнопатогенный почкующийся дрожжевой микроорганизм (паразит) *Pneumocystis carinii*. Паразит существует в двух формах: прециста - овальная, имеющая одно ядро, и циста, имеющая 2-8 ядер и форму розетки. Паразиты размножаются путем деления, после ряда делений наступает спорогония, завершающаяся образованием цисты. Пневмоцисты обитают в альвеолах легких различных животных и человека, факультативно патогенны. Заболевание характеризуется интерстициальной пневмонией со склонностью к хроническому течению. Пневмоцисты редко присутствуют в мокроте и слизи из трахеи, поэтому для получения адекватных материалов для исследования обычно требуются более инвазивные методы. Применять их нужно в начале лечения заболевания. Фибробронхоскопия с бронхоальвеолярным про-мыванием (лаважем) и/или трансbronхиальной биопсией являются наиболее широко используемыми методами для получения материала на исследования у взрослых больных. Исследование материала, полученного этими методами дает

положительные результаты выявления пневмоцист у 90% пациентов со СПИДом и около 40% у других категорий больных с ослабленным иммунитетом. При выявлении в мазке даже одного флюоресцирующего пятна исследование считается положительным.

Серологическая диагностика грибковых инфекций.

Диагностика аспергиллеза. Возбудителем аспергиллеза являются условно-патогенные плесневые грибы рода *Aspergillus*. Заболевание характеризуется преобладанием поражения органов бронхо-легочной системы. При серологическом исследовании антитела класса IgG к антигенам *Aspergillus* выявляются в сыворотке крови большинства инфицированных и практически у всех больных, в легких которых при рентгенологическом исследовании обнаружен грибковый “шар” (около 90% случаев). Тест имеет 100% специфичность. Важно исследовать уровень антител в динамике. Для заболевания характерно нарастание титра антител.

Диагностика кандидоза. Чаще всего кандидоз вызывается *Candida albicans*. *Candida albicans* - овальные, размножающиеся почкованием и спорообразованием дрожжеподобные грибы. В норме кандиды - представители резидентной микрофлоры слизистых оболочек, пищеварительного канала и женских мочеполовых органов. Кандидоз чаще всего регистрируется у больных с ослабленным иммунитетом. Диагностика поверхностного кандидоза основана на обнаружении элементов гриба в окрашенной мазке. При висцеральных формах кандидомикоза большое диагностическое значение имеют серологические исследования. Используется РСК и иммуноферментный метод. Антитела обнаруживаются иммуноферментным методом более чем у 90% больных уже в первые 2 недели заболевания и у переболевших сохраняются до 5 лет. Для подтверждения диагноза важно следить за динамикой уровня антител, 4-х кратный подъем между титрами антител в острой и реконвалесцентной стадиях позволяет предполагать этиологию заболевания, 4-х кратное снижение их уровня в процессе лечения является показателем успешной терапии заболевания. Серологическая диагностика при поверхностном кандидомикозе неэффективна, только тяжелые формы поражения кожи и слизистых оболочек сопровождаются повышением уровня антител. Определение антигена *Candida albicans* в сыворотке применяется для непосредственного выявления кандидозного антигена в крови больных с инвазивным кандидозом. Этот тест более специфичен, чем выявление антител. Величина > 2 нг сывороточного кандидозного антигена при ИФА предполагает инвазивный кандидоз. Чувствительность метода у онкологических больных составляет 65-70% при специфичности 100% (Тиц У., 1997). Для выявления антигена кандидоза в сыворотке исследование рекомендуется проводить не реже 2-х раз в неделю.